

**NYUGAT-MAGYARORSZÁGI EGYETEM, ERDŐMÉRNÖKI KAR,
ROTH GYULA ERDÉSZETI- ÉS VADGAZDÁLKODÁSI TUDOMÁNYOK
DOKTORI ISKOLA**

Az erdőgazdálkodás biológiai alapjai (E2) program

Pozsgainé Harsányi Mónika

**ABIOTIKUS HATÁSOK KÉMIAI VIZSGÁLATA A KOCSÁNYOS
TÖLGY (*QUERCUS ROBUR* L.) MAKK TÁROLÁSA ÉS KORAI
ONTOGENEZISE FOLYAMÁN**

**Társ-témavezető
Dr. Albert Levente
egyetemi tanár**

**Társ-témavezető
Dr. Németh Zsolt István
egyetemi docens**

**Sopron
2008**

Abiotikus hatások kémiai vizsgálata a kocsányos tölgy (*Quercus robur* L.) makk tárolása és korai ontogenezise folyamán

Értekezés doktori (Ph. D.) fokozat elnyerése érdekében

Készült a Nyugat-magyarországi Egyetem, Erdőmérnöki Kar, Roth Gyula Erdészeti- és Vadgazdálkodási Tudományok Doktori Iskola, Az erdőgazdálkodás biológiai alapjai (E2) programjának keretében

Írta:

Pozsgainé Harsányi Mónika

Társ-témavezető: Dr. Albert Levente

Társ-témavezető: Dr. Németh Zsolt István

Elfogadásra javaslom (igen / nem)

Elfogadásra javaslom (igen / nem)

(aláírás)

(aláírás)

A jelölt a doktori szigorlaton% -ot ért el,

Sopron,

a Szigorlati Bizottság elnöke

Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom (igen /nem)

Első bíráló (Dr) igen /nem

(aláírás)

Második bíráló (Dr) igen /nem

(aláírás)

(Esetleg harmadik bíráló (Dr) igen /nem

(aláírás)

A jelölt az értekezés nyilvános vitáján % - ot ért el

Sopron,

a Bírálóbizottság elnöke

A doktori (PhD) oklevél minősítése

TARTALOMJEGYZÉK

A KUTATÁSI TÉMA JELENTŐSÉGE	1
I. SZAKIRODALMI RÉSZ.....	3
1. A KOCSÁNYOS TÖLGY (<i>QUERCUS ROBUR</i> L.)	3
2. AZ EGYEDFEJLŐDÉS	4
2.1 A mag kialakulása.....	5
2.2 A tölgymakk kémiai összetétele	5
2.2.1 Nedvességtartalom	6
2.2.2 Szénhidrátok.....	7
2.2.3 Lipidek	7
2.2.4 Aminosavak, fehérjék.....	8
2.2.5 Járulékos anyagok	9
2.2.6 Hormonok	9
2.3 A csírázást befolyásoló tényezők	10
2.3.1 Levegő.....	10
2.3.2 Hőmérséklet	10
2.3.3 Fény.....	10
2.3.4 Vízfelvétel	10
2.4 A magvak csírázása.....	11
2.5 Tartaléktápanyagok mobilizálása.....	13
3. TÁROLÁS.....	14
3.1 Tárolás alatt lejátszódó biokémiai folyamatok	15
4. A NÖVÉNYI STRESSZ	18
4.1 Stressztényezők csoportosítása	18
4.2 A stressz szakaszai	19
4.3 A stresszre adott válasz	19
4.4 Stresszjellemző szignál paraméterek.....	20
4.4.1 A polifenol-oxidáz (PPO; E.C. 1.10.3.1).....	20
4.4.2 A peroxidáz (POD, E.C. 1.11.1.7).....	22
4.4.3 A kataláz (KAT, EC 1.11.1.6).....	24
4.4.4 Stressz jellemzése enzimkorrelációval	26
4.4.5 Az endogén formaldehid	28
4.4.6 A fenoloidok.....	31
4.5 ABIOTIKUS HATÁSOK	33
4.5.1 Hidegstressz hatására bekövetkező biokémiai változások	33
4.5.2 Fényhiánystressz hatására bekövetkező biokémiai változások	35
4.5.3 Szárazságstressz hatására bekövetkező biokémiai változások	36
KUTATÁSI CÉLOK	38
II. KÍSÉRLETI RÉSZ	39
5. MINTA, ANYAG ÉS MÓDSZER	39
5.1 Kísérlettervezési szempontok	39

5.2 Csíráztatási, csemetenevelési körülmények	39
5.2.1 Egyedfejlődés vizsgálata	39
5.2.2 Tárolási vizsgálatok.....	40
5.2.3 Stresszvizsgálatok	40
5.3 A meghatározott fizikai és kémiai paraméterek	41
5.4 Mintaelőkészítés, extrakció, anyag, eszköz és vizsgálati módszer	42
5.4.1 A makk tömegének és sűrűségének meghatározása	42
5.4.2 Az endogén formaldehidtartalom meghatározása	42
5.4.3 A fenoloidtartalom meghatározása.....	43
5.4.4 A kataláz enzim atvitásának meghatározása	44
5.4.5 A peroxidáz és polifenol-oxidáz enzimek atvitásának meghatározása.....	44
5.4.6 A mérési eredmények feldolgozása.....	46
III. KÍSÉRLETI ERDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE	47
6. A FIZIKAI ÉS KÉMIAI PARAMÉTEREK VIZSGÁLATA	47
6.1 Biokémiai és fizikai paraméterek változása az egyedfejlődés alatt.....	47
6.1.1 A csírázás hatása a kocsányos tölgy makk fizikai sajátságaira	47
6.1.2 Az endogén formaldehidtartalom	49
6.1.3 A fenoloidtartalom	50
6.1.4 A kataláz aktivitás	51
6.1.5 A peroxidáz és polifenol-oxidáz aktivitások	52
6.1.6 A fehérjetartalom	55
6.2 A tárolás, mint környezeti körülmény hatása a fizikai és biokémiai paraméterekre	57
6.2.1 A tárolás hatása a csírákéességre és a makk sűrűségére.....	57
6.2.2 Az endogén formaldehidtartalom	58
6.2.3 A fenoloidtartalom	59
6.2.4 A kataláz aktivitás	60
6.2.5 A peroxidáz és polifenol-oxidáz aktivitások	61
6.2.6 A fehérjetartalom	62
6.3 A kocsányos tölgy stresszvizsgálatai	64
6.3.1 A kocsányos tölgy makk hidegstressz vizsgálata	64
6.3.1.1 Az endogén formaldehidtartalom	65
6.3.1.2 A fenoloidtartalom	66
6.3.1.3 A kataláz aktivitás	67
6.3.2 A kocsányos tölgy csemete hidegstressz vizsgálata	68
6.3.2.1 Az endogén formaldehidtartalom	68
6.3.2.2 A fenoloidtartalom	69
6.3.2.3 A kataláz aktivitás	70
6.3.2.4 A peroxidáz és polifenol-oxidáz aktivitások.....	70
6.3.2.5 A fehérjetartalom	71
6.3.3 A kocsányos tölgy csemete fényhiánystressz vizsgálata	72
6.3.3.1 Az endogén formaldehidtartalom	73

6.3.3.2 A fenoloidtartalom	73
6.3.3.3 A kataláz aktivitás	74
6.3.3.4 A peroxidáz és polifenol-oxidáz aktivitások.....	74
6.3.3.5 A fehérjetartalom	75
6.3.4 A kocsányos tölgy csemete szárazságstressz vizsgálata.....	76
6.3.4.1 Az endogén formaldehidtartalom	77
6.3.4.2 A fenoloidtartalom	77
6.3.4.3 A kataláz aktivitás	78
6.3.4.4 A peroxidáz és polifenol-oxidáz aktivitások.....	79
6.3.4.5 A fehérjetartalom	80
6.3.5 A stressz jellemzése enzimkorrelációs vizsgálatokkal	80
6.3.5.1 A hideg és fényhiánystressz enzimkorrelációs vizsgálata	82
6.3.5.2 A szárazságstressz enzimkorrelációs vizsgálata	84
IV. ÖSSZEFOGLALÁS	86
7. AZ ELVÉGZETT KÍSÉRLETES MUNKA ÖSSZEGZÉSE	86
8. TÉZISEK	92
9. KIVONATOK.....	94
V. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS.....	96
VI. IRODALOMJEGYZÉK	97
Ábrák jegyzéke.....	108
Táblázatok jegyzéke	110
Mellékletek jegyzéke.....	111
VII. MELLÉKLETEK	113

A KUTATÁSI TÉMA JELENTŐSÉGE

A kocsányos tölgy (*Quercus robur* L.) Magyarország erdeinek 9,1 százalékát borító domináns, őshonos fafaja. A jó termőhelyen álló kocsányos tölgyesek a legértékesebb, legnagyobb éves átlagos jövedelmet adó állományok közé tartoznak.

Az ember legelőhöz, szántóföldhöz, faanyaghoz való jutásának következményeként, a múlt századbeli iparosodással járó erdőirtás és a folyószabályozások miatt, - melyek leginkább az Alföldet érintették - valamint az erőteljes talajvízszint csökkenés okán természetes erdőterületeink nagysága jelentős mértékben lecsökkent.

A megmaradt állományok idegen fajokkal történő felújítása, a szélsőséges időjárás kedvezőtlen hatása, a csapadékhiány, a vadkár mind-mind hozzájárulnak erdeink minőségi és mennyiségi leromlásához. Ezek a károk legsúlyosabban kocsányos tölgyeseinket érintették és érintik a mai napig folyamatosan.

Folyamatos problémát jelentenek a friss hajtásokra az őszi korai fagyok, a késői fagyok pedig a vegetáció beindulásakor okoznak veszteségeket. A termőhely gondatlan megválasztása következtében is legyengülhetnek erdei állományaink, szabad utat biztosítva ezzel különféle kórokozók, károsítók számára.

Fontosnak tartom még megemlíteni a füstgáz kibocsátást, a savas esőket és a talajszennyezést, mint erdőállományainkat alattomosan korlátozó tényezőket. A kén-dioxid, a fluor- és klórvegyületek, az ólom-, fém- és koromtartalom nemcsak a növényekben, de a hozzájuk szorosan kapcsolódó életközösségekben is mélyreható változásokat indukálnak, melyek tünetei hosszú idő után megbetegedést okoznak a fákon. 1988 óta a kocsányos tölgy egészséges faegyedeinek aránya a negyedére esett vissza.

1920-as években elkezdődött erdősítési programnak köszönhetően hazánk erdőterülete folyamatosan gyarapodik. A kezdeti célokat illetően leginkább gazdasági érdekek fogalmazódtak meg. Elsődleges feladatként az erdők fatermésének fokozása, a termőtalaj védelme, illetve a faellátás kapott hangsúlyt, majd felismerték az erdők igazi értékét és jelentőségét: az oxigéntermelés mellett tisztítják a levegőt, megakadályozzák a talajeróziót, a víz elfolyásának lassításával csökkentik az árvízvesztélyt, mérséklék a viharok erejét és a hőmérséklet-különbségeket, az ember egészségére közvetlenül pozitív hatást gyakorolnak. Ennek következményeként egyre inkább előtérbe került az erdőtelepítések közjóléti, környezet- és természetvédelmi szerepe és szolgáltatásai. Mára Magyarország egynegyedét borítják erdők. Valamennyi telepítési időszak terveinek összeállítása és megvalósítása során az erdészeti kutatás eredményeit széles körben hasznosították. Az erdőtelepítéssel kapcsolatos kutatások kiemelt szerepet kaptak.

A nagyszabású erdőtelepítési program megvalósításának alapvető előfeltétele a szükséges szaporítóanyag (mag és csemete) megtermelése. Egyenletes csemeteellátásra van szükség, melyhez szükség van a szaporítóanyag minőségromlás nélküli tárolására, a tárolt makktétel minőségének nyomon követésére, a csírázóképeség folyamatos vizsgálatára. A makk kereskedelmi értékének megőrzéséhez nélkülözhetetlen új tárolási technológiák fejlesztése, a rezisztens egyedek kiválasztásához elengedhetetlen az egyedek biológiai állapotának jellemzése, melyhez gyors, hatékony, könnyen kivitelezhető mérési módszerekre van szükség. Mindezek megvalósítása gyakorlati hasznosítással kecsegtető elméleti feladat, melynek a nemzeti erdősítési programban rendkívül fontos szerepe van.

A Nyugat-magyarországi Egyetem Kémiai és Termőhelyismerettani Intézetének Kémia Tanszékén az Erdőművelési Tanszék oktatóival közösen több mint tíz éve foglalkoznak az erdei fák szaporítóanyagának biotikus és abiotikus hatásokra bekövetkező stresszvizsgálatával. Az eddigi kutatások egyik célja a csertölgy (*Quercus cerris* L.) makk tárolási körülményeinek optimalizálása volt. Módszert dolgoztak ki a csíráképes

szaporítóanyag kiválasztására, tanulmányozták a csírázás optimális körülményeit az ontogenezis korai szakaszaiban.

A csertölgy magvainak tárolása során és ontogenezisének korai szakaszaiban lezajló fiziológiai és biokémiai változások, valamint gyógy- és haszonnövények élettani folyamatainak vizsgálatában már régóta sikerrel alkalmazott endogén formaldehid ciklus elméletét és kutatási módszereit kiterjesztettem a kocsányos tölgyre (makk és csemete). Az elmélet ezen növényeket érő környezeti hatások nyomon követésére az endogén formaldehidet és generátorait használja fel jelző molekulákként. Bizonyították, hogy az endogén formaldehidtartalom mérésén keresztül az állapotváltozások, illetve a stressz-szindróma lefolyása nyomon követhető. Értelmezték továbbá a makk imbibíciós folyamatában bekövetkező kataláz aktivitás változását is az endogén formaldehid ciklussal kapcsolatban.

Kutatásaim célja a kocsányos tölgy makk (*Quercus robur* L.) jelzőparaméterek mennyiségi változásán keresztüli jellemzése az egyedfejlődés korai szakaszában, valamint a tárolás alatt. A szignál paraméterek körét kibővítettem enzimaktivitás mérésekkel, illetve polifenol-tartalom meghatározással, melyek bizonyítottan stresszérzékeny indikátorok és fontos szerepet töltenek be a növények fejlődése során. Abiotikus stresszvizsgálatokat végeztem kocsányos tölgy magvakon és fiatal csemete növényeken. Új környezeti-hatásvizsgálati módszert dolgoztam ki, melyben a növény stresszre adott válaszreakciója során megjelenő fiziológiás események nyomon követése enzimkorrelációs vizsgálatokkal történik, így lehetőség nyílik a környezet növényekre gyakorolt abiotikus hatásainak finomabb feltérképezésére.

A szakirodalmi rész tárgyalásánál céloom a vizsgált növényfaj anyagkészletének ismertetése, a magvak egyedfejlődése és tárolása folyamán bekövetkező fiziológiai és biokémiai folyamatok, és az ezt befolyásoló legfontosabb külső környezeti tényezők bemutatása, valamint a választott indikátor paraméterek említett folyamatokban és a növényi stresszben betöltött funkcióinak áttekintő felvázolása.

I. SZAKIRODALMI RÉSZ

1. A KOCSÁNYOS TÖLGY (*QUERCUS ROBUR* L.)

A kocsányos tölgy elsősorban a sík vidékek fafaja. Különleges sajátossága, hogy ártéren, homokon és sziken egyaránt megtalálható.

Északon a 63. szélességi fokig, keleten az Urálig, délen Kis-Ázsiáig és a Földközi tengerig, nyugaton dél-Spanyolországot kivéve egész Európa sík vidékein és alacsonyabb dombvidékein megtalálható. A hazai erdők mintegy 10 %-a kocsányos tölgy. Nagyobb területű állományai ma már csak a Szatmár-Beregi-síkon, a Körösök mentén és a Dráva-síkon fordulnak elő.



Erőteljes növekedéséhez enyhe éghajlatot igényel. A hosszantartó szárazságot jól tűri. Ez teszi a homok- és szikfásítás legfontosabb fafajává. Hideg iránt sem érzékeny, de a nagyon erős téli hidegek törzsén fagyrepedéseket okoznak. A kései fagyok miatt gyakran szenved, mert korán fakad. Fiatalon árnyalásával és lombhullásával kissé javítja a talajt, később erősen kigyérül, alatta elhatalmasodnak a gyomnövények és a cserjék. Alomja sok csersavat tartalmaz, ami hátráltatja a humuszképzést. A talaj tápanyagtartalmával szemben nagyon igényes. A tápanyagban gazdag, mély, üde agyagtalajokat kedveli. Legjobban növekszik az ártereken, mert ott a megismétlődő áradások állandóan új tápanyagokkal gazdagítják a talaját. A pangó vizeket nem szereti. Nem igényel feltétlenül háromszintes talajokat.

Alakja: Elsőrendű fa. Elérheti a 40, sőt az 50 méteres magasságot is, hazánkban azonban inkább csak 30 és 40 m közötti példányok vannak. Szabad állásban rövid törzset és földig boruló hatalmas félgömb alakú koronát fejleszt. Zárt állásban hosszú hengeres törzset képez, de a törzs rendszerint nem követhető a csúcsig.

Gyökerei: 18-20 m mélyen is megkeresi a talajvizet. Ennek köszönheti nagy szárazságtűrését. Oldalgyökerei gazdagon elágaznak és terjedelmesek.

Rügyei: tojásdadok, tompa csúcsúak, kopaszok, többnyire ötszögletesek, világosbarnák. A csúcsrügyek szintén csoportosan helyezkednek el, de kisebb számban, mint a kocsánytalantölgynél. A fiatal hajtások barnák vagy zöldesszürke színűek.

Levelei: 4-12 cm hosszúak, 3-4 cm szélesek, egy-egy oldalán 4-6 karéjjal. Alakjuk rendkívül változatos, de rendszerint a csúcs közeli harmadában a legszélesebbek, innen a nyél felé haladva hirtelen, majd mérséklődően keskenyedők. A levélalap két fülcimpa alakban végződik. A nyél csak 2-6 mm hosszú. A karéjvégek lekerekítettek. Ha összekötjük a karéjvégeket, ívelt körte alakot kapunk. Helyenként az öblökben is erek futnak. A levelek fényesek, sötétzöldek, fonákjuk világosabb, teljesen kopasz, fiatal korban azonban alig kivehető finom pelyhek borítják. A levél ripacs helye félkör vagy háromszög alakú.

Termése: Hosszú kocsányon lógó, pikkelyes, rücskös kupacsban ülő termése van. A makkok vagy zömökek, vagy elnyúlt hordó alakúak, 15-50 mm hosszúak 10-22 mm vastagok. Felületük mindig sima, fényes, eleinte zöld, később világosbarna, sötétebb hosszanti sávokkal tarkított. A makk lapos, egyenes talpán megáll. Az első év októberében érik. A kupacs a makk 1/4-ét, 1/3-át, de sokszor csak 1/5-ét, 1/6-át takarja, 8-10 évenként bőven, 4-5 évenként közepesen, 2-3 évenként gyéren terem. Szabad állásban már 20, zárt állásban csak 50-60 év után terem.

Növekedése: Az elvetett makk 4-5 hét alatt csírázik. Először erőteljes karógyökeret fejleszt, és csak ezután nőnek ki a föld felszínén ötösével álló, eleinte kerekded, alig karéjos levelei. Sziklevelei a talajban maradnak. A kikelt csemeték igen lassan, csak az állomány záródása után, 15-20 éves korban kezdenek gyorsabban növekedni. 70-80 éves korban magassági

növekedése visszaesik, de erőteljes vastagsági növekedését még sokáig megtartja. Több száz évig él. Általában 80-100 évig tartjuk fenn. A csemeték 3-4 évig eltűrik az árnyékolást, később fényigényük növekszik, ami egyébként minden tölgyfélére jellemző. Ezért kedvező termőhelyen a tölgyek természetes úton is felújíthatók. Ugyanolyan jól sarjadzik, mint a kocsánytalantölgy. Legjobb a gyökfőről nőtt sarjak.

Felhasználása: Sokoldalú fa. Elsőrendű dongafa, talpfa és bányafa, jó fűrészáru és késelési anyag készül belőle. Kérgéből sok és értékes csersavat vonnak ki. Makkját korábban a sertésekkel etették (makkoltatás), olaja nem szárad. Gubacsából vas hozzáadásával tintát készítettek. Gyógynövényként is számos probléma kezelésére alkalmas.

Károsítói: Bár jelentős számban vannak károsítói, ritkán okoznak súlyosabb vészt. A korai fagyok a másodhajtásokat, a kései fagyok a virágokat teszik tönkre. A téli nagy fagyok a törzsön fagyrepedéseket okoznak. A fiatal csemetéken és sarjállományokon gyakori a lizstharma. Csemetekertekben és fiatal erdősítésekben a cserebogár és a drótféreg károsít. Idősebb törzsekben a farontó taplók, a sárga fagyöngy, majd ezek nyomán a hőscincér is jelentős károkat okoz. Gyakori kárt okoznak a gubacsdarazsak a levélen, hajtáson és a termésen képzett száraz, illetve zsíros gubacsokkal. A lepkék közül a gyapjas és a búcsújáró pille is károsítja (SZILÁGYI, 2001).

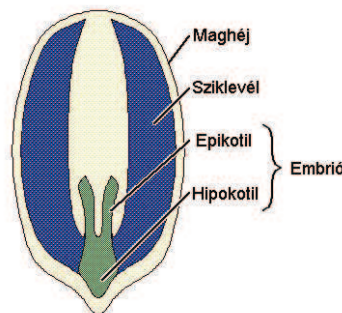
2. AZ EGYEDFEJLŐDÉS

Az élő szervezetek egyik legfontosabb sajátja a *morfogenezis*, mely az egyedi életben, a fejlődés során bekövetkező mennyiségi és minőségi változásainak összessége. Ezek egy része morfológiai, másik része fiziológiai, melyek szorosan összetartoznak. A növény szerves anyag készletének növekedésével járó irreverzibilis térfogat- és tömeggyarapodást növekedésnek, az új minőség kialakulását differenciálódásnak nevezzük. Ezek együttesen eredményezik a növény fejlődését. Egyedi életük során végbemenő felépítés- és működésbeli változások törvényszerű egymásutánját *ontogenezis*nek nevezzük. A növekedés és fejlődés a belső, öröklött tulajdonságok (genotípus), és a külső környezeti tényezők interakciójának következménye, mely kapcsolatrendszer rendkívül bonyolult. Egy növény morfológiai és fiziológiai sajátosságait (fenotípusát), genetikailag determinált enzimkészlete határozza meg. A génaktivitást elsősorban a környezet által befolyásolt hormonális egyensúly determinálja. A környezeti tényezők meghatározzák a növény anyagcseréjét, megjelenését, valamint optimális növekedését, tehát közvetetten és közvetlenül is hatnak a génaktivitásra, illetve az enzimrendszerek aktivitására. Ez az oka, hogy az öröklött tulajdonságok csak megfelelő környezeti feltételek mellett realizálódnak. Ha a növekedés és a fejlődés feltételei nem esnek egybe, fiziológiai zavar, a növekedés vagy a fejlődés korlátozása következik be (PETHŐ, 1993).

A kétszakaszos nemzedékváltozás körébe tartozó történéseket a morfológiai változások alapján két fő fázisra lehet osztani. A *sporofitikus szakasz* történései közé tartozik a nyugalmi állapotban lévő mag, a csírázás, és a vegetatív fejlődés. A *gametofitikus szakaszban* játszódik le a virágképzés, a megtermékenyítés, illetve az embrió- és magképzés (IZSÁKI, 2004).

2.1 A mag kialakulása

A mag a nyitva- és zárvatermő növények generatív szaporítószerve, ami az anyanövényen a megtermékenyülés után jön létre. A mag három fő részből áll. Ezek a maghéj, a táplálószövet (sziklevél) és az embrió (1. ábra). Ontogenetikailag a magban lévő embrió új egyednek tekinthető, tehát az ontogenezis a petesejt megtermékenyülésével kezdődik.



1. ábra A kétzikű makk felépítése.

A mag fejlődése, növekedése komplex fiziológiai folyamatok és körülmények sorozata. Ezek a folyamatok a legtöbb mérsékelt égövi fa esetében hasonlóan mennek végbe (BONNER és NISLEY, 2002). Általánosságban elmondható, hogy a megtermékenyítéstől az érett mag létrejöttéig lezajló differenciálódási, biokémiai és fiziológiai folyamatok együttes megnevezése a magképződés, illetve általánosan elterjedt kifejezéssel az érés. Az érés folyamatát rendszerint morfológiai és fiziológiai paraméterek alapján jellemzik. A fiziológiai érettség állapota a teljes csírázóképeséget elért magra jellemző. Az érése során az embrió fokozatosan befejezi növekedését. A nedvességtartalom jelentősen csökken, az anyagcsere-folyamatok intenzitása minimumra esik (SZABÓ, 1980).

2.2 A tölgymakk kémiai összetétele

A magvak kémiai összetevőinek nagy része az egyéb növényi szövetek komponenseivel megegyező (1.-2. táblázat). A mennyiségi összetétel azonban jelentősen eltérő. A magszövetek alkotói a fehérjék, a lipidek, a szénhidrátok és a járulékos anyagok. A magvak kémiai összetétele genetikailag meghatározott, amelyet a környezeti tényezők (éghajlat, termőhely, stb.) relatíve kismértékben befolyásolnak. A táplálószövetben raktározott szénhidrátok, lipidek és fehérjék képezik az új egyed növekedéséhez szükséges szerves anyag- és energiaforrást mindaddig, amíg a csíranövény önálló táplálkozásra nem képes.

1. táblázat *Quercus robur* L. makk kémiai összetétele (SALAJPAL *et al.*, 2004).

Összetevő	Tannin	Hamu	Nyerszsír	Száraz tömeg
(g/kg sz.a.)	65.60	17.50	44.56	662.00

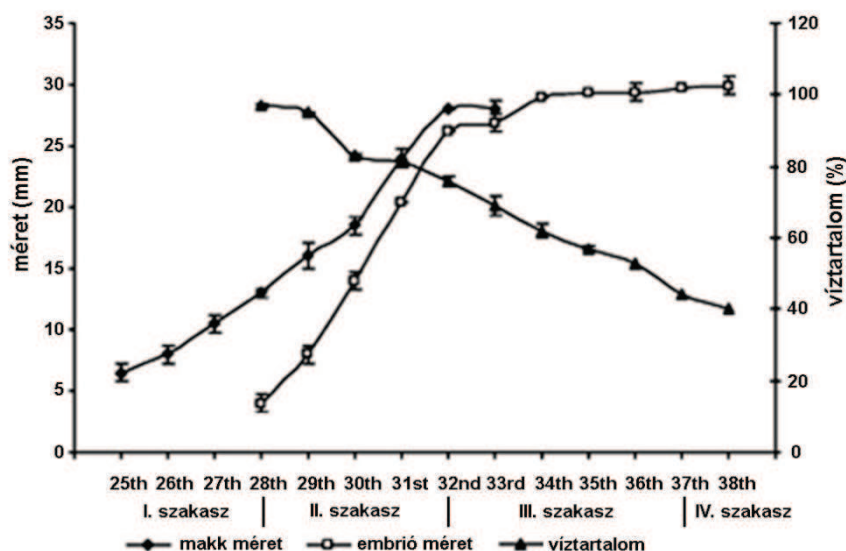
2. táblázat Tölgyfajok makkjainak kémiai összetétele (BONNER és VOZZO, 1987).

Fajta	Nyerszsír	Összcukor	Összfehérje	P	Ca	Mg
Vörös tölgy, <i>Erythrobalanus</i>			%			
<i>Q. cocinea</i>	14.6	35.6	4.2	0.07	0.18	0.07
<i>Q. falcata</i> var. <i>falcata</i>	17.0	23.0	5.1	0.08	0.32	0.14
<i>Q. falcata</i> var. <i>pagodoeifolia</i>	15.8	29.5	4.0	0.06	0.27	0.06
<i>Q. nigra</i>	20.3	25.8	3.8	0.06	0.32	0.07
<i>Q. nuttallii</i>	13.2	46.2	4.5	0.09	0.04	0.06
<i>Q. palustris</i>	15.4	45.4	3.8	0.08	0.04	0.06
<i>Q. phellos</i>	19.6	31.2	5.9	0.08	0.18	0.06
<i>Q. shumardii</i>	9.8	29.3	3.8	0.06	0.27	0.06
Fehér tölgy, <i>Lepidobalanus</i>						
<i>Q. alba</i>	2.9	46.6	4.5	0.08	0.22	0.05
<i>Q. durandii</i>	3.5	44.9	6.2	0.09	0.22	0.08
<i>Q. lyrata</i>	0.9	49.8	4.6	0.12	0.16	0.08
<i>Q. macrocarpa</i>	4.8	45.9	4.3	0.10	0.08	0.06
<i>Q. michauxii</i>	3.3	56.1	4.1	0.12	0.08	0.06
<i>Q. muhlenbergii</i>	6.6	34.5	4.2	0.08	0.18	0.08
<i>Q. stellata</i>	5.2	37.9	3.8	0.08	0.25	0.06
<i>Q. virginiana</i>	8.2	46.4	4.4	0.06	0.06	0.07

2.2.1 Nedvességtartalom

Az érett makkok rendkívül magas víztartalommal rendelkeznek, a fekete tölgy makkjaié 40 %, a fehér tölgyé 50 % körüli (FINCH-SAVAGE *et al.*, 1992). Nincs valódi nyugalmi állapotuk. A legtöbb fajta kicsírázik röviddel a lehullás után, néhány faj makkjai már a fán, beleértve néhány *Quercus* fajt is. Ez a jelenség az ún. viviparia.

A kocsányos tölgy makkjai nem viselik el az erős vízvesztést, így hosszú időn keresztül nem tárolhatók életképességük jelentős csökkenése nélkül (ROBERTS, 1973). Nincs kifejezett érési száraz állapotuk, mert fejlődésük sohasem áll le teljesen (PLIEGO-ALFARO *et al.*, 1996). Víztartalmuk az érés utolsó periódusában 40 % (2. ábra).



2. ábra Kocsányos tölgy makk víztartalma az érés alatt (PREWEIN *et al.*, 2006).

2.2.2 Szénhidrátok

A szénhidrátok a makkok egyik fő energia raktározói. A magvakban előforduló szénhidrátok nagy része keményítő és hemicellulóz. Keményítő tartalmú magvak jellemzik a gabonanövényeket, hüvelyeseket és a tölgy fajokat is. Az egyes fajok között jelentős különbségek mutatkoznak szénhidráttartalom tekintetében. Vízi tölgy (*Quercus nigra*) érése során a teljes szénhidráttartalom 26 %, míg fehér tölgyre (*Quercus alba*) vonatkozóan ez az érték a száraz tömeg 46 %-a. Elsősorban a maghéj, a gyökércsúcs és a sziklelevél szöveteiben fordulnak elő. Időszakos változásuk mindkét faj esetében hasonló. A kioldható szénhidrátok mennyisége az érés alatt fokozatosan növekszik, majd éles csökkenés következik be, amint átalakulnak nem oldható formává.

A sztratifikáció alatt vízi tölgy esetében a keményítő az embrió hajtásából a gyök felé transzlokálódik. Csírázás során azonban, egyenletesen oszlik meg közöttük. A sziklevelek keményítőtartalma folyamatos csökkenést mutat a teljes csírázási periódus alatt. Hasonló tendencia szerint változik a hemicellulóz is, gyors asszimilációt követően mennyisége lecsökken. Fehér tölgy fajok esetében gyakorlatilag nincs lényeges különbség a csírázó és nem csírázó makkok nem kioldható szénhidrátjainak lokalizációját illetően. Mindkét állapotban az embrió keményítőszemcséi méretben és mennyiségben hasonlóak. Ezek a makkok a csírázás beindulása előtt szénhidráttartalékokat raktároznak az embrióban (BONNER és VOZZO, 1987).

Kocsányos tölgy makk embriójának különböző fejlődési állapotaiban eltérő mennyiségű szénhidrátokat azonosítottak: inozitot, mannitot, galaktózt, trehalózt, xilózt, arabinózt, glükózt, fruktózt és szacharózt. A lignintartalom a mag kifejlődése során folyamatosan növekvő értéket mutat, hasonlóan a keményőtartalomhoz. A csírázóképes szomatikus embrióban a lignintartalom magasabb volt, mint az ugyanabban az állapotban lévő, nem csírázóban (PALADA-NICOLAU és HAUSMAN, 2001).

2.2.3 Lipidek

A magvakban a lipidek általában zsírsavak gliceridjeiként vannak jelen. A vízi tölgy makkjainak nyerszsírszintje október végére a makkok száraztömegének 20 %-a, míg fehér tölgynél ez az érték alig éri el a 4 %-t. A foszfolipidek a sziklelevélben, az embrióban, valamint a hajtáscsúcsban koncentrálnak az érési periódus alatt. Amint a makkok a nyugalmi állapotból a csírázási fázisba lépnek, a lipidek a sziklelevélből az embrió tengelyébe transzlokálódnak. A sztratifikáció során a lipidcseppek különválnak, és leginkább kis csoportokban, egyedi cseppekként találhatók meg a csírázó embrióban. Fehér tölgyek csírázó makkjaiban a foszfolipidek a hajtáscsúcsban koncentrálnak, ritkán találhatóak a sziklevelekben (BONNER és VOZZO, 1987).

Kocsányos és csertölgy makkokból hétféle zsírsav komponenszt azonosítottak, palmitin-, sztearin-, arachidon-, palmitolaj-, olaj-, linol-, és α -linolénsavat. A legfontosabbak az olajsav (Q. robur: 44.3 %; Q. cerris: 43.0 %), illetve a linolsav (Q. robur: 37.2 %; Q. cerris: 32.6 %), valamint a palmitinsav (PETROVIĆ *et al.*, 2004). KAROLYI *et al.* (2007) ezen kívül mirisztin-, margarin-, és eikozénsav-tartalmat is kimutattak kocsányos tölgy makkjaiban.

2.2.4 Aminosavak, fehérjék

A magvak raktározó szöveiben az egyedfejlődés során tartalékfehérjék szintetizálódnak. E fehérjekészlet fedezi a fejlődő csíranövény N-szükségletét a csírázás folyamán (PETHŐ, 1993). Az egyes fajok között azonban jelentős különbségek mutatkoznak az aminosavak minőségi és mennyiségi összetételét tekintve.

Tölgymakkok esetében a fehérjetartalom alacsony értéket mutat a száraztömeg százalékában. Legnagyobb mennyiségben a citoplazma tartalmazza a sziklelevélben, az epidermiszben és szomszédos rétegeiben (BONNER és VOZZO, 1987).

Érett tölgymakk összfehérje-tartalma 2.75 és 8.44 % közötti (ÖZCAN, 2006). Aminosavak közül legnagyobb mennyiségben aszparagin- és glutaminsavat tartalmaznak, legalacsonyabb a metionin szintje. Az esszenciális aminosavak közül mindegyik faj relatíve nagy mennyiségben tartalmaz leucint, lizint és valint (3. táblázat).

3. táblázat Tölgyfajok összfehérje- és aminosavtartalma (kivonat: ÖZCAN, 2006).

Faj/Aminosav (mg/100g sz.a.)	thr	val	met	ile	leu	tyr	phe	lys	asp	ser	glu	gly	ala	his	fehérje%
<i>Q. robur</i> ssp. robur	154	234	36	187	327	95	208	207	524	173	686	122	227	140	6,19
<i>Q. cerris</i> var. cerris	94	127	22	89	145	57	89	160	227	94	205	71	123	72	3,06
<i>Q. ilex</i>	118	164	46	116	193	72	140	193	314	121	321	214	130	102	3,25

A tárolt fehérjék egy része biológiailag aktív vagy aktiválható (enzim fehérjék). A kocsányos tölgy raktározószöveiből számos enzim mutatható ki (4. táblázat). ZANETTO *et al.* (1996) csírázó makk sziklelevél-, gyök- és rügyszöveiből tizennégy, ROTHE (1990) sziklevelszövetekből tizenhárom enzimrendszert vizsgált.

4. táblázat Csírázó kocsányos tölgy makk enzim összetétele.

Enzim név	Rövidítés	EC-szám	Szerzők
szuperoxid-dizmutáz	SOD	1.15.1.1	Racchi <i>et al.</i> , 2001
kataláz	KAT	1.11.1.6	
leucin-aminopeptidáz	LAP	3.4.11.1	Zanetto <i>et al.</i> , 1996; Dankwardt és Rothe (nempubl.)
α -eszteráz	EST	3.1.1.1	
menadion-reduktáz	MR	1.6.99.2	
foszfoglükóz-izomeráz	PGI	5.3.1.9	
foszfoglükomutáz	PGM	2.7.5.1	
peroxidáz	POD	1.11.1.7	Dankwardt és Rothe (nem publ.)
glükóz-6-foszfát-dehidrogenáz	G6PDH	1.1.1.49	
alanin-aminopeptidáz	AAP	3.4.11.1	Zanetto <i>et al.</i> , 1996
acid-foszfátáz	ACP	3.1.3.2	
diaforáz	DIA	1.6.4.3	
glutamát-dehidrogenáz	GDH	1.4.1.3	
glutamát oxaloacetát-transzamináz	GOT	2.6.1.1	
izocitrát-dehidrogenáz	IDH	1.1.1.42	
malát-dehidrogenáz	MDH	1.1.1.37	
6-foszfoglükonát-dehidrogenáz	6-PGD	1.1.1.44	
sikimát-dehidrogenáz	SKDH	1.1.1.25	
α -amiláz	AMY	3.2.1.1	Ebermann és Korori, 1991

2.2.5 Járulékos anyagok

A magok ásványianyag-tartalma fontos szerepet játszik a csírázás és a csemete kifejlődése során. A magban akkumulálódott makro- és mikroelemek alapvető funkcióval rendelkeznek a metabolitaktivitás szabályozásában. A gyökérrendszer kialakulásáig biztosítják a növény ásványi elem utánpótlását (KASTORI, 1984). A magfejlődés folyamán az anyanövényből az apoplasztba transzlokálódnak, majd az embrióban felhalmozódnak (WOLSWINKEL, 1992). A szöveti struktúrákban megoszlásuk eltérő. A magok tényleges tápanyagkészlete és a termőhely ásványianyag-tartalma között nincs kölcsönhatás (KITAJIMA és FENNER, 2000). Felvételük, transzportjuk és eloszlásuk genotípusonként változó (SARIĆ, 1981). Tizenhét kocsányos tölgy genotípus esetében általános szekvenciájuk az embrióban a következő: $N > K > Ca > P > Mg > Na > Fe > Zn > Mn > Cu$. Az egyes szövetek kémiai összetétele eltérő (5. táblázat). A Ca, Mg, Fe és Mn koncentrációja a termésfal- és a maghéjszövetekben magasabb, mint az embrióban (NIKOLIĆ *et al.*, 2006).

5. táblázat Kocsányos tölgy makk átlagos nutrienstartalma különböző szövetekben.

Szövet/Ásványianyag koncentráció	N mg/g sz.a.	P mg/g sz.a.	K mg/g sz.a.	Ca mg/g sz.a.	Mg mg/g sz.a.	Na mg/g sz.a.	Zn µg/g sz.a.	Fe µg/g sz.a.	Mn µg/g sz.a.	Cu µg/g sz.a.
Embrió	21.18	0.90	7.84	1.09	0.74	0.13	9.80	32.00	7.90	6.20
Termésfal+magháj	16.24	0.15	3.19	3.26	0.96	0.17	9.00	96.00	3.00	6.00

Kocsányos tölgy makkjai a különböző tápanyagok mellett számos biológiailag aktív vegyületet is tartalmaznak (tanninok, gallusz- és ellagsav, galloil- és hexahidro-difenolos származékok), melyek antioxidáns aktivitással rendelkeznek (6. táblázat) (RAKIĆ *et al.*, 2007). Ezek a vegyületek, a növényi metabolizmus másodlagos anyagcseretermékei, komoly szerepet töltenek be az egészséges táplálkozásban, mint ún. funkcionális élelmiszerek (FERRARI és TORRES, 2003).

6. táblázat Kocsányos tölgy és csertölgy makk fenoloid- és flavonoidtartalma (RAKIĆ *et al.*, 2007).

Minta	Fenoloid tartalom (mg gallusz sav ekv./mg sz.a.)			Gallusz sav (%)	Flavonoidok (%)	FRAP (µmol/mg sz.a.)
	Teljes	Nem-tanninok	Tanninok			
<i>Q. robur</i>	0.223±0.004	0.019±0.001	0.204±0.003	0.02	0.46	2.44±0.03
<i>Q. cerris</i>	0.229±0.011	0.014±0.002	0.218±0.010	0.05	0.30	2.58±0.03

2.2.6 Hormonok

A tápanyagok felhalmozásával egy időben hormonális változások történnek a makkon belül. A fő hormonok az auxinok, gibberellinek, citokininek és az abszcizinsav. Ezek a hormonok nem teljesen tisztázott kulcsfontosságú szerepet játszanak a makkok növekedése és fejlődése során. A fő auxin a makkokban az indolecetsav (IES), szabad és kötött állapotban is megtalálható. Számos fa magjában azonosították, vízi tölgyben, kocsányos tölgyben. Több mint 80 gibberellin ismert, melyeknek több mint a felét kimutatták makkokból, vízi tölgyből, kocsányos tölgyből. A citokinineket fás növények esetében ritkán tanulmányozták, de kocsányos tölgyben, almában és meggyben kimutatták. Sokkal több figyelmet fordítottak az abszcizinsavra (ABS) a dormanciában és a kiszáradás elleni védelemben betöltött jelentős szerepe miatt. Azonosították kocsányos tölgyből, körtéből és baracból (BONNER és NISLEY, 2002).

2.3 A csírázást befolyásoló tényezők

A csírázás annak a fejlődési folyamatnak a folytatása, amely az embrió kialakulásával kezdődött el. Az embrionális fejlődés heterotróf szakaszának befejező fázisában a tartaléktápanyagok felhasználásával a csíra kinő a magból és csíranövénnyé alakul. A legfontosabb csírázást befolyásoló környezeti faktorok a vízfelvétel, a hőmérséklet, a fény és az oxigén (IZSÁKI, 2004).

2.3.1 Levegő

Amint a maghéj felnyílik, a fejlődő csíranövénynak az anyagcsere-folyamataihoz energiára van szüksége. Az energiát az ATP szolgáltatja, amely a szénhidrátok oxidációs lebontásában termékként keletkezik. A légzési láncban a cukrok szén-dioxiddá alakulásához viszont oxigénre van szükség, ezért az oxigén jelenléte a csírázás egyik kritériuma (KRAMER és KOZLOWSKI, 1979). Természetes körülmények esetén, néhány növényfaj kivételével, a csírázáshoz az oxigén a levegőből származik. Az oxigén-felvétel sebessége a csírázás folyamán hasonló tendenciát követ, mint a vízfelvétel (KOZLOWSKI és GENTILE, 1959).

2.3.2 Hőmérséklet

A különböző fajok csírázással kapcsolatos hőmérsékleti igénye fajonként változó optimumokat mutat. A csírázás hőmérsékleti optimumai ugyanis azokat a külső körülményeket jellemzik, amelyek az adott faj fejlődéséhez szükségesek. Mérsékelt övi fák esetében ez minimum 2-3 °C-tól maximum 45 °C-ig terjedő tartomány (BONNER *et al.*, 1994). Az áttelelő növények 10 °C-nál, az egyényári növények 26-30 °C-nál csíráznak legjobban. Kivételes esetet jelent az alacsony hőmérséklet pozitív hatása a már megduzzadt magvakra. Vannak olyan magvak, amelyek csak hideg sztratifikálás, vagyis nedves közegben 0 °C-ot alig meghaladó hőmérsékleten való tárolás után tudnak csírázni és zavartalanul fejlődni. A hőmérséklet a csírázás sebességét és nem a teljes folyamatot befolyásolja (BONNER és NISLEY, 2002). A csírázás hőmérséklet- és nedvesséigénye nem független egymástól (GÁSPÁR, 1970).

2.3.3 Fény

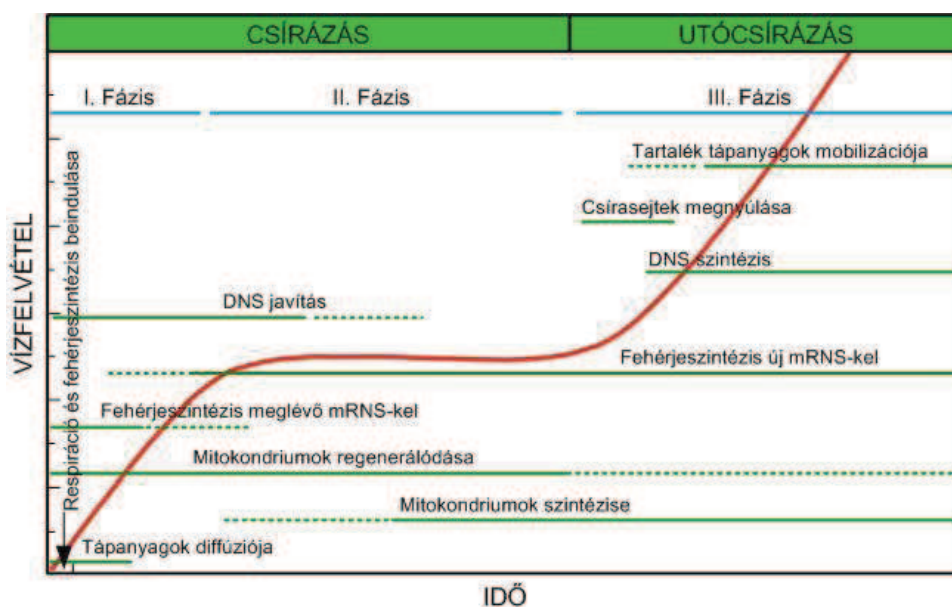
Fás növények fejlődésében a fénynek komplex szerepe van. A fény a fitokróm rendszer útján befolyásolhatja a csírázást. A fény által serkentett és a fény által gátolt magvak fitokróm rendszere a vörös- és sötétvörös hullámhosszat egyaránt tartalmazó fényre eltérően reagál. A fényen csírázó magvakban a vörös fény a P₆₆₀-at P₇₃₀-á, tehát a pigment rendszer aktív formájává alakítja át, amely azután megindíthatja a csírázást. A fényen gátolt magvakban valószínűleg sötétben is elég nagy a stacioner P₇₃₀ koncentráció ahhoz, hogy a csírázást beindítsa. A sötétben csírázó magvak megvilágításakor a sötétvörös fénynek van domináns hatása, aminek következtében a már jelenlevő P₆₆₀ az aktív P₇₃₀ formába alakul át (BEWLEY és BACK, 1994).

2.3.4 Vízfelvétel

A magvak az érési periódus alatt nedvességtartalmuk nagy részét elvesztik, így szignifikáns mennyiségű víz felvételére van szükségük az egyedfejlődés folytatódásához. Körülbelül 40-60 % nedvességtartalommal kell rendelkeznie a magoknak. A csírázási folyamat első lépése a vízabszorpció (imbibíció), mely a magvak egy jellegzetes duzzadt állapotához vezet. A felvett víz a sejtek megnagyobbodását eredményezi, illetve a kialakuló

nyomás elősegíti a magvak terméshéjának felrepedését (IZSÁKI, 2004). A duzzadás sebességét három tényező határozza meg: a mag összetétele, a maghéj permeabilitása és a magfelülethez szállítódó víz transzportja. A hidrolitikus biokémiai folyamatok a tárolt makromolekulákat (lipidek, keményítő, fehérjék) építőegységeikre bontják. A vízfelvétel és duzzadás eredményeként a magsűrűség csökkenése mellett a magvak tömege és térfogata növekedik, a tömeg és a sűrűség változása egymással lineárisan korrelál (NÉMETH *et al.*, 2004).

A magok vízfelvételének három fázisa van (VERTUCCI, 1989): egy kezdeti gyors vízfelvételt követően, egy lassú vízfelvétellel jellemzett rövid lag-periódus következik, melyet egy újabb gyors periódus követ az utócsírázás beindulása előtt (3. ábra).

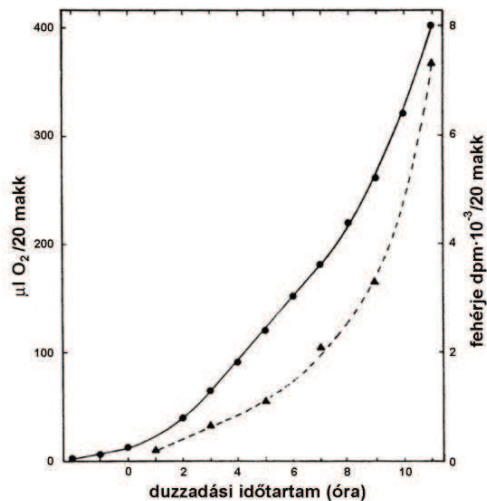


3. ábra A vízfelvétel három fázisa alatt lejártszódó biokémiai folyamatok (BEWLEY, 1997).

2.4 A magvak csírázása

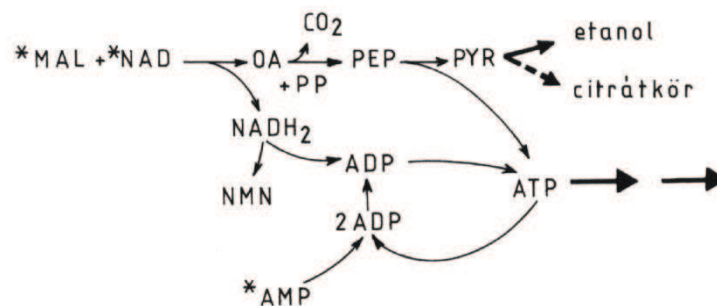
A csírázás az embrionális fejlődés heterotróf időszakának utolsó fázisa, melyben specifikus biokémiai események sorozata következik be (KIGEL és GALILI, 1995). A csíra a mag tartaléktápanyagainak felhasználásával kinő a magból és csíranövénné fejlődik.

A fiziológiai reaktivizálódás szakaszában a magvak vízfelvételével párhuzamosan nő az anyagcsere intenzitása, az embrióban sajátos finomszerkezeti változások következnek be. Az érés során károsodott membránok regenerálódnak, intenzív fehérjeszintézis veszi kezdetét. A génműködés az abszcizinsavszint viszonylag magas értéke miatt gátolt, ezért csak a már szintetizálódott enzimek mutatnak aktivitást (PETHŐ, 1993). Ezzel egyidejűleg fokozódik a légzés, mely a vízfelvételnél említett három szakaszhhoz hasonló mintázatot követ (4. ábra).



4. ábra Árpa oxigén felvételének és fehérjeszintézisének kapcsolata a csírázás korai szakaszában (Abdul-Baki, 1969).

A kezdeti gyors intenzitás növekedés a meglévő enzimek aktiválódásából származik. Az ATP-szintézis sajátos úton valósul meg (PERL, 1986) (5. ábra).



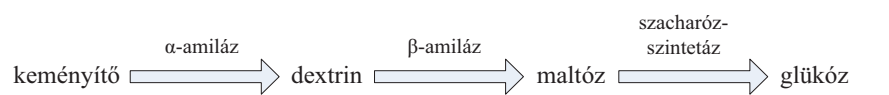
5. ábra Az ATP-szintézis útja a csírázás kezdeti szakaszában (MAL - malát; OA – oxál-acetát; PEP - foszfo-enol-piroszölősav; NMN - nikotin-amid-mononukleotid; a *-gal jelzett vegyületek az érés során felhalmozódnak) (PERL, 1986).

Ezt egy állandó intenzitású lag-periódus követi, mely időszakkal párhuzamosan a csíra endogén szubsztrátkészlete fokozatosan kimerül, a preformált enzimek és RNS-ek lebomlanak. A raktározó szövetekben megtörténik a tartaléktápanyagok hidrolízise, valamint a mobilis szubsztrátok transzlokációja a csírába. Nő a génaktivitás, aminek eredményeképpen új RNS-ek és enzimek szintetizálódnak. Ezen új enzimekkel, valamint a raktározó szövetekben lévő szubsztrátokkal a légzés ismételt fokozódása következik be, mellyel együtt nő a mitokondriumok száma, élénkül az ATP-ciklus (BEWLEY és BACK, 1983; PETHŐ, 1993).

2.5 Tartaléktápanyagok mobilizálása

A csírázás intenzív szakaszában megkezdődik a tartaléktápanyagok lebontása. A nyugalmi periódussal nem rendelkező magvak (*Quercus robur* L.) raktározott tápanyagainak hidrolízise és transzlokációja a csírázás intenzív szakaszában történik meg.

A magok raktározó szöveteiben az érési periódus alatt felhalmozódott keményítő bontása történhet hidrolitikusan amilázok közreműködésével:



illetve nem hidrolitikusan foszforiláz katalízisével:



Az utóbbi folyamat a csírázás korai szakaszára, a hidrolitikus lebontás, pedig a későbbi szakaszra jellemző (PETHŐ, 1993).

A tartalékzsírokat döntően trigliceridek alkotják, melyeket a lipáz zsírsavakra és glicerinre hidrolizál (WANG *et al.*, 1984). A zsírsavak egy bizonyos hányada a β -oxidáció során szacharózzá alakul és a fejlődő csírába irányul, másik részük lipidszintézis során használdik fel (BEEVERS, 1969). A lebontó és felépítő anyagcsere-folyamatok párhuzamosan zajlanak. Más a két folyamat szerepe és lokalizációja is. A raktározó szövetekben a lipidek lebontása fedezi a szintetikus folyamatok energiaigényét. A lebontó folyamat funkciója a csíra szén- és energiaforrással való ellátása. A membránlipidek szintézise ezzel szemben az új sejtmembránok kialakulásának, az anyagcsere élénkülésének biztosítása a csírában és a raktározó szövetekben egyaránt.

A magvakban található fehérjék egy része enzimprotein, más része a fejlődő csíra *N*-forrásaként (tartalékfehérje) szolgál. A tartalékfehérjék lebontását proteázok katalizálják (CALLIS, 1995). A hidrolízis termékei (aminosavak) csak részben metabolizálódnak a raktározó szövetekben, jórészt a csírába transzlokálódnak (BEWLEY és BACK, 1994; WANG *et al.*, 2007). A fehérjék hidrolízise során keletkező aminosavak egy része dezaminálódik, a ketosavak a légzésben felhasználódnak. A felszabaduló ammónia monoamino-dikarbonsavakhoz kötődik és amidok (aszparagin, glutamin) formájában szállítódik a csírába.

A raktározott tápanyagok kimerülése optimális esetben egybeesik a fotoszintetizáló rendszer differenciálódásával. A magvak rendszerint elégséges tartaléktápanyaggal rendelkeznek. A hidrolitikus enzimek aktivitása fokozatosan csökken, a raktározó szövetek (sziklevelek) fokozatosan előregednek, elhalnak. A növények között e tekintetben is különbségek vannak. Például a bab előregedett sziklevelei lehullnak, a napraforgóé a növényen maradnak, megzöldülnek, s egy ideig asszimilálnak (PETHŐ, 1993).

3. TÁROLÁS

A kocsányos tölgy makkjai a rekalcitráns magvak csoportjába tartoznak, melyek nem viselik el a szárítást, így hosszú távú, életképességük csökkenése nélküli tárolásuk rendkívül nehéz (ROBERTS, 1973). A nedvességtartalom kritikus értéke 40-48 % közötti, ezen érték alatt a makk életképessége szignifikánsan leromlik. Mivel még alacsony hőmérsékleten is intenzív légzést folytatnak (SUSZKA, 1970; TYLKOWSKI, 1977), nem tárolhatók légmentesen lezárva. HOLMES és BUSZEWICZ (1955) nem légmentesen zárt edényben tárolták a makkot. SUSZKA (1970) úgy javított ezen a módszeren, hogy egy perforált csövet helyezett az edény közepére, amely leért egészen az edény aljáig a makk tömeg közepén és lehetővé tett egy bizonyos szellőzést (6. a. ábra).

Franciaországban egymásra helyezett, átluggatott falú, nagy űrtartalmú műanyag edényeket (300 – 400 kg) is használnak tölgymakk tárolásra. Biztosítandó a megfelelő O_2 – CO_2 egyensúly fenntartását, az edényeket nem töltik meg teljesen (6. b. ábra).



6. a. és b. ábra Tölgymakk tárolási lehetőségei (Piotto és Di Noi, 2001).

SUSZKA és TYLKOWSKI (1980) kocsányos tölgy magvak három éven keresztül eredményes tárolásáról számoltak be, melynek során a nedvességtartalom alig csökkent. Tároló közegként tőzeget vagy száraz fűrészport alkalmaztak (1/1 térfogat arányban a magvakkal) -1 °C tárolási hőmérsékleten. A tároló közeg szerepe a nedvesség felszívása, a gázcsere lassítása, a magvak kiszáradásának, illetve a magról-magra történő gombafertőzésnek a megakadályozása.

Az utóbbi néhány évben új tárolási módszert dolgoztak ki, melynek során a makkokat egy diffúziós ablakkal ellátott műanyag zsákba töltik, amit egy szilikon membrán zár le. Ez az ablak ötször-hatszor annyi szén-dioxidot enged át, mint oxigént. A vízzel telt magvak légzése miatt a légtér gyorsan megtelik szén-dioxiddal, ugyanakkor szegény lesz oxigénben, ennek következtében csökken a makkok légzése. A probléma ott van, hogy egy adott időtartamú tároláshoz meg kell tudni határozni az ablak méretét, amely lehetővé teszi a csökkentett légzést, anélkül, hogy közben a magvak elpusztulnának.

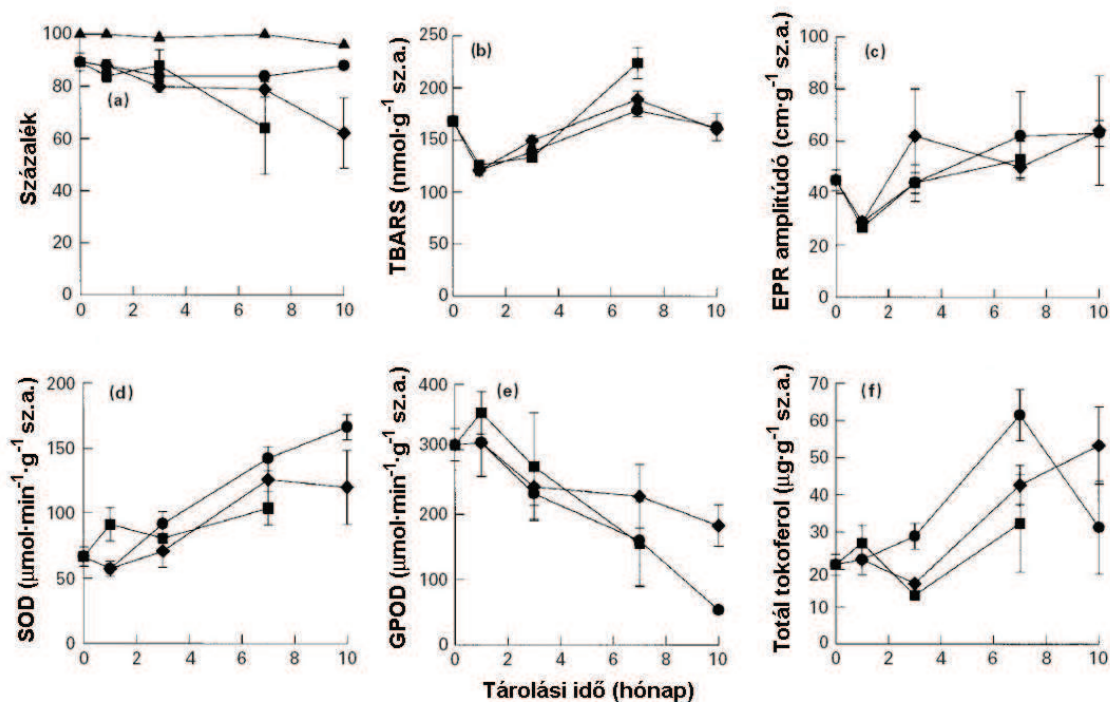
Az optimális tárolási körülmények kiválasztásánál a hőmérsékletre és a makkok víztartalmára egyaránt figyelemmel kell lenni. A makkok hideggel szembeni ellenállóképességét szintén e két tényező határozza meg. Minél alacsonyabb a tárolási hőmérséklet és ezzel egyidejűleg, minél nagyobb a víztartalom, a makkok hidegtűrése annál gyengébb. A 40 % nedvességtartalmú kocsányos tölgy makkok -9 °C-nál, a 45 % víztartalmúak, pedig már -7 °C-on tönkremennek.

A talajról gyűjtött rekalcitráns magvak gyakran fertőzöttek gombákkal, különösen a tölgymakkok, melyeket a „fekete rothadást” okozó gomba (*Ciboria batschiana* vagy más néven *Sclerotinia pseudotuberosa*) nagyon rövid idő alatt teljesen tönkretelhet (SCHRÖDER, 2002). Nyugat-Európában ez jelenti a fő veszélyt a tárolt tölgymagvakra, de Magyarországon is gyakran előfordul. A vegyszeres kezelés elkerülése érdekében a makkokat hőkezelésnek vetik alá. A gyakorlatban a makkokat két-három órára 41 °C-os vízbe merítik, majd felületi szárítás után, amikor a makkok víztartalma 45 % körüli, a makkokat gombaölőszerekkel (iprodion) kezelik, majd kezdetét veszi a tárolás (SUSZKA *et al.*, 1996; FINCH-SAVAGE *et al.*, 2003).

Rekalcitráns magvak tárolását tehát mindig nagyon körültekintően kell végezni, ügyelve arra, hogy a tárolási hőmérséklet ne legyen kisebb, mint -3 °C, mert ezen a hőmérsékleten az életképesség nem károsodik, és a csírázás sem indul meg akár három, négy, sőt öt télen át tartó tárolás során sem. Emellett biztosítani kell a tárolótér légcseréjét, a széndioxid feldúsulás elkerülése miatt (SUSZKA és TYLKOWSKI, 1980).

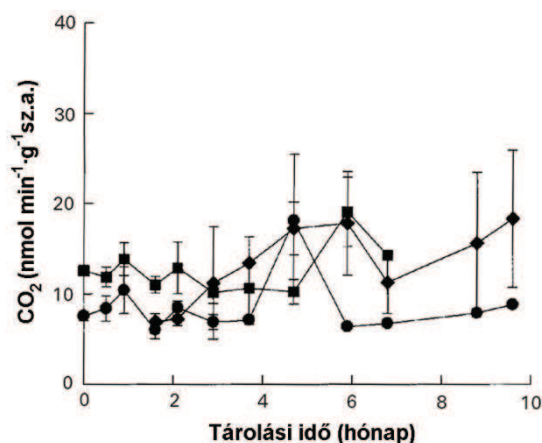
3.1 Tárolás alatt lejárásódó biokémiai folyamatok

A tárolás folyamán a makk életképessége, csírázási százaléka jelentős mértékben lecsökken, mivel víztartalma legnagyobb részét elveszti (GOSLING, 1988). Ennek következményeként nő a lipidperoxidáció és a szabadgyök-képződés. Az aktív oxigénfajták és származékaik oxidatív sérüléseket okoznak (HALLIWELL és GUTTERIDGE, 1984), felhalmozódásuk pozitív korrelációt mutat a makkok kiszáradással szembeni érzékenységgel (HENDRY *et al.*, 1992). A dehidratáció alatti aktív oxigéntermelődés súlyos membrán zavarokat eredményez, ami elsődlegesen foszfolipid degradációt, irreverzibilis gél fázisú területek kialakulását, valamint membránkárosodást foglal magába (McKERSIE *et al.*, 1990). A sejtkárosodás csökkenthető vagy megelőzhető bizonyos védekező mechanizmusok beindulásával, beleértve a gyökfogó vegyületeket és az antioxidáns enzimek intenzív működését (FINCH-SAVAGE *et al.*, 1993). GREGGAINS *et al.* (2000) azt feltételezték, hogy a tárolás folyamán a stressz (kiszáradás) következtében a metabolitok közötti egyensúly felborulhat a szabadgyök-képződés, és az ennek következményeként kialakuló károsodások miatt. Hipotézisük igazolására többek között nyugalmi állapottal nem rendelkező kocsányos tölgy makkotél tárolás alatti stabil szabadgyök-szintjét, lipidperoxidációs folyamatait, enzimikus és nem enzimikus védekezési mechanizmusait tanulmányozták. A makkokat sötétben, folyamatos párasított levegőáramban tartották, 5, illetve 15 °C hőmérsékleten üvegtárolókban, melyek aljára hősterilizált kavics került a makkok vízzel való közvetlen érintkezésének megakadályozása végett. Egy hónap elteltével az 5 °C-on tárolt makkok egyik felét a továbbiakban oxigénnel dúsított (kb. 30 % oxigén) levegőben tárolták. A három különböző tárolási módszerrel kapott eredmények a 7. ábrán láthatók.



7. ábra Kocsányos tölgy makk tárolás alatt bekövetkező változásai 5 °C-on (kör), 15 °C-on (négyzet) és +O₂-el (rombusz). (a) csírázási százalék 5 °C-on (háromszög) és a normál csemetefejlődés, (b) lipidperoxidáció, (c) elektron paramágneses rezonancia (EPR) szabadgyök mérések, (d) SOD aktivitás, (e) GPOD aktivitás, (f) embriótenyely összes tokoferol-tartalma.

A makkok légzése 5 °C-on viszonylag állandó maradt a tárolás alatt, míg a másik két módszer esetében enyhe növekedést tapasztaltak (8. ábra). A magok száraztömeg csökkenése a legnagyobb légzési sebességnél volt a legszámottevőbb, mindhárom módszernél ez a redukció kevesebb volt, mint 3 % a tárolás 10 hónapja alatt, s jórészt a sziklevelelől származott. A csíratengely összfehérje-tartalombeli csökkenése azonban már több mint 30 % volt. Ebből kifolyólag az enzimaktivitásokat, ill. az antioxidánsok mennyiségét száraztömegre vonatkoztatva adták meg. Az aktivitások mindig nagyobbak voltak az embriótenyelyben, mint a sziklevelelben, ezért az adatokat csak ezekre közölték.



8. ábra Kocsányos tölgy légzése a kibocsátott CO₂-szint alapján 5 °C-on (kör), 15 °C-on (négyzet) és +O₂-el (rombusz).

A tárolás alatti életképesség végig magas maradt, a normál csíranövény-szám csökkenő tendenciája ellenére. A szabadgyök-képződés a tárolás előrehaladtával növekvő tendencia szerint változott a tölgy makk embriótenyelyében. A tárolási körülmények során

alkalmazott oxigénszint, ill. hőmérsékletemelés fokozta a légzés intenzitást, ez azonban sem a lipidperoxidációban, sem a szabadgyök-képződésben nem eredményezett szignifikáns változásokat. Az abnormális csíranövények száma azonban ennek ellenére emelkedett. Arra a következtetésre jutottak, hogy a szabadgyök-képződés emelkedése, valamint a megfigyelt magminőségben bekövetkező leromlás nem a stressz hatására kialakuló metabolitok közötti egyensúlyhiányból ered.

Van két másik lehetséges oka is a szabadgyök-szint emelkedésének: a nekrotikus szövetek nagyobb elektron paramágneses rezonancia (EPR) jelet produkálhatnak, mint az élők (GREGGAINS, 1998), a halott sejtek százalékos arányát nem határozták meg, annak ellenére, hogy ezeket a szöveteket nem használták fel méréseikhez. Ebből kifolyólag nem állíthatják biztosan, hogy a mért nagyobb EPR szignál a bekövetkező sejtkárosodást megelőző, vagy azt követő jel. Megemelt EPR jel származhat esetleges gombafertőzésből is (GOODMAN, 1994). HENDRY (1993) felvetése szerint a növekvő antioxidáns mennyiség, vagy a szabadgyökfogó enzimek fokozódó aktivitása elsősorban a látható szövetkárosodásoknál, feltehetőleg a bekövetkező károsodást megelőző (*pre-mortem*) szabadgyök-aktivitás. Ennek megfelelően megnövelt szuperoxid-dizmutáz aktivitást tapasztaltak, mely enzim aktivitását a tárolási körülmények nem befolyásolták. Az enzim működése során termelődő hidrogén-peroxid sejtkárosító hatását peroxidáz enzimek előreláthatólag csökkenthetik, így például az aszkorbinsav-peroxidáz. Ezt azonban nem tapasztalták. Vannak azonban más módjai is a hidrogén-peroxid eltávolításának, illetve nem szükségszerűen kapcsolódnak egymáshoz a szuperoxid-dizmutáz és a peroxidáz enzimaktivitásokban bekövetkező szignifikáns változások (FOSTER és HESS, 1980). Az is lehetséges továbbá, hogy az izoenzimek különböző okokból bekövetkező változásai, inkább a jelenlévő enzim mennyiségi változásainak tulajdoníthatók (FOYER *et al.*, 1994).

A membránvédő funkcióval rendelkező tokoferol (FRYER, 1992) összmenyisége növekedett a tárolás alatt és a szabadgyök detektált mennyiségével hasonlóképpen alakult.

Nem találtak tehát szilárd bizonyítékot az anyagcsere-indukált szabadgyök-aktivitás szignifikáns hozzájáruló szerepére a nedvesen tárolt rekalcitráns magvak *pre-mortem* leromlásában (a makkminőség romlása nem a szabadgyök-aktivitás fokozódásának egyenes következménye). A hidegben tárolt makkok hosszú hónapokig megőrizték viabilitásukat, azonban a mag-vigor az öregedés előrehaladtával jelentősen lecsökkent.

HENDRY *et al.* (1992) ugyancsak kimutatták a szabadgyök felhalmozódását kocsányos tölgy makk kiszáradása alatt az életképesség csökkenésével párhuzamosan. Ez az akkumuláció és a hozzá társuló lipidperoxidáció az enzimatis és antioxidáns védelem csökkenésével járt együtt a makk embriótenegelyében.

HENDRY (1993) szerint a legtöbb magminőség romlással foglalkozó tanulmány összekeveri ezt a fogalmat az élettelen magvak számának növekedésével, mely abban az értelemben jelent problémát, hogy a szabadgyök reakciók mind minőségileg, mind mennyiségileg különbözhetnek az élő és élettelen szövetekben.

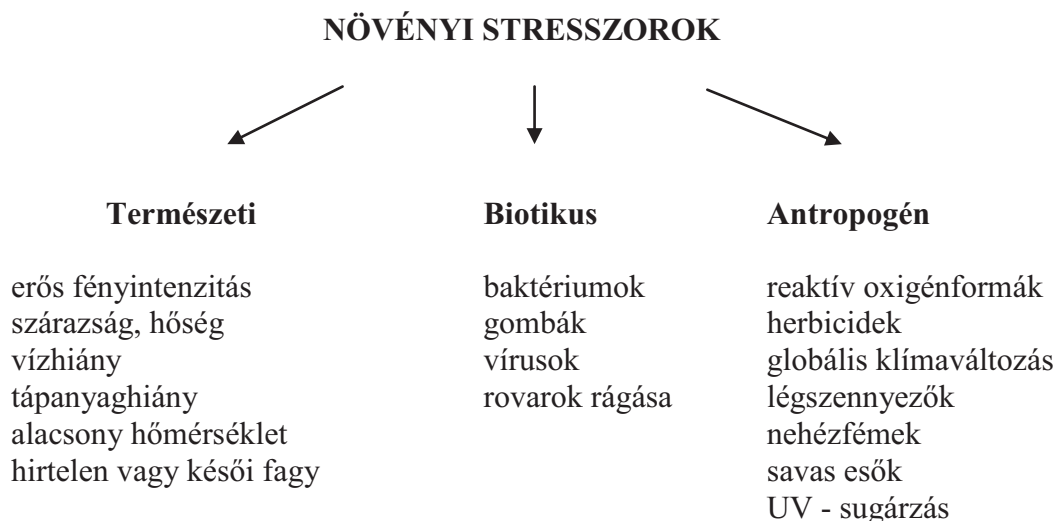
4. A NÖVÉNYI STRESSZ

Mint minden élőlény, a növények is számtalan olyan terhelésnek vannak kitéve, melyek fejlődési lehetőségeiket korlátozzák. Vannak olyan termőterületek, ahol az optimális növekedés feltételei csak nagyon rövid ideig állnak fenn, más helyeken az emberi tevékenység következtében válnak kedvezőtlennek a körülmények. Helyileg vagy időlegesen – a környezeti tényezők intenzitásának változásával - kialakulhatnak olyan helyzetek, amelyek a vegetáció optimális feltételeitől jelentősen eltérnek, és ebből kifolyólag a növényzet súlyos károsodását okozhatják. Bizonyos korlátok között a növények habitusukkal, alakjukkal, egyes organelumaikkal, ill. anyagcsere-folyamataikkal képesek alkalmazkodni a különleges körülményekhez is. Adaptációs változásokon keresztül tudnak növekedni, fejlődni élőhelyük speciális adottságaihoz alkalmazkodva. A különböző genetikai arculattal rendelkező organizmusok más-más módon reagálnak a környezet változásaira.

A *stressz* fogalmát sokan és sokféleképpen definiálták már. A legtöbb szerző nagyon széles értelemben használja ezt a kifejezést. Larcher növényekre vonatkozóan úgy határozta meg, hogy a stressz olyan terheléses állapot, melyben a növénnel szembeni fokozott igénybevétel a funkciók kezdeti destabilizációját követően egy normalizálódáson át az ellenállóság fokozódásához vezet, majd a tűréshatár túllépésekor tartós károsodást vagy akár pusztulást is okoz. A *stresszor* olyan környezeti elem, mely a növény fiziológiájában olyan változást okoz, amely élettani alkalmazkodást eredményez. A stresszor hatására átmenetileg csökken az anyagcsere-folyamatok sebessége és a növények növekedése (LÁNG, 2002).

4.1 Stressztényezők csoportosítása

A növényekre ható stressztényezőket többféleképpen lehet csoportosítani. Az egyik lehetőség a természetes és antropogén faktorok szerinti felosztás. Természetesnek tekintjük a környezet spontán és hirtelen bekövetkező, vagy szélsőséges megváltozásait. Az ember természetátalakító tevékenységének a következményeként megjelenő hatásokat antropogénnek tekintjük, ami globális mértékű degradációhoz vezethet. A másik szempont lehet a biotikus (élő) és abiotikus (élettelen) hatások szerinti megkülönböztetés (LÁNG, 2002).



Ezen hatások időtartama és intenzitása alapján megkülönböztetnek rövid és hosszú időtartamú, valamint enyhe és erős stressz eseményeket. A növényeket érő gyenge stressz (*eustressz*) aktiválhatja a sejtanyagcserét, fokozhatja a fiziológiai aktivitást és hosszabb időtartamon át hatva sem káros hatású. Ilyen a hatása számos növekedésgátlónak és

anyagcsere-inhibitoroknak, melyeknek alacsony koncentrációban serkentő hatása van, nagyobb mennyiségben azonban károsíthatják az anyagcsere-folyamatokat, csökkenthetik a növények aktivitását, korai öregedést, vagy akár a növény pusztulását is okozhatják. Az ilyen anyagok növénykárosító hatását *distressz*nek nevezzük. Ugyanaz a stresszor eustresszt és distresszt is kiválthat a hatás erősségének függvényében. A bioszféra elemei és azok fizikai, kémiai tulajdonságai, valamint a bioszférába jutó anyagok egyaránt stressztényezőként szerepelhetnek. Stresszt okozó hatásuk, intenzitásuk változásából, időtartamából, és a hatást szenvedő növény fajtájától függ. Az említett feltételek részleges vagy azonos idejű teljesülése alapján, bármely környezeti tényező okozhat növényi stresszhatást (NÉMETH, 2002).

4.2 A stressz szakaszai

A stresszor hatására a szervezetben lezajló eseménysort stressz szindrómának nevezzük, mely négy fő szakaszra osztható (9. ábra). Az első fázis a *vészreakció*, ami a stresszor hatására bekövetkező terhelés fokozódásakor, a fiziológiás állapotbeli optimumtól való eltérésben nyilvánul meg, aminek eredményeként jelentősen csökken az életképesség. Az anyagcsere lebontó folyamatai dominálnak, a felépítő folyamatok háttérbe szorulnak. Az ellenálló-képesség az átlagos szint alá esik. A második szakasz az *ellenállás fázisa*, melyben alkalmazkodási és reparációs folyamatokon keresztül az életműködés ismét normálissá válik. Nő a növény ellenálló-képessége, edzettebbé válik. A harmadik stádium a *kimerülés*, mely az alkalmazkodóképességet meghaladó tartamú és intenzitású igénybevétel esetén következik be. Az ellenálló-képesség újra az átlagos érték alá esik, krónikus tünetek jelennek meg, melyeket a növény pusztulása követ. A *regeneráció tartományában* a stresszt kiváltó okok megszűnnek, részlegesen vagy teljesen visszaáll a fiziológiás állapot.



9. ábra A stressz-szindróma fázisai (LICHTENTHALER, 1996).

4.3 A stresszre adott válasz

A növényekben a stressz morfológiai (levélalak, levélvastagság), fiziológiai (csökkenő sejtfunkció aktivitás, lassuló szövet növekedés) és biokémiai változásokat idéz elő. A védekezési mechanizmusok válaszreakciói függnak a stresszor jellegétől, a hatás idejétől, mértékétől, a növény tűrőképességétől, reprodukcióképességétől (fitneszétől), melyet vitalitása, növekedőképessége, fejlettsége határoz meg. A környezeti stresszre adott válaszreakciókból képet kaphatunk a növény tűrőképességéről, alkalmazkodóképességéről. Az alkalmazkodás lehet rövidtávú, fenotípusos válasz (akklimatizáció), vagy hosszú távú

genotípusos válasz (adaptáció). Az adaptáció eredménye a tartós rezisztencia. A stressztolerancia és az adaptációs kapacitás genetikailag kódolt, a fajtól, genotípustól és a fejlettségi állapottól függ (LÁNG, 2002).

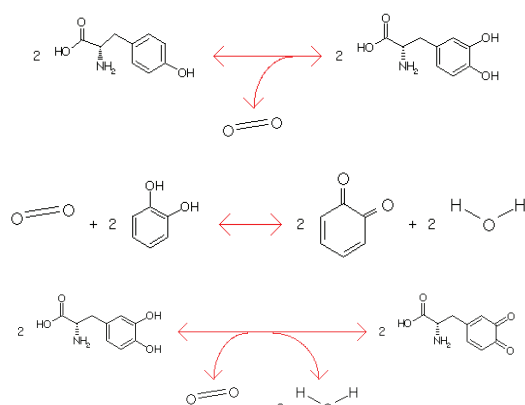
Az elmúlt évtizedek kutatásai egyértelműen kimutatták, hogy a stresszorok a növény sejtjein belüli redoxállapotot megváltoztatják, az anyagcserét oxidatív irányba tolják el. Így a különböző stresszek hatására a növények oxidatív stresszt is elszenvednek, tehát a stressz anyagcsere-folyamatok oxidatív reakciókkal jellemezhetők. Az oxidatív stressz nem más, mint a prooxidánsok és az antioxidánsok közt fellépő, a prooxidánsok javára történő egyensúlyeltolódás (SIES, 1991). A növényi sejtben végbemenő oxidatív stressznek, attól függően, hogy milyen mértékű, többféle következménye lehet: alkalmazkodás, károsodás és stimuláció. A sejtek általában tolerálják az enyhébb oxidatív stresszt, amely gyakran az antioxidáns védelmi rendszer felülszabályozásában nyilvánul meg. Az alkalmazkodás folyamata magában foglalja a génexpresszióban történő változásokat, ami a megnövekedett antioxidáns védelemhez vezethet. Ugyanakkor az oxidatív stressz okozhatja az egyes gének átíródását.

4.4 Stresszjellemző szignál paraméterek

Az élettani folyamatok vizsgálati módszerei biológiai paraméterek mérésén, ill. értékeik meghatározásán alapulnak. A sejtfunkciók működését vagy normális fiziológias állapottól való eltérését az anyagcsere-folyamat metabolitjainak koncentráció értékeivel (pl.: vérkép összetétele), enzimeinek aktivitásaival (pl. izoenzim mintázat), fizikai sajátságaival (pl. növényi termés hozam), stb. szokás jellemezni. A növényi fiziológias vizsgálatok kulcsfontosságú paraméterei az enzimaktivitások, amelyek a növények egyedfejlődésének jellegzetes szakaszaiban és különböző környezeti hatások esetében szignifikáns eltéréseket mutathatnak.

4.4.1 A polifenol-oxidáz (PPO; E.C. 1.10.3.1)

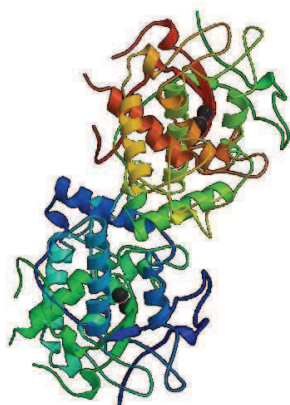
A polifenol-oxidáz a direkt oxidázok csoportjába tartozó enzim, mely a monofenolokból krezoláz hatására képződő o-difenolok, ill. más szubsztrátumok, mint donorok reakcióját katalizálja oxigén akceptorral. A reakciók eredményeképpen kinonok képződnek. E két reakció egymást követően nyilvánul meg (10. ábra).



10. ábra A polifenol-oxidáz által katalizált reakciók (HOFMANN, 2004).

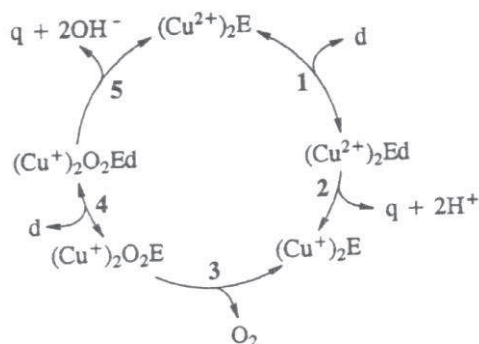
Az enzim felépítése

A metalloenzim aktív centrumában réz található, mőtömege alegységenként 30 kD. Az enzim aktív formában általában 2 – 4 alegység asszociátumából áll. Eredettől és az elválasztás módszerétől függően növényekből 2 – 17 izoenzimet izoláltak. Az enzim aktivitása (eredetétől függően) pH 4.0 – 7.0 között optimális. Burgonyából izolált enzim térszerkezetét a 11. ábra szemlélteti. Az enzim 2 alegységből áll, melyek 2-2 Cu-iont tartalmaznak. Mindegyik alegység két polipeptid láncból épül fel. A Cu-ionokat fekete gömbök jelölik.



11. ábra Burgonyából izolált polifenol-oxidáz térszerkezete (KLABUNDE *et al.*, 1998).

A Cu-ionok a katalízis folyamán változtatják a vegyértéküket. Szerepük van az elektron átvitelben és a molekuláris O₂ átalakításában vízzé (12. ábra).



12. ábra A PPO enzim Cu-ionjainak szerepe az elektronátvitelben és a molekuláris oxigén redukciójában (LÁNG, 1998). (E: enzim-alegység, q: kinon, d: difenol, Ed: enzim-difenol komplex, Eq: enzim-kinon komplex).

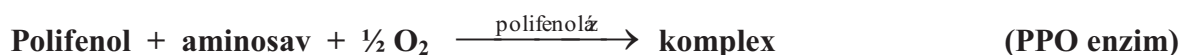
A polifenol-oxidáz szerepe a növényi szövetekben

A növényekben a PPO enzimek széles izoenzim spektrumát mutatták ki. Fotoszintetizáló növényi sejtekben a kloroplasztiszokban lokalizáltak, a nem fotoszintetizáló szövetek sejtjeiben a mikroszóma frakcióban, a peroxiszómában található meg. Fontos szerepük van a mechanikai sérülésekkel szembeni védekezésben. A fenoloidok enzimkatalizált oxidációjában keletkezett kinonok és polimerjeik ugyanis kémiai gátat emelnek a sérülés nyomán bekövetkező fertőzésnek, illetve a már megtörtént fertőzés továbbterjedésének. A zord éghajlatnak ellenálló növényfajtákban általában nagyobb PPO-aktivitást találtak, mint a megfelelő hidegérzékeny fajtákban. Feltehetőleg az enzimnek

hasonló szerepe lehet a fagykárrel szembeni ellenállásban, mint a mikroba- és vírusfertőzésekkel szemben (PESIS *et al.*, 2002).

A mechanikailag, vagy fertőzés által megsértett szövetben az addig külön kompartmentekben elhelyezkedő enzim és endogén szubsztrátjai egymással érintkezésbe kerülnek, és megindul az enzimreakció. A reakcióban keletkező kinonok igen reakcióképes vegyületek, elektronmegkötő-képességgel rendelkeznek. Az elektronok különböző vegyületekből, csoportokból, illetve szabadgyököktől származhatnak (HUNG *et al.*, 2002) a környezeti hatás (stressz) jellegének függvényében. A kinonok részben egymással (polimerizáció), részben a növény fehérjéivel reagálva nagy molekulájú, sötét színű, oldhatatlan vegyületeket alkotnak, amelyek a fertőzést, vagy a növényi szövetek sérülését követő színváltozásokért tehetők felelőssé.

A növényekben a fehérje-anyagcsere és a fenol-fenoláz-rendszer között feltételezhetően szoros kapcsolat van. HESS (1958) kiemeli, hogy néhány oxidált fenolvegyület aminosavakkal, peptidekkel és egyszerű fehérjékkel komplexeket képez. Ezek a komplexek az aminosavak oxidatív dezaminálásának katalizátorai:



Rovartámadás esetén a PPO által katalizált enzimreakciókban keletkező kinonok a növény fehérjéivel reagálva csökkentik azok hozzáférhetőségét, emészthetőségét (BALDWIN és PRESTON, 1999).

Ez a reakció bekövetkezhet a fertőzést okozó vírus burkolófehérjéivel is, és így a vírus inaktívulódik. A fenol-oxidázoknak bizonyítottan szerepük van a különböző stresszhatások, kémiai, mechanikai károsítások következtében kialakuló sebzések esetén a légzésnövekedésben, illetve a többlet O_2 felhasználás szabályozásában. A PPO közvetve ugyan, de szerepet játszik a szövetek auxinszint szabályozásában a 3-indol-ecetsav aktivitásának módosításán keresztül. A növény biotikus és abiotikus stresszre adott válaszreakciójaként az ún. hyperszenzitív reakcióban gyakran a PPO aktivitás megemelkedése kíséri, a megnövekedett mennyiségben szintetizált kinonok a fehérjékhez kötődve citotoxikussá válhatnak, és a sejtszerkezet felbomlik (STOUT *et al.*, 1998). A gombafertőzések során mind a peroxidáz (POD), mind a PPO enzimek mennyisége növekszik (FARKAS és STAHMANN, 1966).

4.4.2 A peroxidáz (POD, E.C. 1.11.1.7)

A magasabb rendű növények élettani folyamataiban a peroxidázok katalizálják azokat az oxidációs folyamatokat, amelyekben hidrogén-peroxid (H_2O_2) az oxidáló ágens. A reakció során az endogén hidrogén-peroxid oxigénre és vízre bomlik. Az így felszabadult oxigént, valamilyen hidrogén donor molekula oxidációjához használják fel, így további vízmolekula képződik:

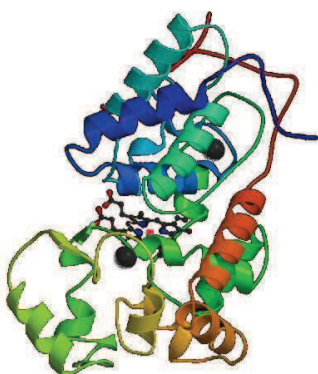


H-donorként szerepelhetnek fenolok, aszkorbinsav, indolecetsav, aminok, a citokróm-c, sőt szervesen ionok is. A peroxidáz rendelkezik a legszélesebb szubsztrát-specifitással, sok izoenzimje van, amelyek reakcióik lefutásában némileg különböznek egymástól. Megtalálható

valamennyi állati és növényi sejtben. Különösen nagy az aktivitása a fűgfa nedvében és a torma gyökerében. A zöld szövetekben a peroxidázok a kloroplasztiszokban lokalizáltak. A nem fotoszintetizáló szövetek sejtjeiben citoplazmatikus enzim. A POD enzimek eloszlása az egyes szövetekben és szervekben az egyedfejlődés során és szezonálisan változik (HOFMANN, 2004).

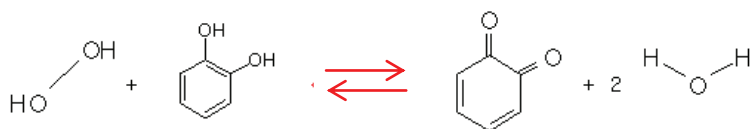
Az enzim felépítése

A különböző növényi forrásokból izolált POD enzimek egyes fizikai-kémiai jellemzői, valamint donor-specifitása eltérő (TAPPEL, 1978). Kivétel nélkül hemet tartalmaznak, ahol a vas tartósan Fe^{3+} formában van jelen. A torma peroxidáz esetében $M_r=40$ kD, prosztetikus csoportja a vasporfirin (hem), hét izoenzim keveréke, pH optimuma 7.2, a H_2O_2 -ra nézve specifikus, de katalizálja metil- és etil-peroxidok bomlását is. A torma peroxidáz térszerkezetét a 13. ábra szemlélteti.



13. ábra A torma peroxidáz szerkezete (BERGLUND *et al.*, 2002).

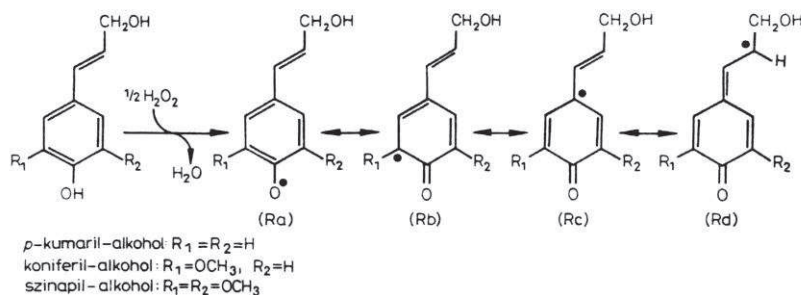
A torma peroxidáz enzim egy polipeptid-láncot, két Ca^{2+} iont (fekete gömbök) és egy hem prosztetikus csoportot tartalmaz. A katechol reakciója hidrogén-perxiddal az alábbi egyensúlyi folyamat szerint játszódik le:



A peroxidáz szerepe a növényi szövetekben

A peroxidázok részt vesznek a sejtdifferenciálódásban (GASPAR *et al.*, 1970-1980), egyes fehérkorhasztó gombák lignolitikus enzimfolyamataiban (PIONTEK *et al.*, 2002), az aszkorbinsav oxidációjában (TEWARI *et al.*, 2002) és több szervesetlen ion oxidálásában.

A ligninképződés polimerizációs szakaszában, a koniferil- és más alkoholok a peroxidáz által katalizált reakciókban gyököket képeznek, azután polimerizálódnak. Az enzimnek szerepe van a fenoxi-szabadgyökök, a monomerek és a dimerek keletkezésében is (14. ábra).



14. ábra A peroxidáz szerepe a ligninképződésben.

Ezek tovább dehidrogenálódhatnak, és végül lignin makromolekulákká polimerizálódnak. A peroxidáz a növényi szövetekben keletkező H_2O_2 felhalmozódás megakadályozásához járul hozzá, ill. H_2O_2 felhasználásával például szerves szubsztrátokat oxidál, ligninné polimerizálja a fahéjsav-alkoholokat. Az említett alkoholoknak is kettős szerepük van: a $NADH \Rightarrow NAD \Rightarrow H_2O_2$ oxidációt stimulálják, majd a peroxidáz szubsztrátjaként hozzájárulnak a ligninképződéshez. Ahol a lignin szintézise végbe megy, ott kimutatható a peroxidáz és további fontos enzimek (fenilalanin-ammónia-liáz, dehidrogenázok, stb.) aktivitásának emelkedése (SALMA *et al.*, 1985).

A biotróf paraziták által okozott betegségek esetében a fertőzött levelek auxintartalma jelentősen megemelkedik, mely auxinszint korrelációt mutat a növényekben lévő indolecetsav-oxidáz (IES-oxidáz) gátlásával. Az IES-oxidáz H_2O_2 -t igényel működéséhez, ezért aktivitása függ a peroxidáz enzimek működésétől. A fertőzés következményeként kialakuló magasabb kataláz és peroxidáz aktivitás miatt a H_2O_2 elbomlik, ami az IES-oxidáz gátlásához vezet. Ennek következménye az auxintartalom megemelkedése. Az aktivitás szabályozásában a fenolos inhibitorok is fontos szerepet játszanak (NAGABABU *et al.*, 2003).

A növényi peroxidázoknak – a PPO-hoz hasonlóan – a polifenolok oxidálásán keresztül szerepük van a növény betegségekkel szembeni ellenállásának kialakításában. A peroxidáz lényeges szerepet tölt be a szója baktériumokkal szembeni rezisztenciájában. Az enzim antibakteriális hatásához nyilvánvalóan a H_2O_2 is hozzájárul. Az aktív peroxidáz és H_2O_2 a fenoloid katechollal együtt egy antibakteriális [peroxidáz - H_2O_2 - fenol] rendszer komponenseiként fogható fel (KEEN, 1975a; 1975b).

Különböző növények vírusfertőzött levélkivonatának oldható frakciójában a peroxidázok aktivitásának növekedését mutatták ki. A fertőzött levelek kivonataiban észlelt peroxidáz aktivitás serkentését a fertőzésmentes szövetekben is enzimaktivitás növekedés vagy koncentráció növekedés kíséri (BALÁZS *et al.*, 1977).

Egyes vírusfertőzésekben megjelenhetnek új izoenzimek is, mind a citoplazmás frakcióban, mind a sejtfalhoz kötött állapotban (GÁBORJÁNYI *et al.*, 1973). Ezek pontos szerepe még nem tisztázott. Számos szerző korrelációt mutatott ki az egészséges gazdanövény peroxidáz aktivitása és betegség rezisztenciája között (HENNIGER és BARTEL, 1963).

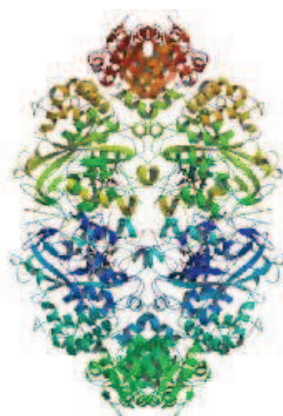
4.4.3 A kataláz (KAT, EC 1.11.1.6)

A kataláz peroxiszómában, mikroszómákban és a sejtmagban jelenlévő enzim, ahol részt vesz a szervezetben felszabaduló hidrogén-peroxid toxikus szint alatti tartásában. A hidrogén-peroxidot vízzé és oxigénné katalizáló oxidoreduktáz enzim az anaerob mikroorganizmusok kivételével megtalálható a legtöbb aerob élő szervezetben (VAINSHTEIN *et al.*, 1981). Baktériumok, gombák, és állati szervezetek mellett, számos zárvatermő növényből is azonosították: spenót, valamint dohánylevelekből, kukoricából,

uborka, tök, napraforgó, gyapot szikleveleiből, és ricinus magjából. Többféle formáját azonosították magasabb rendű növényekből, azonban csak a gyapjú, kukorica és a nyitvatermő növények csoportjába tartozó tömjénfenyő esetében tanulmányozták részletesen a kataláz biokémiai és molekuláris aspektusait (MULLEN és GIFFORD, 1993).

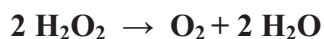
Az enzim felépítése

A kataláz tetramer szerkezetű (eredetétől függően $M_r=80-385$ kD) enzim. Négy polipeptidláncból épül fel, melyek mindegyike több mint 500 aminosav egységből áll. Alegységenként egy-egy vasporfirin prosztetikus csoportot tartalmaz (CHANCE *et al.*, 1979). Háromdimenziós struktúrája a 15. ábrán látható.



15. ábra A kataláz enzim (*Neurospora crassa*) háromdimenziós struktúrája (DIAZ *et al.*, 2004).

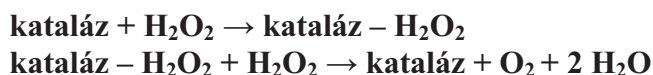
Az enzim pH optimuma attól függően, hogy milyen szervezetből származik, 4 és 10.5 közötti. A sejtek különböző helyein keletkezett hidrogén-peroxid spontán módon, vagy kataláz segítségével átalakulhat vízzé és molekuláris oxigénné (SUTHERLAND, 1991), a katalizált reakció bruttó reakcióegyenlete az alábbi:



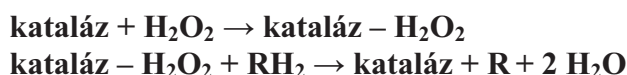
A kataláz szerepe a növényi szövetekben

Jelentős szerepet játszik a peroxiszómák és a glioxiszómák hidrogén-peroxid szintjének csökkentésében (FLOHÉ, 1989), ahol főleg a fotorespiráció és a zsírsavak bontása során keletkező hidrogén-peroxid lebontásáért felelős (TOLBERT, 1981).

Az enzimreakcióban elsőként a hidrogén-peroxid megkötése történik, majd újabb molekula hidrogén-peroxiddal reagálva oxigén és víz képződik, s szabaddá válik az enzim:



A fenti reakció lúgos közegben zajlik, azonban savas közegben az enzim peroxidatív aktivitást mutat, hidrogén-peroxiddal szubsztrátokat képes eloxidálni:



A szubsztrátok lehetnek alkoholok, fenolok, hangyasav, formaldehid (LAMB *et al.*, 1978; SCANDALIOS *et al.*, 1997).

Egyike a leghatásosabb enzimeknek, mert egy molekula kataláz másodpercenként 40 millió hidrogén-peroxidot képes lebontani robbanásszerű hevességgel (FERSHT, 1977). Ha például 1 mg kataláz elegyítünk 10 mM-os hidrogén-peroxid oldattal, akkor 4000 μmol hidrogén-peroxid / perc teljesítménnyel katalizálja a reakciót, míg ugyanennyi kataláz 10 μM -os hidrogén-peroxid oldatban csak 2 μmol /perc. Ebben az esetben valószínűleg más molekula veszi át szerepét. Az is lehetséges, hogy bizonyos stresszhelyzetekben, amikor a NADPH igény nagy, a kataláz szerepe megnövekszik, pl. az antiszensz technológiával katalázhiányossá tett transzgenikus dohánynövényekre a nagyobb fényintenzitás letális hatású, míg gyenge fényintenzitás mellett nem szenvedtek károsodást (CHAMNONGPOL *et al.*, 1996).

4.4.4 Stressz jellemzése enzimkorrelációval

Adott körülmények mellett az enzimaktivitások értékei, ill. a szöveti struktúrákat jellemző eloszlásaik az anyagcsere szabályozásának a következménye (NÉMETH, 2007a). Ezt a tényt tükrözi vissza a különböző enzimaktivitások között tapasztalt és közölt lineáris enzimkorrelációknak a létezése. Szakirodalmi áttekintés nyomán az enzimkorrelációkra utaló publikációkat három kategóriába sorolva, fellelhetők olyan közlemények, amelyekben a szerzők (7. táblázat):

- (1.) enzimkorrelációkat feltételeztek és létezésüket is megállapítják,
- (2.) enzimaktivitások közötti korrelációk értelmezésével nem foglalkoztak, de a közölt enzimaktivitások korrelálnak egymással és
- (3.) enzimkorrelációkat feltételeztek, de kísérleti eredményeik feltételezésüket nem támasztják alá.

E három kategóriába csoportosított szakirodalmakat foglalja össze a 7. táblázat. Az 7. táblázatban korrelációt megállapító vagy magukban foglaló publikációk közös sajátossága az, hogy az enzimkorrelációkra csak leíró, megállapító jelleggel térnek ki, eredetüket nem értelmezik. Az enzimkorrelációk szabályozásméleti értelmezésére három publikáció megállapításai alapján nyílik lehetőség. LION *et al.* (2004) által továbbfejlesztett anyagcsere-vezérlési elmélet (MCA-metabolic control analysis) figyelembe veszi az enzimkorrelációk létezését is. Azonos anyagcsere-útvonalhoz tartozó enzimek esetében bizonyították, hogy az egyik enzim mennyiségének megváltozása negatív vagy pozitív korrelációkon keresztül hatással van a többi útvonalon belüli enzimmennyiségekre is. A korrelációkat két típusba, kompetitív és szabályozási korrelációk csoportjaiba sorolják (LION *et al.*, 2004). Ezek eredetét a sejten belüli összfehérje mennyiségének és az anyagcsere állandósult állapotát biztosító útvonal-fluxusoknak a szabályozására vezetik vissza. Adott anyagcsere-útvonalon belül az enzimmennyiségek közötti kompetitív korreláció abban nyilvánul meg, hogy ha az egyik enzim mennyisége növekedik, akkor a sejt az összfehérje-tartalom állandóságát biztosítandó a többi enzim mennyiségét arányosan csökkenti. Ezzel a szabályozási mechanizmussal kerül ki a sejtek a fehérjék (enzimek) sejten belüli, oldhatósági korlátból fakadó kicsapódásának veszélyét. A szabályozási korrelációk az útvonal fluxusok állandósult értékekre történő beállítási igényének, ill. szabályozási kényszerének a következménye, amelyek jellegüket tekintve negatív és pozitív típusúak egyaránt lehetnek. A fehérjekicsapódás elkerülése és a fluxusok állandó értékekre történő beállítása dinamikai folyamatokon keresztül valósul meg, így a szerzők által értelmezett korrelációk, csak a különböző időállapotokhoz tartozó enzimaktivitások kapcsolatára adnak magyarázatot.

7. táblázat Enzimkorreláció tárgykörű publikációk és megállapításaik.

1. Feltételezett és bizonyított enzimkorrelációk.			
Szerzők/(év)	Vizsgált enzimek	Biológiai minta	Enzimkorreláció
Majeau és Coleman (1994)	Carbonic anhydrase (CA), Rubisco	Borsó levél	Állandó enzimaktivitási hányados.
Makino <i>et al.</i> , (1992)	Carbonic anhydrase (CA), Rubisco	Rizs, borsó, spenót	Állandó enzimaktivitási hányados.
Moharrery és Das (2001)	amiláz, ureáz, lipáz, proteáz	Birka bendő mikróba populációja	(-) korr.: amiláz/ureáz; (+) korr.: amiláz/lipáz ill. ureáz/proteáz
Zhang <i>et al.</i> , (2006)	SOD, CAT, POD, PPO	<i>Mikania micrantha</i> levél	(+) korr.: SOD/CAT ill. SOD/POD
Yang <i>et al.</i> , (2004)	SOD, CAT, POD	<i>Brassica chinesis</i> levél	(+) korr.: SOD/CAT ill. SOD/POD
Gong <i>et al.</i> , (2006)	POD, PPO	Dohánylevél	(+) korr.: PPO/POD
2. A publikációk enzimaktivitásai között a szerzők által nem említett korrelációk kimutathatóak.			
Tolbert (1973)	(a.) PPO/citokróm-oxidáz; (b.) malát-dehidrogenáz/glikolát-oxidáz	Spenótlevél	(a.) Nincs korreláció. (b). Korreláció értelmezhető.
Nable <i>et al.</i> , (1988)	CAT, POD	Dohánylevél	CAT/POD korreláció értelmezhető.
Fodor <i>et al.</i> , (2005)	APX, POD, GR	Búza (hajtás, gyökér)	Nem hangsúlyozott korreláció.
Cohen <i>et al.</i> , (1984)	ornitin-dekarboxiláz, arginin-dekarboxiláz	<i>Chlorella vulgaris</i>	(-) korr.: életcikluson bellüli, részleges korreláció (sötét szakasz)
Amano <i>et al.</i> , (1988)	SOD, NADH-oxidáz	<i>Bacteroides gingivalis</i> 381, <i>Bacteroides denticola</i> ATCC 33185	A két enzim között létező korrelációt a szerzők nem tárgyalják.
Wyrwicka és Sklodowska (2006)	APX, glutation-transzferáz	uborkalevél	Közvetett módon korreláció származtatható.
Fioretto <i>et al.</i> , (2007)	POD, lakkáz, celluláz, xilanáz	Mirtusz és magyaltölgy levél, avar	Celluláz és xilanáz közötti nem kiemelt korreláció.
Zheng <i>et al.</i> , (2005)	PAL, PPO, POD	bors	(-) korr.:PPO/POD és PPO/PAL ill. (+) PAL/PPO
Ruuhola és Yang (2006)	CAT, POD	Hegyi nyír	(-) korr.: CAT/POD
3. Enzimkorrelációk hiányának megállapítása.			
Belpoliti <i>et al.</i> , (1993)	GR, GPOD, 6-foszfoglüko-dehidrogenáz Glükonokináz, 6-foszfoglükono-dehidrogenáz,	Szürke hályogos humán szem	Korreláció hiányának megállapítása.
Wang és Dykhuizen (2001)	6-foszfoglükonát-dehidrogenáz	24 féle <i>E. coli</i> baktérium törzs	A keresett korreláció hiányának megállapítása.
Szecskó <i>et al.</i> , (2004)	PPO, POD	Szilvadugvány (gyökérszövet)	Korreláció hiányának megállapítása.

(APX-aszkorbinsav-peroxidáz; CA-carbonic-anhydrase; CAT-kataláz; GPOD-glutation-peroxidáz; GR-glutation-reduktáz; PAL-Fenil-alanin-ammónia-liáz; POD-peroxidáz; PPO-polifenol-oxidáz; SOD-szuperoxid-dizmutáz)

Az azonos időpontokban a növények szöveti struktúráit jellemző enzimkorrelációk az anyagcsere-intenzitás térbeli eloszlásából vezethetők le. ALMAAS *et al.* (2004) *E. coli* baktérium metabolizmusának modellezésén keresztül bizonyítják a különböző tápanyaghatásra a baktérium anyagcsere-hálózatban bekövetkező fluxus-állapotváltozásokat, amelyek egymástól szignifikánsan eltérő, de állandósult értékű útvonal-fluxusokat és eredő anyagcsere-intenzitást eredményeznek (ALMAAS *et al.*, 2004). NÉMETH és ALMAAS *et al.*

megállapításait és az enzimaktivitások meghatározásának szükséges biokémiai feltételét összekapcsolva bizonyítja, hogy az időfüggetlen lineáris enzimkorrelációk is a növényi anyagcsere-szabályozásnak a következménye. Az időfüggetlen lineáris enzimkorrelációk az abszolút enzimaktivitások azonos típusú, szabályozott eloszlásaira hívja fel a figyelmet. Enzimaktivitások időtől független lineáris korrelációjának eredetvizsgálatához két tetszőleges, Michaelis-Menten katalitikus hatású enzimet véve, a kiindulási feltétel, hogy az enzimaktivitások a biológiai mintákban állandó összfehérje-tartalom mellett eltérő értékekkel rendelkeznek (NÉMETH *et al.*, 2007b). Ha az alkalmazott aktivitás meghatározási módszer validált, vagyis az *in vitro* körülmény biztosítja, hogy a szubsztrátok koncentrációi legalább két nagyságrenddel nagyobbak enzimjeik Michaelis konstans értékeinél, akkor a biokémiai reakciók sebességei a Briggs-Haldane összefüggés zérus-rendű tartományába tolódnak.

E kísérletes kikötés teljesülése esetén és alloszterikus hatás hiányában a fotometriásan nyomon követett biokémiai reakció időben egyenletes termékkoncentráció változásról tájékoztat bennünket. A zérus-rendű tartományokban a reakciósebességek jó közelítéssel egyenesen arányosak az enzimek koncentrációival. Tehát *in vitro* módon meghatározott enzimaktivitások, amelyek közel állandónak tekinthető fehérjetartalom esetén a reakciósebességektől nem független paraméterek, csak abban az esetben szolgáltathatnak lineáris korrelációt, ha a biológiai rendszer az enzimek aktivitását egymáshoz viszonyítva arányosan szabályozza. Figyelembe véve a szövetekben mért enzimaktivitások eloszlásának normál jellegét és értékeiknek legalább egy nagyságrendi tartományra kiterjedő megjelenésüket, továbbá a növényi anyagcsere szöveten belüli inhomogenitását (ALDEA *et al.*, 2006), az enzimek közötti korrelációk csak akkor fedik fel magukat, ha az aktivitások mérése ugyanabból a növényi kivonatból történik. Ez a megkötés az időfüggetlen lineáris enzimkorrelációk érzékelésének szükséges feltétele.

4.4.5 Az endogén formaldehid

A térszerkezetet módosító szubsztitúciós reakciók az enzimek aktivitásának szintézist követő, gyors és megfordítható szabályozására teremtenek lehetőséget. Közös jellemzőjük a térszerkezet néhány funkciós csoport általi változtatása, amely sokkal kisebb energiaigény mellett valósul meg, mint az időigényes fehérje bioszintézisek (PAIK *et al.*, 1980).

A metilezés és demetilezés az ismert biokémiai szubsztitúciók közé tartoznak, fontos szerepet töltenek be a fehérjék közötti, ill. a sejten belüli kölcsönhatásokban. Különböző szövetek esetében az egymástól eltérő, specifikus biológiai aktivitással rendelkező szubsztrátumok és makromolekulák metileződnek, ill. demetileződnek, aminek következtében megváltozik sejten belüli koncentrációjuk, s így közvetve az adott élettani-, ill. anyagcsere-folyamat sebessége. Az a felismerés, hogy a különböző vegyületek enzimatiszta metilezése formaldehiden keresztül megy végbe lehetőségeket biztosít a stressz-kutatásban és számos egyéb élettani folyamat megismerésében egyaránt (NÉMETH, 2002).

Számos fehérjéből izoláltak nitrogén, oxigén és kén atomjaikon keresztül metilezett aminosav származékokat (PARK és PAIK, 1990). Kimutatták a DNS bázisainak metileződését is (SAMSON és CAIRS, 1977). A fehérjék arginin egységeit módosító fehérje, a metiláz I. (EC 2.1.1.23) felfedezése óta (PAIK és KIM, 1968) számos metilező enzimet azonosítottak, ill. izoláltak (TUCK *et al.*, 1985; VALENTINE és PETTIGREW, 1982). A metilezés a makromolekuláris anyagok utólagos módosítása mellett fontos szerepet játszik az anyagcsere termékeinek, ill. köztitermékeinek szintézisében is. A metilezés részt vesz a pterin, klorofill, néhány hormon, kinon és membránalkotó, stb. keletkezésében.

A metilezés során a N, S, O és C atomok hidrogénjeinek metil-csoporttal való helyettesítése megváltoztatja a kiindulási vegyület (akceptor) fizikai és kémiai tulajdonságait (molekulatömeg, hidrofóbicitás, kötéserősség, sav-bázis karakter, stb.). Ennek következtében

a származék biológiai sajátsága jelentősen eltérhet az akceptorétól. Az anyagok célirányos és vezérelt metilezése az anyagcsere-folyamat meghatározó része. A sejt élettani működtetésével, a többi szubsztitúciós reakcióval (pl. foszforilezés, glikozilezés, stb.) párhuzamosan, illetve azokat követően, az anyagok mennyiségén keresztül lehetőség nyílik a metabolizmus szabályozására. A demetilezési és metilezési folyamatok növények egyedfejlődése alatt különböző sebességekkel mehetnek végbe. Ennek velejárója a biológiai rendszerek endogén formaldehidtartalmának a fejlődési állapottól függő kisebb vagy nagyobb eltérése. Szubsztrátok metilezése-demetilezése megakadályozhatja az enzim-szubsztrát komplex kialakulását, illetve komplexképzés esetén a szubsztráton végrehajtandó kémiai átalakulást (NÉMETH, 2002).

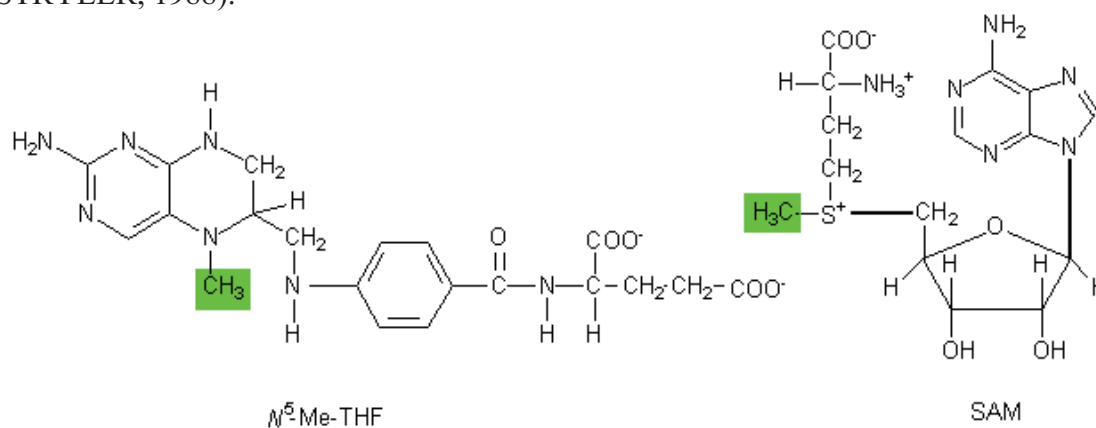
Magyar kutatók hipotézise szerint az enzimkatalizált metilezési reakciók közvetett úton, több lépésben valósulnak meg és azokban az endogén formaldehidnek kitüntetett szerepe van (TYIHÁK, 1987).

Formaldehidet nem csak metilezési, hanem - demetilezett szubsztrátumok keletkezése mellett - demetilezési folyamatokból is kimutatták (CHELVARAJAN *et al.*, 1983). Az N-, S- és O-metilezett termékek egyik lehetséges biotranszformációja a demetilezés. N-metilezett termékek katabolizmusa esetében kiemelik az N-demetilezés jelentőségét, amelyben a formaldehid a folyamat állandó metabolikus terméke (BENET *et al.*, 1995). A metilezett termékek potenciális formaldehid szolgáltató, generátor vegyületek. Demetileződésük során endogén formaldehid keletkezik, amely további oxidációs lépések eredményeként hangyasavvá, ill. szén-dioxiddá alakulhat. A metil-csoportok formaldehid keletkezésén keresztüli eltávolítását az oxidoreduktázok csoportjába tartozó demetilázok katalizálják. Biokémiai szerepük - az enzimés metilezéshez hasonlóan - döntően a szubsztrátjaik (metilezett-termékek) és a demetilezett származékok biológiai sajátságaikból erednek. A demetilezés folyamatai fontos szerepet játszanak, pl. a metilezett DNS-szekvenciák kijavításában (SAMSON és CAIRS, 1977), alternatív biokémiai szintézisekben (MICHAEL, 1993), apoptózis indukálásában (TYIHÁK, 1997) és a dinamikus biológiai metilezési-demetilezési folyamat szabályozásában.

A metilezés és a demetilezés folyamatai az egyedfejlődés során eltérő sebességekkel mehetnek végbe. Ennek következményeként a biológiai rendszerek endogén formaldehidtartalma a fejlődési állapottól függően kisebb vagy nagyobb lehet (NÉMETH, 2002).

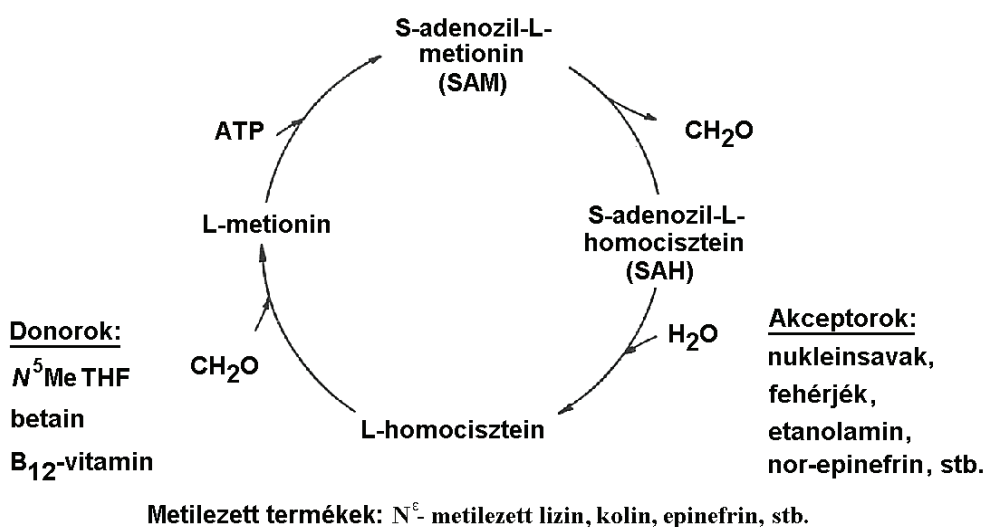
Az endogén formaldehid ciklus

Az enzimatiskus metilezésnél az N^5 -metil-tetrahidrofolát (N^5 -Me-THF) és az S-adenozil-L-metionin (SAM) a két kulcsfontosságú metil-csoport közvetítő forrás (16. ábra) (STRYEER, 1988).



16. ábra Metil-csoport donorok (NÉMETH, 2002).

A SAM szintázenzim (EC 2.5.1.6) (GARRETT és GRISHAM, 1995) hatására adenzin-trifoszfátból (ATP) és metioninból keletkezik. Ebben a folyamatban az ATP trifoszfát csoportja piro-foszfáttá és orto-foszfáttá hasad. Az ATP adenzil-csoportja a metionin kén atomjához kapcsolódik. A metil-csoportot hordozó kénatom pozitív töltése miatt reakcióképesebb a SAM az N⁵-metil-tetrahidrofolátnál. Metilezéskor, a folyamat eredményeként a SAM molekulák metil-csoportjai akceptoroknak, pl. foszfátidil-etanolaminnak adódnak át, a SAM-ból S-adenozil-L-homocisztein (SAH) keletkezik, amely a vizes közegben adenzinná és L-homociszteinné hidrolizál. Az N⁵-Me-THF-ből származó metil-csoport a B12-vitaminból származó metilo-kobalamin közvetítésén keresztül az L-homociszteinhez kapcsolódik, s ezzel a reakcióval az L-metionin újra termelődik. Ennek alternatívájaként az L-homocisztein L-metioninná metilezhető (EC 2.1.1.5) pl. a kolin oxidációs termékeként keletkező glicin-betainnal. A SAM és SAH biztosította metilezési és demetilezési reakciók körfolyamatot képeznek (17. ábra), melyet formaldehid ciklusnak neveznek.



17. ábra Endogén formaldehid ciklus (TYIHÁK *et al.*, 1998).

A folyamatban szabad (mérgező) formaldehid nem jelenik meg, a reakciók "vezéreltek" (TYIHÁK *et al.*, 1998). Az endogén formaldehid mérésén keresztül (reagens: dimedon, 2,4-dinitro-fenil-hidrazin) a biológiai transzmetilezés egyszerű analitikai módszerekkel követhető.

Az elmélet kitüntetett szerepet tulajdonít az ún. "formaldehid generátor"-oknak, melyek különböző anyagcsere-folyamatokban résztvevő endogén N-, S- és O- metilezett vegyületek. A formaldehid generátorok és akceptorok anyagminőségi eloszlása és mennyiségi változásai jellemzik a biológiai rendszer fiziológiai állapotát, ill. a specifikus biogén és abiogén stresszhatásokat (BLUNDEN *et al.*, 1985). A formaldehid generátorok mennyiségének csökkenése és a magas endogén formaldehidszint együttesen élénk demetilezési reakciókra utal. Magas endogén formaldehidszint és az N-metilezett vegyületek mennyiségének növekedése fokozódó metilezési folyamatokat jelez.

A formaldehid normális és nélkülözhetetlen összetevője valamennyi biológiai rendszernek, főleg hidroximetil-csoportok formájában. A fő formaldehid forrás azonban a biológiai metilezés-demetilezés komplex, dinamikus folyamata

Léven a legreaktívabb molekulák egyike, maga a formaldehid a legkülönbözőbb endogén kis- és makromolekulákkal reagálhat. Mindezekből az is következik, hogy a formaldehid nem melléktermék a biológiai rendszerekben, hanem a biológiai világ alapvető és

nélkülözhetetlen összetevője nagyrészt még ismeretlen funkciókkal, ezért előfordulásának megismerése, feltérképezése segít szerepeinek megismerésében.

Az endogén formaldehidtartalom képet ad a metilezési-demetilezési folyamatok eredő intenzitásáról. A formaldehidtartalom növekedése a metil-csoportok transzferének fokozódását jelzi, csökkenése a kötött formaldehid metil-csoportok formájában történő "konzerválását" tükrözi vissza (TYIHÁK, 1998; NÉMETH, 2002).

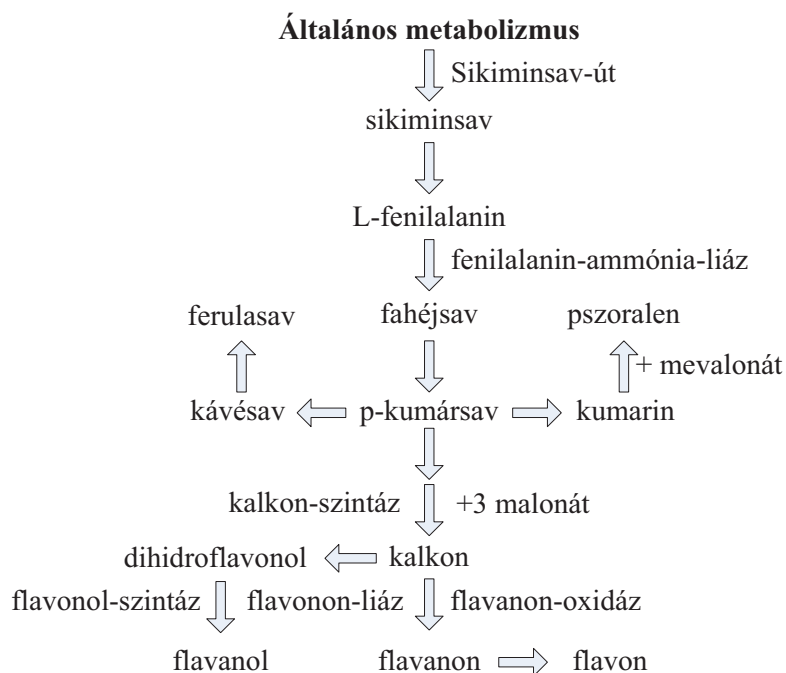
4.4.6 A fenoloidok

A másodlagos növényi metabolitok körébe tartozó fenoloidok rendkívül változatos struktúrával és biológiai funkcióval rendelkező vegyületek közé tartoznak. A fenil-alaninból, acetyl-koenzim-A-ból és cukrokból képződő aromás vegyületek legfontosabb csoportjai a 8. táblázatban találhatók (HARBORNE, 1980).

8. táblázat Növényi fenolos vegyületek legfontosabb csoportjai.

C-atomszám	alap szénváz	osztály
6	C ₆	egyszerű fenolok, benzokinonok
7	C ₆ - C ₁	fenolsavak
8	C ₆ - C ₂	acetofenon, fenilecetsav
9	C ₆ - C ₃	hidroxifahéjsav, polipropén, kumarin, izokumarin
10	C ₆ - C ₄	naftokinon
13	C ₆ - C ₁ - C ₆	xanton
14	C ₆ - C ₂ - C ₆	stilbén, antrakinon
15	C ₆ - C ₃ - C ₆	flavonoidok, izoflavonoidok
18	(C ₆ - C ₃) ₂	lignánok, neolignánok
30	(C ₆ - C ₃ - C ₆) ₂	biflavonoidok
	(C ₆ - C ₃) _n	ligninek
n	(C ₆) _n	katekolmelanin
	(C ₆ - C ₃ - C ₆) _n	(kondenzált tanninok)

Bioszintézisük legnagyobbbrészt aromás aminosavakból (fenilalanin, tirozin) indul ki. Ammónia-liázok közreműködésével elsőként az aminocsoport eltávolítása történik meg, s így keletkeznek az első fenilpropánsavak, a fahéjsav-származékok (cinnamoidok): fahéjsav, p-kumársav, kávéssav, ferulasav, klorogénsav. Változatos szerkezetük az alkylánc telítetlenségéből, illetve a fenolos hidroxil-csoportok jelenlétének köszönhető. A fenoloidok polimerizálódhatnak, metileződhetnek, ezen felül sokféle glikozidjuk létezhet. Így jönnek létre a fehérjekicsapó sajátságú polifenolok, cserzőanyagok. A kinonok, naftokinonok, plasztokinonok és ubikinonok kétféle úton is keletkezhetnek, egyrészt a fenilpropanoidokból láncrövidüléssel, másrészt tri- vagy poliketid (poli-acetyl-lánc) ciklizáció révén (SZABÓ, 2005). Metabolizmusuk általános útvonala a 17. ábrán látható (HELLER és FORKMANN, 1988).



18. ábra Fenoloidok szintézisének általános útvonala (HELLER és FORKMANN, 1988).

A fenoloidok szerepe a növényi szövetekben

A növényi fenolok a lágy- és fásszárú fajokban egyaránt széleskörűen elterjedtek. Nagy jelentőségűek a növények tulajdonságainak - szag, szín és illatanyagának - kialakításában, valamint az élettani folyamatokban (GOMBKÖTŐ és SAJGÓ, 1985). Szerepük van a faanyagok szilárdításában, az anyagcsere-folyamatok irányításán keresztül a sejtosztódás, növekedés, érés, öregedési folyamatok befolyásolásában (YOSHIOKA *et al.*, 2004), a stresszválaszban (CHALKER-SCOTT és FUCHIGAMI, 1989), gesztképződésben (ALBERT *et al.*, 2003, 2005; HOFMANN, 2006), a növények biológiai védekezésében. A növények ellenálló-képessége a kórokozó mikroorganizmusokkal (vírusok, baktériumok, gombák) és kártevő állatokkal (főleg rovarokkal) szemben nagyrészt éppen ezen speciális metabolitok jelenlétének köszönhető (ROBBINS, 1980).

A tanninok (kondenzált és hidrolizálható) olyan növényi polifenolok, amelyek a fehérjéket kicsapják. Emiatt bőrcserző hatásúak, növénykórtani és allelopátiás szempontból jelentősek. Vízben jól oldódnak, és könnyen közlekednek az edényes növények szállítóelemeiben. Kinonokká oxidálódva különösen jól kötődnek fehérjékhez. Ezek a képességek teszik lehetővé, hogy a növények betegségellenálló-képességének mértékét megszabja a tanninok minősége és mennyisége. Sok polifenol antibakteriális, antimikotikus vagy antivirális (SZABÓ, 2005). Viszonylag sok fenolos hidroxici-csoportja lehetővé teszi sokféle kapcsolódásukat (kondenzáció, észterképződés, glikozidok kialakulása), ami együttjár funkcionális hatásuk változatosságával. A fák kérgei különféle hidrolizálható tanninokban gazdagok (pl. *Quercus* spp., *Fagus sylvatica* L.). A kinonok polimerizálódva az álgeszt színét adják (ALBERT *et al.*, 2003, 2005; HOFMANN, 2006).

A kumarinok és származékaik fényérzékenyítő, fitotoxikus anyagok, a növények ellenálló-képességéért felelősek (KOBAYASHI és ITO, 1998).

A lignánok, ligninek gátolják a lipidperoxidációt, ezáltal membránstabilizáló hatásúak. Sejtfalvastagodás során mennyiségük megemelkedik. Sajátos szerkezetformáló tulajdonságaik attól függenek, hogy milyen aromás alkoholból keletkeznek, és milyen kapcsolódási variációban alkotnak makromolekulákat. Általában háromféle aromás fenilpropanol vesz részt

képződésükben, a koniferil-alkohol (fenyőfélékben), a szinapil-alkohol és a p-kumaril-alkohol (két-és egyszikűekben) (HAHLBROCK és GRISEBACH, 1979).

Kiemelkedő a többnyire sárga színű flavonoidok szuperoxid- és hidroxil-szabadgyököket hatástalanító aktivitása (ROBAK és GRYGLWSKI, 1988). A flavonoidok változatossága ellenére, növényélettani szerepük sok tekintetben hasonló. Sejtvédő funkcióval rendelkeznek, UV-B sugárzás hatására a flavonoidok bioszintézise fokozódik. Viráglevelek, terméshéjak, maghéjak színét határozzák meg. A flavonoidok többsége sárga, az antocianin-pigmentek pH-tól függően kék, ibolya vagy piros színűek. Védelmi szerepükön kívül elősegítik a beporzást, vonzzák a különböző hullámhosszúságú fényre érzékeny rovarokat. Antivirális, antibakteriális, antimikotikus vagy allelopátiás hatásúak (SZABÓ, 1984). A héjképletekben, rügypikkelyekben különösen sok flavonoid található.

Sejtmembrán-szinten szabályozzák a nitrogén-fixáló baktériumok (pl. *Rhizobium*) és a gyökérkapcsolt (mikorrhizás) gombák gazdanövényhez való kötődését.

A sóképző és fémkelátokat alkotó antocianinok nagyobb mennyiségben növelik a sejtek vízmegtartó sajátságát, ezzel csökkentve a vízpotenciált, aminek következménye a növény szárazságtűrő-képességének növekedése (SZABÓ, 2005).

4.5 ABIOTIKUS HATÁSOK

Ezen alfejezetek célja a növényi egyedeket érő lehetséges stresszeseményekre bekövetkező válaszreakciók sokrétűségének bemutatása. Az irodalmi hivatkozásokban közölt - sokszor egymásnak ellentmondó – eredmények indoklására, magyarázatára nem térek ki, hiszen ezt csak abban az esetben lehetne megtenni, ha az összes, vizsgálatra vonatkozó kísérleti körülmény és háttérinformáció a rendelkezésünkre állna. Másrésről kísérletsorozatok összehasonlítását nagymértékben megnehezíti, s így következtetések levonására nem ad lehetőséget az a tény, hogy a növények stresszre adott válaszreakciója számos külső és belső tényezőtől függ egyidejűleg. Ilyen külső környezeti körülmény például a hőmérséklet, páratartalom, napfénytartalom, megvilágítás stb., melyekre vonatkozó adatok nem minden esetben hozzáférhetőek. Ugyanakkor azt is figyelembe kell venni, hogy az egyed mely fejlődési állapotában, mely növényi szövetből történik az adott paraméter meghatározása. Egy adott mérési sorozaton belül (ugyanazon fajra és kísérleti körülményekre vonatkozólag) is adódhatnak eltérések a mért kémiai jelző anyagok értékeiben. Az eredmények szórását okozhatják az egyedi sajátságokból fakadó eltérések, az egyedfejlődési állapotok behatárolásának bizonytalansága, és az anyagcsere szöveten belüli inhomogenitása.

4.5.1 Hidegstressz hatására bekövetkező biokémiai változások

Közismert a hőmérséklet egyes életfolyamatok intenzitására gyakorolt hatása. Az optimális alkalmazkodási tartomány alatti hőmérséklet nagymértékben befolyásolja az anyagcserét, a növény életképességét, növekedését. Számos tolerancia mechanizmust feltételeznek, melyek a növény fagykárosodása során jelentkező fiziológiai és biokémiai változásokon alapulnak. Ezek a sérülések változásokat okoznak a membránok tulajdonságaiban, a tápanyag-diffúzióban, csökken a plazmalemmán keresztüli transzportban, a mitokondriális légzésben zavar lép fel, antioxidáns enzimrendszer aktiválódik. A mai álláspont szerint a hidegérzékeny egyedek károsodásánál a membránalkotó lipidek nagyobbik részében nem történik fázisátmenet (PRASAD *et al.*, 1994). Erős korrelációt mutattak ki a hidegérzékenység és a membránok telítetlen lipidtartalma között. Kéalgába lipidek telítetlenségéért felelős gént juttatva, a növény hideggel szembeni ellenálló-képessége jelentős mértékben megnőtt (WADA *et al.*, 1990).

Másrészről, a megvilágítással járó hidegstressz során dohány növényekben káros aktív oxigénformák képződését tapasztalták. Ennek következményeként az antioxidáns enzimrendszer egyes enzimeinél aktivitásnövekedést (aszorbát-peroxidáz, peroxidáz), míg másoknál (kataláz, szuperoxid-dizmutáz) csökkenést tapasztaltak (GECHEV *et al.*, 2003). Megvilágítás nélkül a hidegkezelés egyik enzim működését sem befolyásolta, szemben a csökkenő katalázal.

Uborka szikleveleiből 96 órás 5 °C-os hidegstresszre csökkent kataláz aktivitást és növekvő peroxid szintet tapasztaltak. A peroxidáz enzim aktivitása (0.83 U/perc) nem mutatott szignifikáns különbséget a kontroll növényekhez képest, ezzel szemben az IES-oxidáz aktivitása nőtt. A POD hidrogén-peroxid eltávolítási sebessége változatlan maradt a stressz folyamán. A növények normál hőmérsékletre való visszahelyezésével a peroxid szint is, valamint a kataláz enzim aktivitása is két napon belül az eredeti állapotra állt vissza (OMRAN, 1980).

LEE és LEE (2000) hidegstressznek kitett uborka növények leveleiből, hasonlóan az előzőekhez, csökkenő kataláz aktivitást, és megemelt peroxidáz, szuperoxid-dizmutáz, glutation-reduktáz (GR), aszorbát-peroxidáz-szintet (APX) tapasztaltak. Eredményeikből arra a következtetésre jutottak, hogy a kataláz deaktivációjával párhuzamosan a SOD/aszorbát-glutathion ciklus enzimek aktiválódtak. Az egyes enzimek különböző izoformái a stressz más-más időpontjaiban aktivizálódtak.

Eltérő hidegtűrő-képességgel rendelkező, különböző fejlettségi állapotú kukoricafajták esetében vizsgálva a hidegstressz hatását, egy nap elteltével a fagyérzékenyfajta (CO251) fejlődésével együtt a kataláz és glutathion-reduktáz enzimek aktivitása is nőtt. Hatleveles állapotban mindkét enzim nagyobb aktivitást mutatott, mint a fagyűrő fajta (CO255, CO304, CO308). Egyéb antioxidáns enzimek aktivitási értékeiben nem mutatkozott szignifikáns különbség a fagyérzékeny és fagyűrő fajta között (HODGES *et al.*, 1997).

Coffea arabica L. csemeték gyökérszövegeiben a 10 °C hőmérsékleten manifesztálódó hidegstressz 55 %-kal megemelt POD aktivitást és változatlan KAT és APX aktivitást eredményezett, a GR csökkenésével párhuzamosan (QUEIROZ *et al.*, 1998).

Török kutatók téli búza leveleiben vizsgálták antioxidáns enzimek (KAT, POD, PPO) aktivitásának szalicilsavas és hidegkezelés hatására bekövetkező változásait. A két kezelés együttes alkalmazásával a kontrollhoz képest csökkenő KAT, illetve növekvő POD, PPO aktivitást kaptak, míg a hidegkezeléssel összehasonlítva csökkenő KAT és POD aktivitásokkal egyidejűleg növekvő PPO aktivitást. Mindebből arra következtettek, hogy az exogén szalicilsavnak szerepe lehet a hidegtűrésben az apoplasztikus fehérjék és antioxidáns enzimek aktivitásának szabályozásán keresztül (TASGIN *et al.*, 2006).

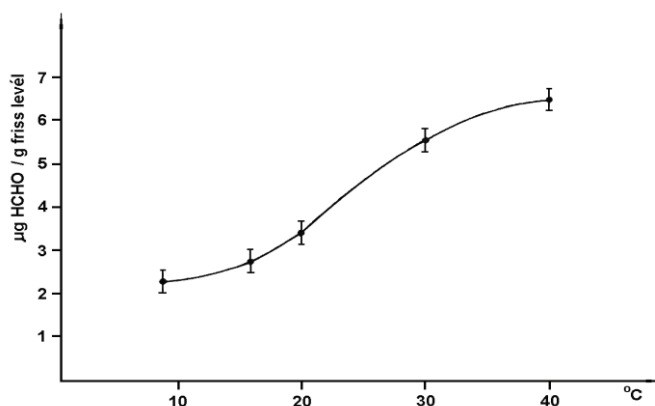
RIVERO *et al.* (2000) fenolos vegyületek felhalmozódását tanulmányozták hideg- és hőstressznek kitett paradicsom és dinnye növényeken. A 15 °C mindkét növényben növekvő totálfenol-tartalmat és fenilalanin-ammónia-liáz (PAL) aktivitást, valamint csökkent POD, PPO aktivitást okozott. Erős korrelációt kaptak a PAL aktivitás és az oldható fenolos vegyületek koncentrációja között (paradicsom: $R^2=0.812$; dinnye: $R^2=0.91$). Ez a növényekben lévő fenolos vegyületek akkumulációjára enged következtetni a különböző stresszeseményekre reagálva, ami a PAL aktiválódásának következménye. A két fenolos vegyületek oxidálásában közreműködő enzim és az oldható fenolos vegyületek koncentrációja között erős negatív korrelációt állapítottak meg mindkét növényfajra vonatkozóan.

Elmondható tehát, hogy a növények eltérő antioxidáns kapacitásától is függ, hogy a hidegstressz során milyen mértékű károsodást szenvednek, vagy éppen alkalmazkodnak. Az egyes fajok hideg-ellenállósága a genetikai sajátságokon túl nagymértékben függ a növény fejlettségi állapotától, az anyagcsere aktivitásszintjétől. Bizonyos körülmények hozzájárulhatnak a hideggel szembeni érzékenység fokozódásához. Aktív állapotban, a fejlődés kezdeti szakaszában, nappal, erős fényben, szárazságstressz körülményei között,

bizonyos tápanyagok hiánya esetén (pl. kálium) a növények érzékenyebbek a hideggel szemben (LÁNG, 2002). Egyes feltételezések szerint a membrán-összetételbeli különbség is lehet az egyik oka a hidegérzékenységben tapasztalható eltérő eredményeknek.

Csertölgy makk endogén formaldehidtartalma hidegsokk (-20 °C) hatására a biotikus stressz alarm fázisához hasonlóan, de ellentétes kitéréssel oszcillál, majd néhány nap múlva a rezisztencia tartományban a kiindulásinál magasabb értéken állandósul. Mivel stressz hatására felborul a növények endogén formaldehid ciklusát vezérlő demetiláz és metiláz enzimek működésének összhangja, a metil-donorok és akceptorok koncentrációjának változása az endogén formaldehidtartalom periodikus ingadozását eredményezi (NÉMETH *et al.*, 1998).

Bablevelekben a külső hőmérséklet változása és az endogén formaldehidtartalom között erős korrelációt állapítottak meg (TYIHÁK, 1989). A hőmérsékletváltozás hatását a 19. ábra szemlélteti.



19. ábra Hőmérsékletváltozás hatása a bab (*Phaseolus vulgaris* L.) leveleinek endogén formaldehidtartalmára.

4.5.2 Fényhiánystressz hatására bekövetkező biokémiai változások

A természetes ökoszisztémában a növények termőhelyüktől függően a legkülönbözőbb fényviszonyok közt élnek. Morfológiai, fiziológiai változásokkal képesek alkalmazkodni az állandó, nagy, valamint a változó, alacsony fényintenzitáshoz is (fénynövények – árnyéknövények). Különösen szükséges ez az erdőállományokban, ahol a fafajok különböző lombkoronaszintekben elfoglalt helye nagymértékben meghatározza a kapott fény mennyiséget.

A növényeket akkor éri a fényviszonyokból adóan stresszhatás, ha aktuális adaptáltsági állapotukhoz képest túl sok vagy túl kevés fény éri őket. Túl alacsony fényintenzitás esetén erősen lecsökken a fénybegyűjtés lehetősége és ezáltal a szén-dioxid fixációjához szükséges faktorok termelődése is, ami számos szintetikus folyamat gátlását eredményezi (LÁNG, 2002).

A fényigényes növények és a fénylevelek fénystresszel szembeni toleranciája nagyobb, mint az árnyéknövényeké és az árnyékleveleké (LICHTENTHALER, 1996).

Az abiotikus stresszek szerepet játszanak a programozott sejthalál szabályozásában. Fényen tenyésztett *Datura innoxia* Mill. kallusz kultúrák apoptotikus indexe jelentősen alacsonyabb a sötétben tenyésztett kultúrákhoz képest (LÁSZLÓ *et al.*, 2001).

A növényeket egyszerre többfajta stresszhatás is érheti. Ezek gyakran szinergisták, azaz erősítik egymást (pl.: alacsony hőmérséklet – nagy fényintenzitás). A stresszorok antagonista módon is kölcsönhatásba lépnek egymással, ilyenkor az egyik stresszor csökkenti a másik károsító hatását (pl.: hidegstressz – szárazságstressz, fényhiány – szárazság: a fényhiányban élő növény fotoszintézise kevésbé érzékeny a szárazságra, mint a magas fényintenzitáson élő növényé) (LÁNG, 2002).

Sötétben tenyésztett *Datura innoxia* Mill. kallusz kultúrák endogén formaldehidtartalma szignifikánsan alacsonyabb a fényen tenyésztett kultúrákéhoz képest, ugyanakkor jelenős növekedésbeni eltérést nem tapasztaltak. Sötétben a négy hetes kultúrák endogén formaldehidtartalma dimedonos kezelés hatására ugrásszerűen megnőtt. A dimedon mint formaldehid-befogó molekula befolyásolja a kallusz kultúrák növekedését, anyagcseréjét (LÁSZLÓ *et al.*, 1998, 2001).

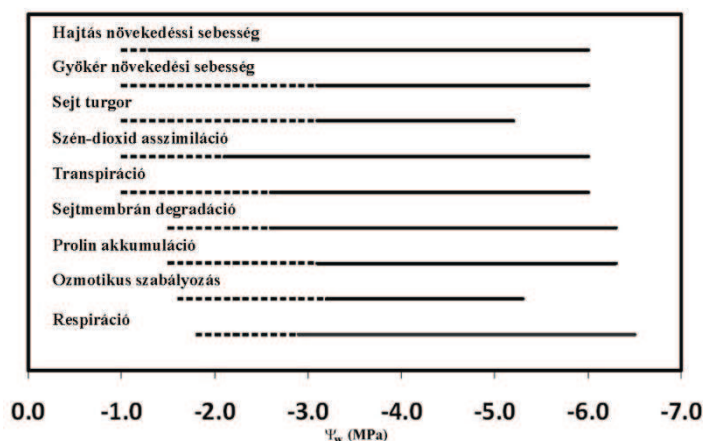
4.5.3 Szárazságstressz hatására bekövetkező biokémiai változások

Különböző körülmények járulhatnak hozzá a növények szárazságstressz alatti állapotának kialakulásához, mint például, a nem megfelelő termodinamikai állapotú víz hiánya, a száraz talaj, az erős párologtatás, vagy a fagy stb. A vízhiányos állapot legfontosabb velejárója a vízpotenciál csökkenése, aminek hatására bizonyos élettani folyamatok indulnak be, és változnak meg. A sejtek megnyúlásos növekedése, sejtfalképződése lelassul, megváltozik a sejtek ultrastruktúrája, a sztómazáródás következtében a fotoszintézis gátolt, előtérbe kerül a fotorespiráció. Megnövelt fényintenzitás a hatást fokozza, a kialakuló fénygátlás során fokozódik a szabadgyök-termelődés. Megváltozik a szénhidrát anyagcsere, a légzés, valamint a növény nitrogén-körforgalma, ami fehérjetartalom csökkenéssel jár. A növények a szárazság elkerülésével, vagy eltűrésével képesek mindezen káros hatások kiküszöbölésére. Az első csoportba tartozó évelő növények gyors magérleléssel és csírázással, jó vízraktározó tulajdonsággal rendelkező gyökérrendszerrel, vagy nyugalmi állapottal kompenzálják a szárazságstresszt (LÁNG, 2002).

A tradicionális és modern gyógyításban is használt, Indiában honos dísnövényt (*Cantharantus roseus*) vízhiánystressznek kitéve, az enzimatis és nem enzimatis antioxidánsok aktivitását, illetve mennyiségét vizsgálták a növény különböző szöveteiben. Az aszkorbinsav, alfa-tokoferol és redukált glutation koncentrációi, valamint a SOD, APX, KAT, POD és PPO enzimek aktivitása a stressz alatt az összes szövetben magas volt (JALEEL *et al.*, 2007).

Indiai kutatók tehénborsó (*Vigna unguiculata* L.) gyökér-, hajtás-, valamint levélszöveteinek szárazság vizsgálata során, antioxidáns-tartalmat és enzimaktivitásokat illetően, ugyanilyen eredményeket kaptak (MANIVANNAN, 2007).

SOFO *et al.* (2005, 2007) két éves oliva fákat (*Olea europaea* L.) magas hőmérsékleten és sugárzási szinten neveltek, és folyamatosan ellenőrzött vízhiánynak tettek ki. A stressz a kiszáradás mértékével emelkedő SOD, APX, KAT és POD aktivitások mellett, csökkent PPO aktivitást eredményezett mind levél-, mind gyökérszövetekben. A 20. ábrán a szárazságstressz oliva fa élettani folyamataira gyakorolt hatásait láthatjuk.

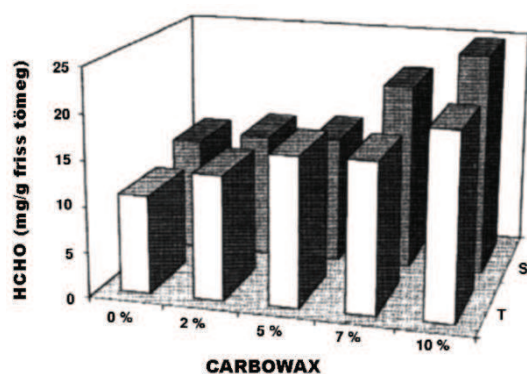


20. ábra A szárazságstressz hatása oliva fa élettani folyamataira a csökkenő levél vízpotenciálja függvényében.

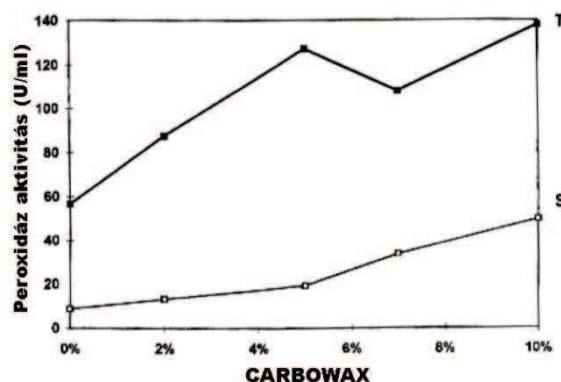
FAZELI *et al.* (2007) szárazságstressznek kitett szezám fajtákat (*Sesamum indicum* L. cvs. Darab14 és Yekta) vizsgálva levelekben és gyökérben egyaránt növekvő enzimaktivitási értékeket kaptak (SOD, POD, KAT, PPO) csökkenő összfehérje-tartalommal egyidejűleg. A Yekta fajta szárazságtűrőbbnek bizonyult a szövetekben mért alacsonyabb malonaldehid-tartalomnak megfelelő kisebb lipidperoxidációs-szint, és a magasabb enzimaktivitási értékek miatt.

Gabonanövényekben szárazságstressz hatására 15.5 %-os fenoloidtartalom növekedést figyeltek meg. Bizonyították az etanol-amin rezisztencia-fokozó hatását, a stressznek kitett növényeket etanol-aminnal kezelve a fenoloidok mennyisége 61 %-ra, a POD aktivitása, pedig 88 %-kal emelkedett (BERGMANN *et al.*, 1999).

Magyar kutatók mesterségesen indukált szárazság (Carbowax kezelés) hatását tanulmányozták szárazságtűrő és szárazságra érzékeny bab növényeken. Eredményeikben növekvő peroxidáz aktivitást és endogén formaldehidtartalmat kaptak mindkét fajta esetében, s a teljes POD és néhány izoenzim aktivitása jó korrelációt mutatott az endogén formaldehidtartalommal (21. és 22. ábra) (STEFANOVITS-BÁNYAI *et al.*, 1998).



21. ábra Szárazságtűrő és szárazságra érzékeny bab endogén formaldehidtartalma.



22. ábra Szárazságtűrő és szárazságra érzékeny bab POD aktivitása.

KUTATÁSI CÉLOK

A tölgymakk tárolásával és csírázási folyamatainak vizsgálatával a Nyugat-magyarországi Egyetem Erdőművelés Tanszéke 1993 óta foglalkozik. Eredményeiből egyértelművé vált, hogy a tématerület kutatásához komplex biológiai, biokémiai ismeretekre van szükség. Ez indokolta az Egyetem Kémiai Intézetének és Erdőművelés Tanszékének közreműködését e kutatási irányvonalon. Ennek a program képezi részét a Ph. D. dolgozatom témaköre is.

A kocsányos tölgy csak 8-10 évenként hoz bő termést, ebből fakadóan rendkívül fontos megoldandó feladat, a makkok minél hosszabb távú, csíra- és életképességének megőrzésével járó tárolása.

Kulcsfontosságú a növény és környezete közötti kölcsönhatások megértése, az életfolyamatok, törvényszerűségek tanulmányozása, valamint annak nyomon követése, hogy a növény hogyan reagál a megváltozott környezeti feltételekre. Ehhez ismerni kell, hogy az adott termőhelyen a környezeti paraméterek hirtelen változásából eredő stresszhatások, milyen válaszokat indukálnak az egyes növényfajokból.

A növények környezeti stresszhatásra kétféle módon reagálhatnak attól függően, hogy fejlődésük mely szakaszában, milyen erősségű és időtartamú hatás éri őket. Reverzibilis stresszfolyamatokon mehetnek keresztül, melyek során alkalmazkodóképességük erősödik, vagy a stresszhatás erősségétől függően bekövetkezhet irreverzibilis átalakulás is, mely a növények pusztulását okozhatja.

Természetes körülmények között a csírázást, a növény fejlődését, az ontogenezis kezdeti szakaszában számtalan környezeti tényező együttes hatása befolyásolja, úgymint hőmérséklet-ingadozás, vízellátás, a talaj tápanyagtartalma, fénymennyiség, páratartalom, légmozgás, s egyéb biotikus és abiotikus stresszhatások. Feladatunk a lehetséges stresszorok és hatásaik figyelembevételével a termőhelyi adottságoknak legmegfeleleőbb, a környezeti paraméterekhez leginkább alkalmazkodni képes fajok kiválasztása, továbbá a növények élet-, alkalmazkodó-, stressztűrő-, és termőképességének fokozása. Az egyedfejlődés, tárolás, valamint a stressz hatásának vizsgálatához olyan fizikai és kémiai indikátorokat alkalmaztam, melyek szakirodalmi adatok alapján stresszérzékeny paramétereknek bizonyultak.

Kutatási célkitűzések:

1. Az ontogenezis jellemzése sziklevek relatív tömeg-sűrűség értékeivel.
2. A tárolt makkot érő hidegsokk, mint lehetséges környezeti stresszhatás modellezése endogén formaldehidtartalom, fenoloidtartalom, és kataláz aktivitás alapján.
3. A kocsányos tölgy (*Quercus robur* L.) korai egyedfejlődési szakaszában az egyes szöveti struktúrák - sziklevel, gyökér, levelek – endogén formaldehid-, illetve összfenoloid-tartalmának meghatározása.
4. Az oxidoreduktáz enzimek közül a kataláz, peroxidáz és polifenol-oxidáz enzimek szerepének vizsgálata a növény fejlődésének különböző periódusaiban.
5. Az általam alkalmazott tárolási technika makkok élettani folyamataira gyakorolt hatásának vizsgálata, a választott szignál molekulákon, ill. paramétereken keresztül.
6. Az ontogenezis és tárolás jellemzése enzimkorrelációs vizsgálatokkal.
7. Hatleveles állapotú kocsányos tölgy csemeték hideg-, fényhiány- és szárazságstressz hatására bekövetkező stresszválaszainak tanulmányozása a levelek endogén formaldehid-, valamint összfenoloid-tartalmának változása alapján.
8. A különböző környezeti hatásokra bekövetkező enzimaktivitásbeli módosulások feltérképezése kataláz, peroxidáz és polifenol-oxidáz enzimek segítségével.
9. Az egyes stresszesemények jellemzése enzimkorrelációval.

II. KÍSÉRLETI RÉSZ

5. MINTA, ANYAG ÉS MÓDSZER

5.1 Kísérlettervezési szempontok

NÉMETH *et al.* (2002, 2004) csíráztatási kísérleteikben lineáris függvénykapcsolatot állapítottak meg a makk tömege és sűrűsége között. Bizonyították, hogy a makk egyedfejlődésére mérettől független, fajlagos vízfelvétel jellemző. A tömegnövekedés és a sűrűségcsökkenés lineáris korrelációjából arra a következtetésre jutottak, hogy az egységnyi relatív tömegnövekedésre eső sűrűségcsökkenés a csírázó csertölgy makk általános biológiai sajátossága. Megállapították, hogy a csertölgy makk csírázását kísérő fizikai tulajdonságok determinisztikus változása a biológiai rendszer lényegéből fakad. Ezek alapján az egyedfejlődési állapotokat relatív tömeg - nyugalmi állapothoz viszonyított tömeg - és sűrűség értékekkel definiálták. A csírázási állapotot értékeik egyértelműen jellemezték. Az azonos fejlődési állapotú makk-egyedek kiválaszthatók voltak a csírázó makk tömege és sűrűsége alapján tervezett mintavétellel. Így a csíráztatási kísérletek egymással statisztikailag összevethetőkké váltak.

Vizsgálataim során tehát, tömeg és sűrűség alapján válogatott makkot használtam fel csíráztatásra, mind az egyedfejlődési, mind a stresszvizsgálatok során. A mintavétel tehát irányítottan történt.

5.2 Csíráztatási, csemetenevelési körülmények

A vizsgálataim tárgyát képező kocsányos tölgy termőszajátságaiából fakadóan, a maktételt 2004-ben a Délalföldi Erdészeti Zrt. Gyulai Erdészetéből, 2005-ben és 2006-ban pedig a Kisalföldi Erdőgazdaság Zrt. Rábaközi Erdészetének vitnyédi csemetekertjéből szereztük be.

A magokat tiszta, hideg vízben megúszattuk, hogy szétválasszuk a sérült, léha szemeket az egészségesektől. Ezt követően elvégeztük a gomba elleni kezelést (DITHANE M 45: 0,5 % és Chinoin Fundazol: 0,1 %), majd a makkot mostuk és hámoztuk. Csak ép terméshéjjal rendelkező, penészmentes egyedeket választottunk csíráztatásra, csökkentve a fertőzött, esetlegesen biológiai stresszhatás alatti, illetve életképtelen makk csírázási százalékrontó hatását. A csemeteneveléshez a magvak tömegét és sűrűségét Scaltec gyártmányú, SBC 21 típusú analitikai mérleggel határoztuk meg. Az azonos sűrűségű makkokat (1 % eltérés) 300 ml térfogatú, 100 °C-on két óráig sterilizált P1 perlitágyba egyenként 15 x 15 mm-es hálózathoz helyeztünk el. Az egyenletes vízellátást heti két alkalommal, desztillált vízzel biztosítottuk. A csíráztatás laboratóriumi körülmények között, 20-22 °C-on, normál szobahőmérsékleten, természetes fény mellett történt. Az egyedek nevelése alatt a csemetéket külön táp- és sóoldattal nem kezeltük (1. sz. melléklet/1. ábra).

5.2.1 Egyedfejlődés vizsgálata

Az ontogenezis korai szakaszaira tervezett vizsgálatokhoz elengedhetetlenül szükséges volt az egyedfejlődési állapotok reprodukálható és pontos rögzítése. Fejlődési állapotoknak a csíranövény morfogenezisének fázisait, új szöveti struktúráinak kialakulását (gyököcske, rügyecske, kifejlett karógyökér megjelenése, csúcs- és oldal levelek kifejlődése) választottam.

Nyugalmi állapotú makknak a friss (úsztatott, csávázott és mosott), meghámozott, és tömeg, sűrűség alapján válogatott magvat tekintettem.

A gyököcske megjelenéséig tartó, duzzadási állapotnak (imbibiciónak) nevezett csírázási szakaszban az egyedfejlődés nyomon követését a magvak tömegeloszlása és a morfológiai változások hiánya megnehezíti, ezért a duzzadási állapot jellemzésére 4 napig, kb. 10-15 % tömegnövekedésig csíráztatott, azonos tömegű és sűrűségű makkot válogattam.

Következő egyedfejlődési állapotnak a gyököcske megjelenését választottam. A makkokat ezt követően 0.5 literes csíráztató tölcserekbe, Florasca B típusú földbe ültettük át és melegházi körülmények között neveltük tovább (13 °C hőmérséklet, 970 hPa légköri nyomás, és 75 % relatív páratartalom). Ezt követően a rügyecske kifejlődését tekintettem a soron következő mintázandó stádiumnak (1. sz. melléklet/2. ábra).

A gyökeres állapot vizsgálatára próbaméréseket végeztünk, a megfelelő méretű gyökérrel rendelkező fejlődési stádium kiválasztásához. Leveles állapot jellemzésére a hatleveles csemetéket vizsgáltam. A mintavételi időpontokat a 9. táblázat foglalja össze.

9. táblázat Az egyedfejlődési állapotok mintavételi időpontjai.

Egyedfejlődés	Időpont
Válogatás	2004. december 2.
Nyugalmi	2004. december 3.
Duzzadási	2004. december 6.
Gyököcske	2004. december 9.
Rügyecske	2005. január 6.
Gyökeres	2005. január 12.
Leveles	2005. február 3.

5.2.2 Tárolási vizsgálatok

Az általam alkalmazott raktározási módszer során, a magvakban lezajló fiziológiai és biokémiai folyamatok tanulmányozására, 1 ± 1 °C-on, 80-90 % relatív páratartalom mellett, hűtőben tárolt, csávázott kocsányos tölgy makkot vizsgáltam 2004 decemberétől – 2005 áprilisáig tartó időszakban. A páratartalmat naponta hűtőbe helyezett 0.5 liter forróvíz behelyezésével biztosítottuk, folyamatosan ellenőrizve a hőmérsékletet. A makkotételt lyukacsos kosárban, szűrőpapíron tároltuk, a lecsapódó pára megkötése érdekében, a papírokat hetente cserélve. A mintavételnél ép héjjú, csíramentes magokat pucoltunk és analizáltunk. A 10. táblázatban a tárolási vizsgálatok mintázási időpontjai láthatók.

10. táblázat A tárolási vizsgálatok mintavételi időpontjai.

Tárolás	Időpont
1.	2004. december 3.
2.	2005. január 17.
3.	2005. február 21.
4.	2005. április 12.

5.2.3 Stresszvizsgálatok

A stresszvizsgálatok közül a hideg, a fényhiány és a szárazság laborkörülmények között legkönnyebben modellezhető abiotikus stresszhatások közé tartoznak, melyek a növények életében leggyakrabban előfordulhatnak, és a kocsányos tölgy egyedfejlődésének korai szakaszában is dominánsak lehetnek. Ebben az egyedfejlődési állapotban a növények sokkal érzékenyebben reagálnak a hőmérséklet, a fénymennyiség, és a vízellátottság csökkenésére.

Abiotikus stresszvizsgálataimhoz a fentebb említett körülmények mellett tárolt magvakat előzetes válogatás után félig perlitbe ágyazva csíráztattam, a gyököcske megjelenéséig, s ezután különböző időtartamú (0-10 ó) hidegstressz-hatásnak tettem ki.

Hatleveles állapotú csemeték stresszre adott válaszreakcióinak tanulmányozásához, tömeg, sűrűség alapján válogatott makkokat 0.5 literes poharakba, Florasca B típusú földbe ültettünk a későbbi stresszvizsgálatok könnyebb kivitelezhetősége érdekében, s a csemetéket szintén melegebb körülmények között neveltük a megfelelő morfológiai fejlettségi állapot eléréséig (1. sz. melléklet/3. ábra). A mérési időpontok a 11. táblázatban találhatók.

11. táblázat Stresszvizsgálatok időpontjai.

	2005	2006	2007
Tölgymakk			
Hidegstressz	ápr.28.-30.		
Tölgycsemete			
Kontroll	jan. 30.	ápr. 26.	márc.22.
Hidegstressz	jan. 30.	máj.3.	márc.22.
Fényhiánystressz	jan.31.	máj.8.	márc.23.
Szárazságstressz			ápr.20.-máj.3.
Kontroll			márc.22.
I.			ápr.20.
II.			ápr.26.
III.			máj.3.

5.3 A meghatározott fizikai és kémiai paraméterek

A kocsányos tölgy korai ontogenezisének élettani folyamatait az első négy egyedfejlődési állapotban sziklevélből, gyökeres állapotban sziklevélből és gyökérből, míg hatleveles stádiumban sziklevel-, gyöker- és levélszövetekből mért fizikai és kémiai paraméterek segítségével követtem nyomon. A tárolási vizsgálatokat havi mintavételezéssel sziklevélszövetekből végeztem el, ugyanazon komponensek mennyiségi változása alapján. A hidegstressz fiziológias és élettani hatásait csírázó makk sziklevélszövetéből, illetve hatleveles állapotú kocsányos tölgy csemeték leveléből tanulmányoztam. A fényhiány- és szárazságstresszt ugyancsak hatleveles állapotú csemetéken vizsgáltam. A mérések idejét és a meghatározott fizikai és kémiai paramétereket a 12. táblázat foglalja össze.

12. táblázat A vizsgálatok ideje és a meghatározott fizikai és kémiai paraméterek.

Elvégzett vizsgálatok / Vizsgálatok ideje	2004. dec. - 2005. ápr.	2005. dec. - 2006. ápr.	2006. dec. - 2007. ápr.
	Meghatározott fizikai és kémiai paraméterek		
I. Egyedfejlődés tanulmányozása	relatív tömeg-sűrűség, HCHO, Összfenol, KAT, POD, PPO		
II. Tárolási vizsgálatok	tömeg-sűrűség, HCHO, Összfenol, KAT, POD, PPO		
III. Stresszvizsgálatok	relatív tömeg-sűrűség, HCHO, Összfenol,		
a. makk	KAT		
1. Hidegstressz	HCHO, Összfenol, KAT, POD, PPO	HCHO, Összfenol, KAT, POD, PPO	HCHO, Összfenol, KAT, POD, PPO
b. csemete	HCHO, Összfenol, KAT, POD, PPO	HCHO, Összfenol, KAT, POD, PPO	HCHO, Összfenol, KAT, POD, PPO
2. Fényhiánystressz - csemete	HCHO, Összfenol, KAT, POD, PPO	HCHO, Összfenol, KAT, POD, PPO	HCHO, Összfenol, KAT, POD, PPO
3. Szárazságstressz - csemete			HCHO, Összfenol, KAT, POD, PPO

5.4 Mintaelőkészítés, extrakció, anyag, eszköz és vizsgálati módszer

Az egyes növényi részekből meghatározott kémiai és fizikai paraméterek a következők voltak:

- makk tömege és sűrűsége,
- endogén formaldehidtartalom,
- fenoloidtartalom,
- kataláz enzim aktivitása (KAT),
- peroxidáz enzim aktivitása (POD),
- polifenol-oxidáz enzim aktivitása (PPO),
- összfehérje-tartalom az enzim aktivitások számításához.

Az analizált növényi részek:

- makk sziklevelszövetéből készített átlagminta,
- csemete növény szikleveléből készített átlagminta, teljes gyökérzet és levél.

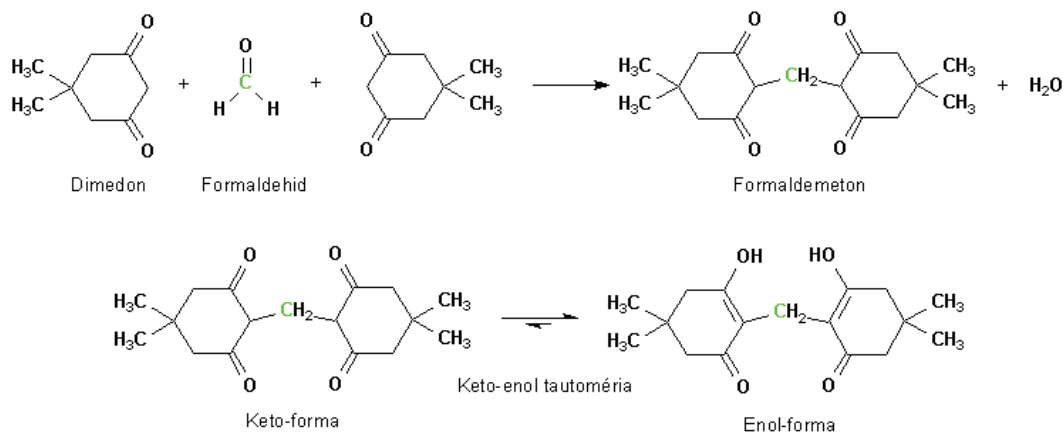
A mintaelőkészítés sziklevelek és gyökér esetében folyékony nitrogénnel történt, a levélszöveteket a levelek tömegével megegyező mennyiségű kvarchomokkal dörzsöltem el.

5.4.1 A makk tömegének és sűrűségének meghatározása

A kocsányos tölgy makkok mosása és a tapadónedvesség letörlése után, tömegüket, Scaltec SBA 21 típusú analitikai mérleggel határoztam meg. A sűrűségüket a mérleghez csatlakoztatható sűrűségmérő-feltéttel meghatározott felhajtóerőből és a makk tömegéből származtattam.

5.4.2 Az endogén formaldehidtartalom meghatározása

Az endogén formaldehidtartalom meghatározásához a dimedon (5,5-dimetil-ciklohexán-1,3-dion) formaldehid generátorokkal végbemenő reakcióját alkalmaztuk. A dimedon a generátorokkal - a formaldehiddel *in vitro* lejátszódó reakciójában is keletkező - addukt származékot, formaldemetont (1,1',3,3'-tetraketo-5,5',5'-tetrametil-2,2'-diciklo-hexil-metán) képez (23. ábra). A dimedonos minta-előkészítés után a formaldemeton analízisével határozható meg a mennyiségével arányos endogén formaldehidtartalom.



23. ábra A dimedon és a formaldehid reakciója és a képződő formaldemeton keto-enol tautomériája.

Extrakció

Az extrakciónál oldószerként víz helyett metanolt alkalmaznak, mivel a formaldehidet vízben rosszul, metanolban viszont jól oldódik. A reakció során keletkező formaldehidet oldatban marad. A várható endogén formaldehidtartalom fogja meghatározni az extrahálószer dimedon tartalmát. Fontos mintakészítési szabály, hogy a 0.7-1 ml metanol 30-40-szer nagyobb anyagmennyiségben tartalmazzon dimedont, mint a 0.25 g tömegű biológiai minta. Ebben az esetben a mintaelőkészítési reakcióban a dimedontartalomnak csak az endogén formaldehiddel ekvivalens mennyiségű kis hányada (kb. 10 %) képez formaldehidet. A kismértékű dimedon koncentráció csökkenés elhanyagolható mértékben befolyásolja a mintakészítési reakció sebességét, amelyet így a koncentrációk szempontjából döntően csak az endogén formaldehidtartalom határoz meg. (A dimedon koncentráció függvényében a reakció rendje megközelítőleg közel zérusrendűvé és sebessége maximálissá válik.) Átlagos endogén formaldehidtartalomra tervezve a minta-előkészítést, az ismertett szempontok alapján 0.25 g tömegű csíranövény mintát (sziklevél-, illetve gyökérszövet), illetve 0.5 g kvarchomokkal egyenlő tömegarányban eldörzsölt levélszövetet 0.7 ml térfogatú, 0.01 %-os dimedonos metanol oldattal egy hétig szobahőmérsékleten extraháltam eppendorf-csőben.

Mérési módszer

A meghatározás előtt a mintákat 10 percig (16000 fordulat/s) centrifugáltam, majd az endogén formaldehidtartalommal arányos formaldehidet analízisére fordított fázisú nagy nyomású folyadékkromatográfiát (RP-HPLC) alkalmaztam (NÉMETH, 2002). A mérést 2.62-es pH-jú savas eluenssel (77 % metanol – 23 % 0,01 M sósav) 260 nm hullámhosszon végeztem el. A kromatogram felvételi ideje 7 perc volt. A jelfeldolgozást kromatográfiás szoftverrel (NÉMETH, 2002) standard vegyület segítségével, retenciós idő és spektrumkép alapján készítettem el. A retenciós idő ~ 4.33 perc volt. A csúcs azonosítása egyértelmű volt, mivel az elválasztás a formaldehidre nézve szelektív, a kromatogramban a detektálás hullámhosszán a mátrix komponensek a holt térfogathoz közel eluálódnak. A mennyiségi kiértékelés a csúcs lehatárolása, csúcsterület meghatározása alapján történt. Mintánként három párhuzamos mérést végeztem. Az eredményeket minden szöveti struktúra esetében nedves tömegre vonatkoztatva adtam meg.

Eszközök, műszerek

Automata pipetták, Scaltec SBA 21 típusú analitikai mérleg, Hettich EBA 21 centrifuga, HPLC: Gradiens pumpa (Gynkotek M 480, Germering, Németország), Injektor (Rheodyne 8125) + 20 µl mintabemérő hurok (Kalifornia, USA), Kromatográfiás oszlop (fordított fázisú, C8, C18 állófázis), UV-detektor (TOSOH TSK 6040, Kyoto, Japán), 2102 ADDA konverter (Elektroflex GM, Szeged)

Vegyszerek és fogyóeszközök

Folyékony nitrogén (Messer Hungarogáz Kft., Győr), dimedon (Sigma, Budapest), kvarchomok (Reanal, Budapest), sósav (Reanal, Budapest), HPLC-s metanol (Reanal, Budapest), desztillált víz (Millipore Elix 10 készülék). A felhasznált vegyszerek analitikai tisztaságúak voltak.

5.4.3 A fenoloidtartalom meghatározása

A fenoltartalmat SINGLETON és ROSSI (1965) által leírt fotometriás módon, Folin-Ciocalteu reagens segítségével határoztam meg, mely eljárás alapelve, hogy a reagens a

fenolok –OH csoportjával kék színű komplexet képez, s az oldat abszorbanciája arányos az extraktum fenoloidtartalmával.

Extrakció

Az extrakcióhoz 0.2 g növényi mintát (sziklevél, gyökér), valamint 0.4 g kvarchomokkal egyenlő tömegarányban eldörzsölt levélszövetet 10 ml 80 %-os vizes metanollal fél óráig lefedve extraháltam, folyamatos mágneses kevertetéssel. Az extraktumokat Whatman GF/A (ø25 mm) üvegszálás szűrőpapíron szűrtem át, és analíziséig hűtőben tároltam (5 °C).

Mérési módszer

A szűrlet fényelnyelését 760 nm hullámhosszon határoztam meg, mintánként három párhuzamos méréssel. Standardként kvercetint használtam, minden mérési sorozat esetén elvégezve a kalibrációt. Az eredményeket nedves tömegre vonatkoztatva adtam meg.

Eszközök

Analitikai mérleg (Scaltec SBA 21), spektrofotométer (HITACHI U-1500), Varimag Poly15 típusú mágneses keverő, automata pipetták.

Vegyszerek és fogyóeszközök

Azonos falú kémcsövek (egységes hőátadás miatt), Whatman GF/A üvegszálás szűrőpapír (ø25 mm) (Sigma, Budapest), metanol (Reanal, Budapest), kvercetin-dihidrát (Carl Roth GmbH, Karlsruhe, Németország), desztillált víz (Millipore Elix 10 készülék). A felhasznált vegyszerek analitikai tisztaságúak voltak.

5.4.4 A kataláz enzim ativitásának meghatározása

A kataláz enzim aktivitása az egységnyi tömegű növényi szövet által egységnyi idő alatt fejlesztett oxigén gáz anyagmennyiségével jellemezhető. A meghatározást Frenyó-féle gázvolumetriás mérőedény segítségével végeztem el (BOTZ *et al.*, 1995).

Mintaelőkészítés

A sziklevél köldökfelöli oldalának felső harmadából egy-egy, a kb. 20 cm-es főgyökér felső részéből kettő, a levélből, pedig tizenkét korongot vágtam ki üvegcső segítségével, tömegüket meghatároztam (~0.01 g) és 1.50 ml 3 %-os hidrogén-peroxiddal jelig töltve a korongokkal teli Frenyó-féle gázvolumetriás mérőedényt, majd a mintát hidrogén-peroxiddal érintkezésbe hozva, stopperrel mértem az adott térfogatú oxigén gáz fejlődéséhez szükséges időt.

Eszközök

Frenyó-féle gázvolumetriás mérőedény (recipiens), kalibrált üvegcső, analitikai mérleg (Scaltec SBA 21), stopper.

Vegyszerek és fogyóeszközök

Hidrogén-peroxid (Reanal, Budapest), desztillált víz (Millipore Elix 10 készülék).

5.4.5 A peroxidáz és polifenol-oxidáz enzimek ativitásának meghatározása

A mérés alapjául SHANNON *et al.* (1966) fotometriás mérési módszere szolgált. Az enzimaktivitás pH függésének meghatározásához szükséges optimális pH-t 5.0 és 6.5 közötti tartományban határoztam meg. Az eredmények alapján az extrakciót és az aktivitások mérését

sziklevél- és gyökérszövetek esetében az 5.5-es, levélszövetnél, pedig a 6.0-os pH értékű pufferrel végeztem.

Extrakció

Az extrakcióhoz sziklevél és gyökér esetében 0.6 g, míg levélszövetek esetében 1.2 g kvarchomokkal azonos tömegarányban eldörzsölt növényi mintát extraháltam 20 percig mágneses keverőn 15 ml 5.5, illetve 6.0 pH-jú foszfát-pufferrel centrifugacsővekben. Majd 10 perc 6000/perc fordulatszámon történő centrifugálás után a felülúszót leszívtam és azonnal, vagy legkésőbb másnap meghatároztam az enzimaktivitásokat.

Mérési módszer

Az enzimaktivitások meghatározását az extrakciónál alkalmazott pH értékű pufferrel végeztem, mintánként három párhuzamos méréssel. A mérési eredményeket összefehérje-tartalomra vonatkoztatva adtam meg.

POD aktivitás mérése

Szubsztrátumként 0.01 g/ml koncentrációjú metanolban oldott 3,3'-diaminobenzidint (20 µl), és 30 µl 0.3 %-os hidrogén-peroxidot alkalmaztam. A puffer 1700 µl $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ volt, a minta, pedig 5-30 µl. Az abszorbanciát 480 nm hullámhosszon határoztam meg. Egy Unit az 0.01 $\Delta\text{A}/\text{perc}$.

PPO aktivitás mérése

A polifenol-oxidáz aktivitások közül a katekoláz aktivitását mértem kísérleteink során, mely enzim az o-difenolok oxidációját katalizálja o-kinonokká. Szubsztrátumként 0.2 M-os pirokatechin oldatot alkalmaztam a megfelelő pH-jú pufferben feloldva (1000 µl), a puffer szintén $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ volt 1000-1250 µl mennyiségben, az extraktum mennyisége, pedig 250-500 µl volt. Az abszorbanciát 420 nm hullámhosszon mértem. Egy Unit-nak 0.001 $\Delta\text{A}/\text{perc}$ -et vettem.

Fehérjetartalom meghatározása

Ehhez a méréshez a fotometriás BRADFORD módszert használtam (BRADFORD, 1976), melyhez 0.05 g Coomassie Brilliant Blue G-250 reagenst 25 ml 95 %-os etanolban, valamint 50 ml 85 %-os foszforsavban oldottam fel, és desztillált vízzel 500 ml végtérfogatra egészítettem ki. Az így elkészített színezéket többször átszűrtem Whatman GF/A üvegszálás szűrőpapíron az oldat barnás-zöld színéig. A meghatározáshoz 2400 µl reagenst elegyítettem 300 µl foszfát pufferrel és 300 µl extrahált mintával. A mérést 595 nm-en üveg küvettában, a homogenizálást követően indítottam és az abszorbancia értékeket 5 perc után olvastam le. Standartként 92 %-os Bovine Serum Albumin-t (BSA) alkalmaztam. A kiértékelést ThreeKey 1.0 szoftverrel történt (HOFMANN, 2006).

Eszközök

Variomag Poly15 mágneses keverő, Hettich EBA 21 centrifuga, Hitachi U-1500 spektrofotométer.

Vegyszerek és fogyóeszközök

Pirokatechin, kálium-dihidrogén-foszfát, dinátrium-hidrogén-foszfát, Coomassie Brilliant Blue G-250, absz. etanol, metanol, foszforsav (Reanal, Budapest), hidrogén-peroxid, 92 %-os BSA, 3,3'-diaminobenzidin, Whatman GF/A üvegszálás papírszűrő (Sigma, Budapest). A felhasznált vegyszerek analitikai tisztaságúak voltak.

5.4.6 A mérési eredmények feldolgozása

A mérési eredményeim statisztikai kiértékelésénél az alábbi megfontolások szerint jártam el:

- A mérési sorozatok kiugró értékeinek kimutatását és szűrését Nalimov-próbával végeztem.
- Az egyes adatsorok szórásának összehasonlításához Bartlett-próbát (szórásnégyzetek homogenitásvizsgálata) használtam. A próba előnye, hogy egyszerre több adatsor szórásának összehasonlítására alkalmas, és nem befolyásolja az egyes adatsorok szűrésből adódó esetleges eltérő mintaszáma.
- Inhomogenitás esetén az összehasonlítandó mérési pontok szórásnégyzeteinek vizsgálata F-próbával történt.
- Azonosnak tekinthető szóráseredményeknél a szignifikancia vizsgálatához kétmintás t-próbát, eltérő szórásnégyzetek esetében korrigált t'-próbát alkalmaztam (SVÁB, 1967). Az eredmények ellenőrzésére ezekben az esetekben Tukey-Kramer többszörös összehasonlítási tesztjét választottam.
- A lineáris regressziós vizsgálatoknál az egyenesek meredekségeinek összehasonlítását kovariancia analízissel végeztem el.

A vizsgálati eredményeket tartalmazó ábrák a párhuzamos mérések átlagát és a konfidencia intervallumokat tartalmazzák. A mellékletben megtalálhatók a hozzájuk társuló statisztikai táblázatok a szignifikancia vizsgálat eredményeivel. Az időben nyomon követett stresszvizsgálatoknál a stressz hatására bekövetkező oszcilláció kihangsúlyozása érdekében választottam az adott diagramtípust. A következtetések levonásához statisztikai táblázatokban közlöm a mérési eredmények számszerűsített átlagértékeit, s a közöttük lévő szignifikáns különbségeket (95% feltételezési valószínűség mellett). Jobb alsó indexben a vizsgált minták száma, jobb felső indexben a szignifikancia látható. Az azonos betűk a szignifikancia hiányát, a különbözőek szignifikáns eltéréseket jeleznek.

Az adatok elemzéséhez Microsoft Excel, valamint StatsDirect v. 2.6.5. (StatsDirect Ltd., UK) statisztikai szoftvert használtam.

III. KÍSÉRLETI ERDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE

6. A FIZIKAI ÉS KÉMIAI PARAMÉTEREK VIZSGÁLATA

Az ontogenezis anyagcsere-folyamatai a növények fizikai és kémiai paramétereivel, komponenseivel jellemezhetők. Mennyiségi és minőségi változásokon keresztül feltérképezhetők a biokémiai folyamatok: a fejlődési állapotok uralkodó anyagcsere-útvonalai és azok részfolyamatai. A kiválasztott paraméterekre szorítkozó vizsgálatokkal kívántam minél átfogóbb képet kapni a kocsányos tölgy korai ontogenezisének folyamatairól, a tárolás alatt bekövetkező makkminőségbeli változásokról, valamint a makkot és a csemete növényt érő lehetséges stressz eseményekről és azok hatásairól. A következő három fejezetben e témaköröket fogom taglalni szignálvegyületek mennyiségi változásán keresztül. A haszonnövényekre és csertölgyre már sikerrel alkalmazott endogén formaldehid ciklus elméletét kiterjesztettem a kocsányos tölgyre. A csertölgynél elvégzett relatív tömeg-sűrűség vizsgálatokat megismételtem erre a fafajra vonatkozólag. A biokémiai folyamatok mélyrehatóbb tanulmányozása érdekében az indikátortényezők spektrumát kibővítettem enzimvizsgálatokkal és összfenoloid-tartalom meghatározással, így a mérési eredmények értékelésénél lehetőség nyílt egy új környezeti-hatásvizsgálati módszert kidolgozására, melyben a növény stresszre adott válaszreakciója során megjelenő fiziológiás események nyomon követése enzimkorrelációs vizsgálatokkal történt. Rögzítettem ezen eljárás kiindulási feltételeit, s bizonyítottam az enzimkorreláció stressz-érzékenységet. Az alkalmazott kutatási eljárással lehetőség nyílik a környezeti hatások finomabb feltérképezésére.

6.1 Biokémiai és fizikai paraméterek változása az egyedfejlődés alatt

A növény különböző fejlődési állapotaiban jelentkező stressz beazonosításához szükséges az egyedfejlődési állapotokhoz tartozó paraméterek ismerete. A kocsányos tölgy egyedfejlődésének fiziológiai, biológiai, biokémiai állapotváltozásait, relatív tömeg-sűrűség függvénykapcsolattal, endogén formaldehidtartalommal, ill. fenoloidtartalommal, oxidoreduktáz enzimek aktivitásával, enzimkorrelációs vizsgálatokkal és összfehérje-tartalommal jellemeztem. A kísérleti eredmények statisztikai kiértékelését a 2. sz. mellékletek táblázatai tartalmazzák.

6.1.1 A csírázás hatása a kocsányos tölgy makk fizikai sajátságaira

A magvak duzzadása fizikai, kémiai és biokémiai folyamatok összessége, ami a raktározott tápanyagok kolloid sajátságaiból fakad. A szénhidrátok, lipidek és fehérjék hidrophil funkciós csoportjai ($-NH_2$, $-OH$, $-COOH$) elsősorban hidrogénhid kölcsönhatáson keresztül, magukhoz vonzzák a vízmolekulákat, maguk körül hidrátburkot kialakítva. A makromolekulák, illetve a raktározott vízoldható vegyületek oldódása növeli az intracelluláris tér ozmózis nyomását, ami a szabad kapillárisok oldattal történő feltöltődését segíti elő. A hidrolitikus biokémiai folyamatok a tárolt makromolekulákat (lipidek, keményítő, fehérjék) építőegységeikre bontják. A mólszám növelő reakciókban a kis molekulatömegű vegyületek (cukrok, aminosavak) az intracelluláris tér oldott anyagokkal való telítődéséig növelik az ozmózisnyomást, fenntartván a magvak duzzadását kísérő folyamatos vízfelvételt.

A csírázás sejtmegnyúlással járó szakasza további pótlólagos vízfelvételt eredményez, így a magvak tömege és térfogata a vízfelvétel és duzzadás eredményeként egyidejűleg

növekedik. Ennek mértékét döntően a tápanyagok mobilizációjában résztvevő makromolekulák hidrolitikus bontásának intenzitása határozza meg.

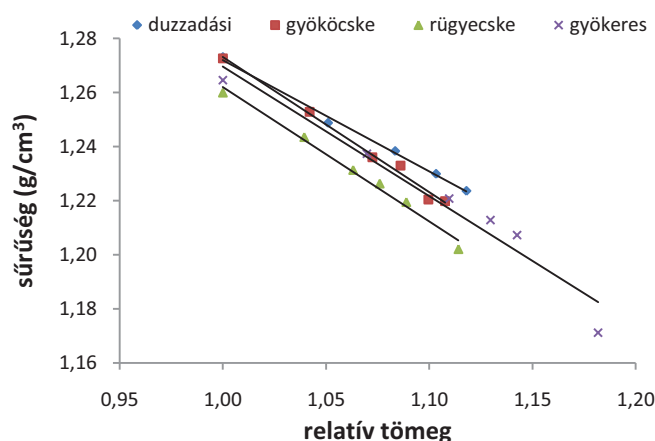
A tömegnövekedés a vízfelvétel, s egyszersmind a magok légzésének következménye. A csírázó makk tömegét a raktározó szövetekbe kerülő víz és oxigén mennyisége növeli, míg a kibocsátott szén-dioxid csökkenti. Mivel az egységnyi makktérfogatra vonatkoztatott szén-dioxid mennyisége kisebb a felvett, fajlagos víz és oxigén együttes mennyiségénél, ezért a magok tömege növekedni fog.

Ezen folyamatok velejárója a makksűrűség megváltozása. A hidrolitikus folyamatok a raktározó szövetek szilárd halmazállapotú, víznél nagyobb sűrűségű makromolekuláris anyagtartalmát csökkentik. A lebontott keményítő és fehérjék térfogatát az intracelluláris tér makromolekuláris anyagoknál kisebb sűrűségű oldata tölti ki. A tápanyagok mobilizációjában, a raktározó sejteken belül egyre csökken az oldat sűrűségénél nagyobb sűrűségű tápanyagok térfogata. Mindezek következménye a csírázás alatti makksűrűség csökkenése lesz.

A NÉMETH (2002) által statisztikailag bizonyított vízfelvétel fajlagos állandósága miatt, a makk abszolút tömegnövekedése mérettől függő, míg sűrűségcsökkenése mérettől független paraméterek. A fizikai sajátságokban adódó különbség - a tömeg extenzív, a sűrűség intenzív (fajlagos) fizikai tulajdonság - kiküszöbölhetővé vált a csírázási makktömeg nyugalmi állapotú makktömegre való vonatkoztatásával. Az így definiált relatív tömeg tehát, a sűrűséghez hasonlóan mérettől független tulajdonsággá, fajlagos mennyiséggé vált, amely a csírázás folyamán az egységnyi makktömegre jutó tömegnövekedés mértékét fejezi ki.

Az 2. sz. mellékletekben (1.-2. táblázat) nyugalmi állapotú kocsányos tölgy magvak 10-15 % tömegnövekedésig történő csíráztatása során a makk-egyedek relatív tömegnövekedésével egyidejűleg, sűrűségük csökkenése figyelhető meg. A relatív tömegnövekedés és a sűrűségcsökkenés korrelációjának vizsgálatával, a csírázást jellemző sűrűség és relatív tömeg adatpárookra nagyon jó közelítéssel egyenesek illeszthetők.

Az ontogenezis vizsgálatához, a csíráztatásra szánt válogatott magvak tömegét és sűrűségét 5 napig folyamatosan mértem, s egy-egy egyedfejlődési állapot vizsgálatakor újra kontroláltam. Adott fejlődési stádium jellemzésére azonos tömegű és sűrűségű makkot válogattam. A 24. ábrán a tölgy makk egyedfejlődését végigkísérő relatív tömeg-sűrűség adatpont-párok láthatók egy-egy makk-egyedre vonatkozólag.



24. ábra A relatív tömeg és sűrűség közötti összefüggések kocsányos tölgy egyedfejlődése alatt.

A korrelációs egyeneselek egyenletei és határozottsági fokai:

duzzadási:	sűrűség = -0,4120 relatív tömeg + 1,6841	$R^2 = 0,9954$
gyököcske:	sűrűség = -0,5010 relatív tömeg + 1,7743	$R^2 = 0,9915$
rügyecske:	sűrűség = -0,4965 relatív tömeg + 1,7586	$R^2 = 0,9883$
gyökeres:	sűrűség = -0,4797 relatív tömeg + 1,7494	$R^2 = 0,9525$

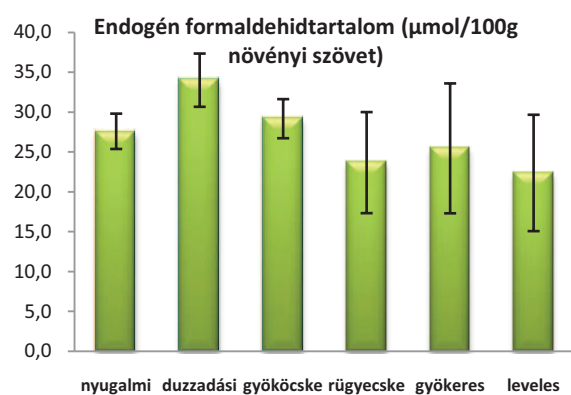
A korrelációs egyeneseken az első öt pont a duzzadási állapotig meghatározott értékpárokat, a hatodik pont az adott egyedfejlődési állapotban mért adatokat mutatja. Az egyenesek meredeksége, mint fizikai sajátság az egységnyi relatív tömegnövekedésre jutó sűrűségcsökkenést fejezi ki. A korrelációs egyenesek meredekségei között szignifikáns eltérés statisztikailag nem mutatható ki, tehát az egységnyi relatív tömegnövekedésre jutó sűrűségcsökkenés állandónak tekinthető az ontogenezis folyamán, ami a csírázó tölgymakk biológiai sajátsága (3. sz. melléklet).

A csertölgyre vonatkozó megállapítások figyelembevételével, az azonos egyedfejlődési állapotokhoz tartozó makk-egyedek kiválasztásának bizonytalanságát sikerült ezzel a módszerrel lecsökkenteni, redukálva ezzel a várható mérési eredményeink szórását is.

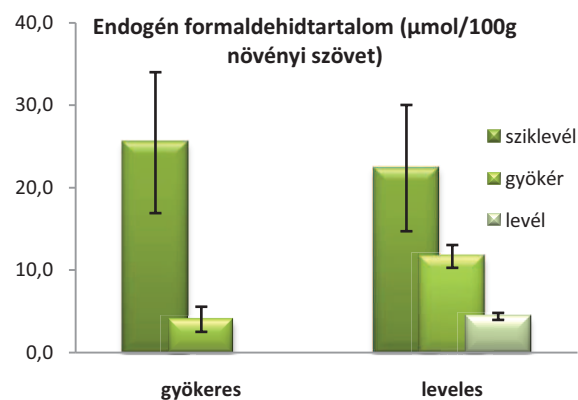
6.1.2 Az endogén formaldehidtartalom

Vizsgálatainkkal arra a kérdésre szeretnénk volna választ kapni, vajon a csertölgynél tapasztalt determinisztikus endogén formaldehidtartalom változás az ontogenezis kezdeti szakaszában érvényes-e a kocsányos tölgyfaj makk-egyedeire vonatkozólag is (ALBERT *et al.*, 1998; NÉMETH *et al.*, 2000; NÉMETH, 2002).

A 25.a.-b. ábrán a kocsányos tölgy egyedfejlődése során sziklelevél-, gyökér- és levélszövetekből meghatározott endogén formaldehidtartalmak láthatók.



25.a. ábra Az endogén formaldehidtartalom változása kocsányos tölgy csemete sziklelevélszövetében az egyedfejlődés alatt.
Hibasávok: konfidencia intervallumok.



25.b. ábra Az endogén formaldehidtartalom változása kocsányos tölgy csemete különböző szöveiben az egyedfejlődés alatt.
Hibasávok: konfidencia intervallumok.

A száraz, nyugalmi állapotú kocsányos tölgy makk szikleveleiben jelentős a formaldehidtartalom, ami a duzzadás hatására megemelkedik, majd a rügyecske megjelenéséig csökkenő tendenciát követ, s a csírázás előrehaladtával már szignifikáns változás nem következik be a sziklevelekben mennyiségét illetően. A kifejlett gyökérszövettel rendelkező makk gyökeréből meghatározott endogén formaldehid koncentrációk és tendenciaszerű változásuk megegyezik a csertölgynél tapasztaltakkal. Leveles állapotban mennyisége megháromszorozódik. A levélszövetekben nagyságrendileg azonos értékek adódtak a gyökeres állapotban gyökérből meghatározott értékekkel összehasonlítva, míg a hatleveses egyedfejlődési állapotban mérthez képest viszont szignifikánsan alacsonyabb (4. sz. melléklet/1.-2. táblázat).

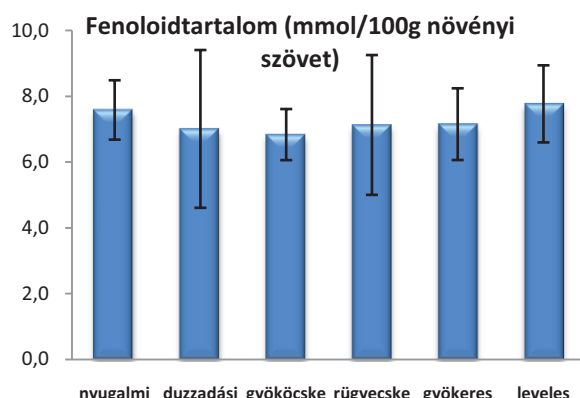
Mérési eredményeimet a csertölgy finomabb felosztású vizsgálataival összehasonlítva megállapítható, hogy a csertölgyhöz képest a kocsányos tölgy makkjaiban szignifikánsan magasabb az endogén formaldehidtartalom. Koncentrációja a csíranövény fejlődése folyamán a csertölgygel analóg módon, meghatározott útvonal szerint változik.

A két tölgyfajnál megállapított tendenciaszerű endogén formaldehidtartalom változás egyedektől független, legalább fajspecifikus sajátosságokra enged következtetni. Az egyedfejlődés legkorábbi szakaszában, a nyugalmi állapotú makk imbibíciós állapotig bekövetkező endogén formaldehid koncentrációjának emelkedése a metil-csoportok transzferének fokozódását jelzi, majd azt követő csökkenése az endogén formaldehid metil-csoportok formájában történő megkötését.

6.1.3 A fenoloidtartalom

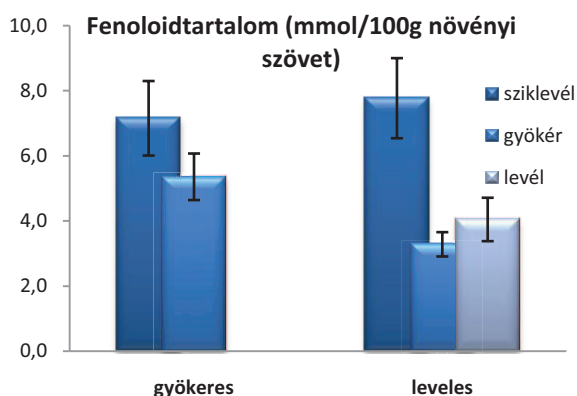
A fenolos vegyületek fontos szerepet töltenek be a növények élettani folyamataiban. Szerepük nélkülözhetetlen az anyagcsere-folyamatok szabályozásán keresztül a sejtosztódási, növekedési, fejlődési folyamatok befolyásolásában. Kísérleteim célja az volt, hogy képet kapjunk a totálfenol-tartalom ontogenezist kísérő mennyiségi viszonyairól.

A 26.a.-b. ábrán a kocsányos tölgy ontogenezist kísérő szöveti összes fenoltartalmak láthatók. A 26.a. ábrán a sziklevelekből, a 26.b. ábrán a gyökéres és leveles egyedfejlődési állapotok sziklevelekből, gyökérből és levélből meghatározott értékei láthatók.



26.a. ábra A fenoloidtartalom változása kocsányos tölgy csemete szikleveleszövetében az egyedfejlődés alatt.

Hibasávok: konfidencia intervallumok.



26.b. ábra A fenoloidtartalom változása kocsányos tölgy csemete különböző szöveiteiben az egyedfejlődés alatt.

Hibasávok: konfidencia intervallumok.

A sziklevelekből mért magas fenoloidtartalom az ontogenezis folyamán a nyugalmi, száraz állapotú makkban meghatározottól a hatleves állapotú csemete növény kifejlődéséig változatlan magas értéken marad. Statisztikailag szignifikáns különbségek nem mutathatók ki az egyes állapotok eredményei között (4. sz. melléklet/3.-4. táblázat). A gyökérszövetek morfogenezisének szakaszában, a gyökerekből mért értékek szintén magas fenoloid mennyiségre utalnak, a sziklevekhez képest szignifikánsan kevesebbre. A levelek kifejlődésével ez tovább redukálódik, míg a levelek ehhez képest szignifikánsan magasabb értékeket mutatnak.

A fenoloidok koncentrációját nagyon gyakran számos külső és belső tényező együttesen befolyásolja, mint például a fény, mely flavonolok szintézisét indukálhatja, vagy a szénhidrátok mennyisége, és számos egyéb környezeti faktor. Ennek következtében mennyisége egyaránt növekedhet, illetve csökkenhet a germináció különböző állapotaiban (THOMAS és RAVINDRA, 1999; OZYIGIT *et al.*, 2007).

Az irodalmakban közölt összes fenoltartalom mennyiségében bekövetkező bárminemű változást a csírázás korai szakaszában a vizsgálataim eredményei nem igazoltak vissza.

A fenoltartalom, tehát nem bizonyult hatékony egyedfejlődést minősítő jelzőparaméternek. A sziklevek egyedfejlődés alatti magas fenoltartalmának magyarázatául szolgálhat, hogy az új szöveti struktúrák (gyököcske, rügyecske, gyökér, levél) kialakulásához elengedhetetlen fenolos anyagigény folyamatos pótlására van szükség, melyet a raktározó szövetek fenoltartalma biztosít. Az egyes növényi részek közötti anyagáram fenntartása transzport folyamatokon keresztül valósul meg, melyek működéséhez szükséges koncentráció-gradiens fenntartásához járulhat hozzá a szövetek magas totálfenol-tartalma. A szöveti struktúrák kialakulásával fenolos anyagokat termelő folyamatok (ligninszintézis) iniciálódnak, az esetlegesen csökkenő mennyiségének pótlására.

6.1.4 A kataláz aktivitás

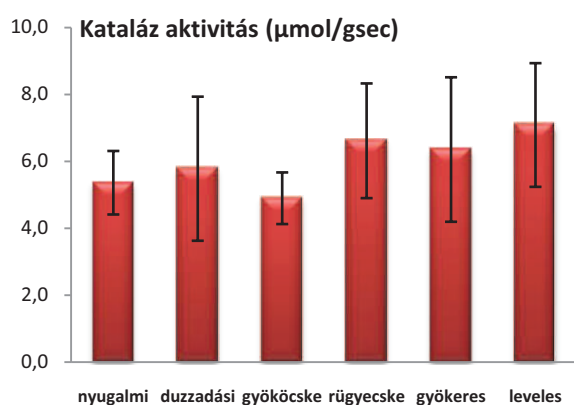
Az enzimek aktív jelenléte elengedhetetlen feltétele az élő szervezetek *in vivo* zajló kémiai átalakulásainak. Az enzimek az élő szervezetek reverzibilis kémiai reakcióinak sebességét gyorsítják, anélkül hogy a termodinamikai egyensúlyt megváltoztatnák, így az egyensúlyi állapot sokkal gyorsabban beáll. Az enzimek minden más katalizátortól rendkívüli specifikusságukban különböznek.

Az egyedfejlődéssel kapcsolatos enzimvizsgálataimhoz olyan univerzális enzimeket igyekeztem választani, melyek szerepe az ontogenezisben meghatározó lehet, s az anyagcsere főútvonalaival kapcsolatos. Az elsődleges szempont azonban az volt, hogy a későbbi stressz elemzésekhez olyan enzimeket vizsgáljak, melyek szakirodalmi adatok alapján, bizonyítottan stresszérzékenyek.

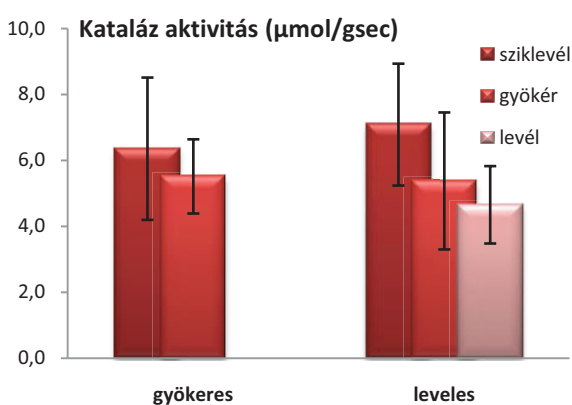
A választott enzimek a kataláz, peroxidáz és a polifenol-oxidáz enzimek voltak. A következő két alfejezetben ezen enzimek aktivitás változásait fogom ismertetni.

A kataláz aktivitás mérésével képet kaphatunk arról, hogy az egyedfejlődés transzmetilezésében bekövetkező eredő intenzitás változás redukzív vagy oxidatív folyamatok előtérbe kerülésével megy e végbe.

A 27.a. és 27.b. ábrán a kocsányos tölgy egyedfejlődése során különböző szövetekből mért kataláz aktivitások láthatók.



27.a. ábra A kataláz aktivitás változása kocsányos tölgy csemete szikleveleszövetében az egyedfejlődés alatt.
Hibaszávok: konfidencia intervallumok.



27.b. ábra A kataláz aktivitás változása kocsányos tölgy csemete különböző szöveiben az egyedfejlődés alatt.
Hibaszávok: konfidencia intervallumok.

Az enzim aktivitása a különböző egyedfejlődési állapotokban változatlan értékeket mutat. A szövetek egymáshoz viszonyított értékeit illetően, leveles állapotban a levélből mért

enzimaktivitások szignifikánsan alacsonyabbak a sziklevélből meghatározotthoz képest (4. sz. melléklet/5.-6. táblázat).

Olasz kutatók szintén kocsányos tölgy csemetéken elvégzett ontogenezis vizsgálatuk során ugyanilyen eredményeket kaptak (RACCHI *et al.*, 2001).

A csermakk imbibíciójában a kataláz aktivitás és az endogén formaldehidtartalom ellentétes irányú változást mutatott. Az endogén formaldehidtartalom emelkedése a sziklevelek redukciós potenciáljának csökkenése mellett valósult meg. Vagyis a demetilezés intenzívebbé válása a kataláz aktivitás csökkenéséhez járult hozzá. A változások tendenciájában tapasztalható kapcsolat ellenére statisztikai korrelációt nem értelmeztek e két paraméter között. Vizsgálataikban megállapították, hogy a kataláz aktivitás csökkenését nem csak a demetilezési reakciók fokozódása, hanem egyéb, a hidrogén-peroxidot szubsztrátumként felhasználó metabolizmusok (pl. a szénhidrátok oxidációja) együttesen indukálják (NÉMETH *et al.*, 2000).

Kukoricára vonatkozólag a kataláz aktivitásának duzzadási állapot utáni lassú csökkenése egy speciális kataláz-inhibitor hatásával magyarázható (SZABÓ, 1980).

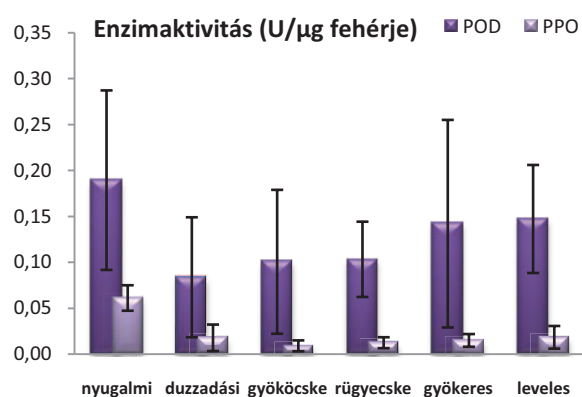
Saját eredményeim alapján a kataláz enzim a növényi szövetek fejlődési állapotának definiálásában eredménytelennek bizonyult.

6.1.5 A peroxidáz és polifenol-oxidáz aktivitások

A genotípusra jellemző izoenzimek gyakran szervre, sejtorganellumra, sőt fejlődési állapotra is specifikusak. Az anyagcsere speciális folyamatainak tükrében, mennyiségüket és arányukat a genetikai adottságok és a környezeti hatások együttesen szabják meg (SZABÓ, 1980). A polifenol-oxidáz és peroxidáz az élővilág legelterjedtebb enzimei közé tartoznak. A peroxidázok az auxinok oxidálásával, valamint az etilén bioszintézisében való részvételükkel az egyedfejlődés szabályozásában is részesek. Eloszlásuk az egyes szövetekben és szervekben az egyedfejlődés során és szezonálisan változik. A polifenol-oxidázok aerob körülmények közt monofenolokat és orto-dihidroxi-fenolokat oxidálnak (LÁNG, 2002).

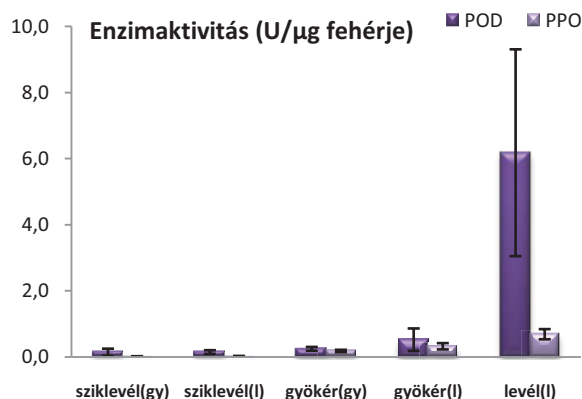
A csertölgyre elvégzett csemete kísérleteket e két új enzim vizsgálatával kívántam kiterjeszteni a kocsányos tölgyre. Kísérleteimmel arról szerettem volna képet kapni, hogy az ontogenezisben betöltött szerepük, hogyan tükröződik vissza aktivitási értékeik alakulásában a csemete növény kifejlődése során, s vajon milyen kapcsolatban állnak az egyéb vizsgált paraméterekkel.

A 28.a.-b. ábrák a kocsányos tölgy egyedfejlődése során sziklevél-, gyökér- és levélszövetekből meghatározott POD és PPO enzimek aktivitásértékeit mutatják.



28.a. ábra Az POD és PPO aktivitások változása kocsányos tölgy csemete sziklevélszövetében az egyedfejlődés alatt.

Hibasávok: konfidencia intervallumok.



28.b. ábra Az POD és PPO aktivitások változása kocsányos tölgy csemete különböző szöveiben az egyedfejlődés alatt.

Hibasávok: konfidencia intervallumok.

A kísérleti eredményeket összefoglaló ábrákról és a szignifikancia vizsgálatot tartalmazó táblázatokból (4. sz. melléklet/7.-8. táblázat) megállapítható, hogy a nyugalmi állapotú, száraz makk PPO és POD aktivitása szignifikánsan lecsökken a hidratáció hatására.

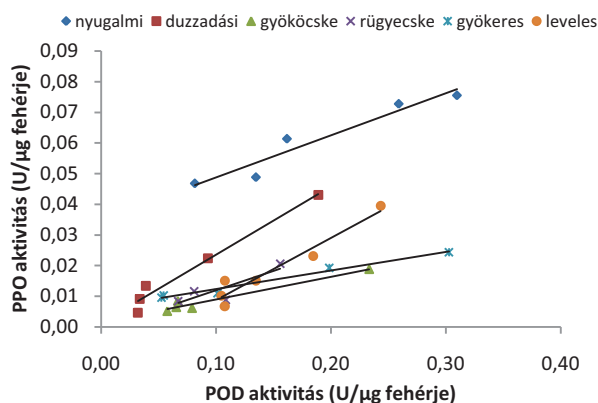
Csírázó szójamagból kivont és tisztított peroxidáz enzim specifikus aktivitása hasonló csökkenésen ment keresztül a csírázás korai szakaszában, míg egyéb ribószóma enzimeké jelentősen megemelkedett. (SZABÓ, 1980).

Azt ezt követő monoton növekedést mindkét enzimre vonatkozólag a statisztikai vizsgálat eredményei nem támasztják alá. A relative nagy szórásértékek miatt, a többi egyedfejlődési állapotban, sem a peroxidáz, sem a polifenol-oxidáz aktivitásai között nincs meghatározó differencia, tehát a vizsgált enzimek aktivitásainak abszolút értékén keresztül a növény fejlődése ebben az esetben nem követhető nyomon. A szövetek között már jelentősebb az eltérés, ami leginkább a POD-ra vonatkozólag a fotoszintetizáló levélszövetek esetében a legszembetűnőbb.

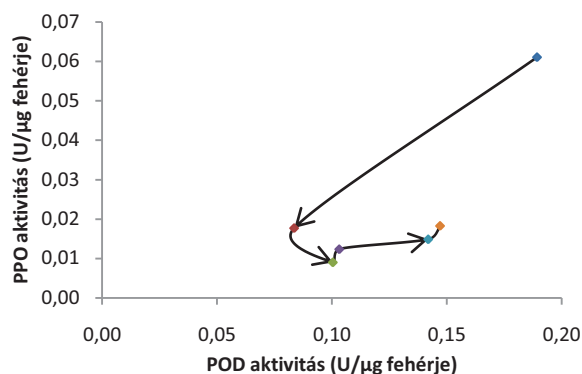
Jelen körülmények mellett a növényi mintákban az alacsony értékű POD aktivitásokhoz, alacsony értékű PPO aktivitások társulnak és fordítva. Az enzimek aktivitása tehát az anyagcserében összehangoltan szabályozott.

A két enzim aktivitásváltozásának hasonló tendenciája inspirált arra, hogy a két enzim aktivitásértékei közötti korreláció létezését vizsgáljam. A regressziós egyenesek jellemzésével a változók közötti kapcsolat is minősíthető. Az enzimkorreláció meredekségének változása visszatükrözi, hogy az ontogenezis folyamán a növény a sejtjeiben az egyik enzim aktivitását a másikéhoz képest fokozza, vagy háttérbe szorítja. Az enzimkorreláció határozottsága a növényi anyagcsere szabályozásának „minőségéről” nyújt tájékoztatást. A növényi szövetek anyagcsere-intenzitás eltéréseit, a növényi anyagcsere heterogenitását, s ennek mértékét a regressziók érvényességi tartománya tükrözi vissza.

A 29.a. ábrán a kocsányos tölgy egyedfejlődése alatti regressziók, a 29.b. ábrán a 29.a. ábrán közölt regressziós egyenesek súlypontjainak enzimaktivitási síkban történő vándorlását mutatja be. A 29.a. ábra a meredekség és a határozottsági fok értékeknek anyagcsere-szabályozáshoz való kapcsolatát, míg a 29.b. ábra a regressziós tartományok anyagcsere-szabályozásból fakadó eredetét hangsúlyozza. A 29.b. ábra információtartalmát tekintve kihangsúlyozandó, hogy a megjelenített eredmények a 29.a. ábra információtartalmától nem függetlenek, csak a regressziós eredményeknek egy specifikus sajátosságát emeli ki. Ez az ábra azt szemlélteti, hogy az egyes egyedfejlődési időpontokban a regressziós adathalmazok súlypontja statisztikailag szignifikáns módon változik meg az ontogenezis folyamán.



29.a. ábra A POD és PPO enzimaktivitások korrelációja kocsányos tölgy csemete szikleveleszövetében az egyedfejlődés alatt.



29.b. ábra A korrelációs tartományok súlypontjának dinamikája az egyedfejlődés alatt.

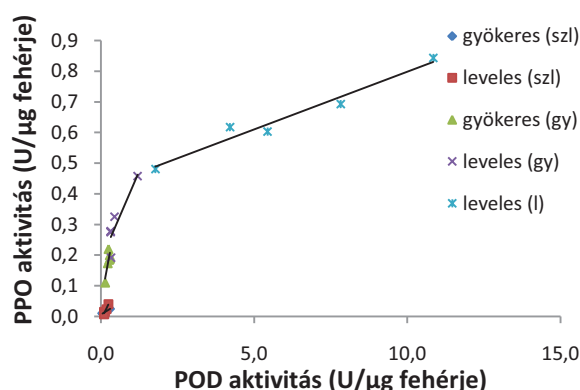
A korrelációs egyenesek egyenletei és határozottsági fokai:

nyugalmi:	PPO = 0,1371 POD + 0,0351	$R^2 = 0,9310$
duzzadási:	PPO = 0,2224 POD + 0,0013	$R^2 = 0,9709$
gyököcske:	PPO = 0,0739 POD + 0,0015	$R^2 = 0,9517$
rügyecske:	PPO = 0,1256 POD - 0,0006	$R^2 = 0,7420$
gyökeres:	PPO = 0,0607 POD + 0,0062	$R^2 = 0,9799$
leveles:	PPO = 0,2029 POD - 0,0116	$R^2 = 0,9330$

E két enzim korrelációs egyeneseinek meredekségét kovariancia analízissel megvizsgálva (5. sz. melléklet) megállapítható, hogy kocsányos tölgy makk ontogenezise folyamán, a sziklevelekből meghatározott enzimaktivitások regressziós egyeneseinek meredeksége között szignifikáns eltérés van, a gyököcske – rügyecske, valamint a rügyecske – gyökeres állapotok kivételével, mely pontok között az összfehérje-tartalmat illetően azonban meghatározó különbség mutatkozik (ld. következő alfejezet). A csemete növény kifejlődése során a regresszió érvényességi tartománya nem változik. A határozottsági fokok 0.9-es érték közelében vannak, ami az egyedfejlődés anyagcsere-folyamatainak robusztus szabályozottságát indikálja.

A meredekségek különbözősége arra utal, hogy a növekedés folyamán a sejt enzimaktivitásainak egymáshoz viszonyított arányán keresztül szabályozza anyagcsere-folyamatait. A regressziós egyenesek súlypontjainak enzimaktivitási síkon belüli vándorlása statisztikailag szignifikáns módon változik meg az egyedfejlődés folyamán.

Az anyagcsere erőteljes szabályozottságát különböző növényi szövetek esetében is visszaigazolandó, a lineáris regresszió analízist a gyökeres és leveles állapotok különböző szöveti struktúráihoz tartozó adatpont-párookra is elvégeztem. A 30. ábrán ennek eredményei találhatók.



30. ábra A POD és PPO enzimaktivitások korrelációja kocsányos tölgy csemete különböző szöveiben az egyedfejlődés alatt.

A korrelációs egyenesek egyenletei és határozottsági fokai:

sziklevél (gy):	PPO = 0,0607 POD + 0,0062	$R^2 = 0,9799$
gyökér (gy):	PPO = 0,5304 POD + 0,0494	$R^2 = 0,6870$
sziklevél (l):	PPO = 0,2029 POD - 0,0116	$R^2 = 0,9330$
gyökér (l):	PPO = 0,2323 POD + 0,1836	$R^2 = 0,8212$
levél (l):	PPO = 0,0376 POD + 0,4211	$R^2 = 0,9618$

A sziklevel, gyökér és levél növényi részek esetében kapott regressziós egyenesek határozottsági fokai hűen visszatükrözik, hogy ezekben a szövetekben is kivétel nélkül erős anyagcsere-szabályozás uralkodik. Megállapítható továbbá, hogy a fotoszintézist végző növényi szerv, a levél esetében a regresszió érvényességi tartománya több nagyságrenddel kiszélesedik, az enzimaktivitások jelentős mértékben megemelkednek a sziklevelekből és gyökerekből mért értékekhez képest.

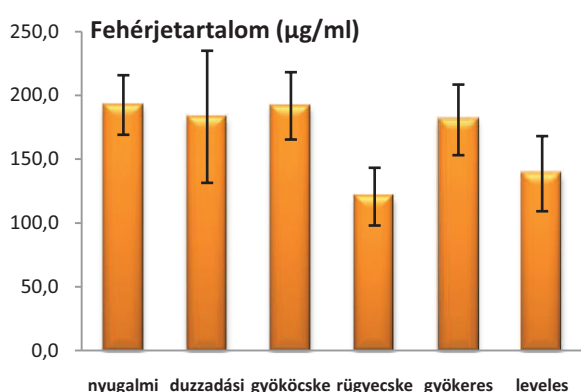
Az egyenesek meredekségeiben adódó szignifikáns különbségek, valamint a regresszió érvényességi tartományában adódó differenciák arra engednek következtetni, hogy az ontogenezis szabályozásában az enzimek aktivitásainak egymáshoz viszonyított arányán, illetve az anyagcsere intenzitásán keresztüli módosítások egyidejűleg valósulnak meg. A folyamatok erős szabályozás alatt állnak, ami a határozottsági fokok értékében egyértelműen megnyilvánul.

A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs vizsgálata megeremti annak a lehetőségét, hogy azokban az esetekben is kimutathatók legyenek eredmények közötti szignifikáns különbségek, ha az aktivitások abszolút értékeinek nagy szórása ezt nem teszi lehetővé. Ez az értékelési módszer alkalmas az egyedfejlődési állapotok jellemzésére. A regressziós egyenesek meredekségei szignifikánsan képesek megváltozni a fejlődés szakaszaiban mind azonos szövetek esetében, mind növényi részek egymáshoz viszonyított összehasonlításakor.

6.1.6 A fehérjetartalom

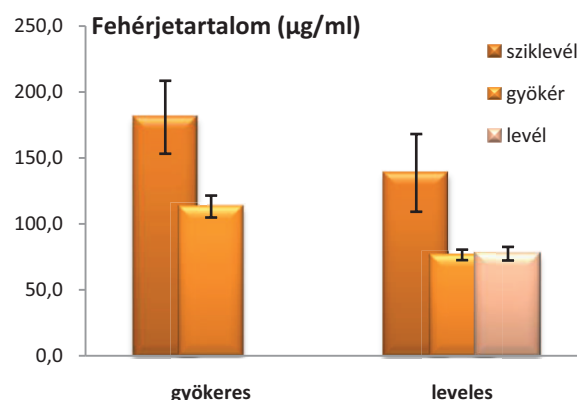
A germináció kezdeti szakaszában jelentős változások következnek be a magok anyagkészletét illetően. Fehérjetartalomra vonatkozólag fajtól, növényi résztől, és a vizsgált egyedfejlődési állapottól függően eltérő adatok lelhetők fel a szakirodalomban. Mivel az enzimaktivitásokat összfehérje-tartalomra szokás vonatkoztatni, feltétlenül szükséges volt az erre vonatkozó adatok meghatározása és kiértékelése.

A sziklevél-, gyökér- és levélszövetekből meghatározott fehérjetartalmak összmenyisége a 31.a.-b. ábrán láthatók.



31.a. ábra A fehérjetartalom változása kocsányos tölgy csemete sziklevélszövetében az egyedfejlődés alatt.

Hibasávok: konfidencia intervallumok.



31.b. ábra A fehérjetartalom változása kocsányos tölgy csemete különböző szöveiben az egyedfejlődés alatt.

Hibasávok: konfidencia intervallumok.

A mért adatok alapján megállapítható, hogy a csírázás korai fázisában, a rügyecske megjelenésével az összfehérje mennyisége felére csökken, ezt követően értéke visszaáll a kezdeti állapotokban meghatározottra (4. sz. melléklet/9.-10. táblázat).

Brazil kutatók különböző fajta babnövényeken elvégzett kísérleteiben, bab szikleveleinek fehérjemennyiségét a csírázás kezdeti szakaszában, különböző korú egyedek esetében meghatározva, csökkenő értékeket kaptak (DANTAS *et al.*, 2007). Kísérletes tapasztalataimat ugyancsak alátámasztják szezám-magok nyolcnapos csíráztatásával kapott fehérjetartalmak, melyeknél szintén 50 %-kal esett vissza értéke (HEMALATHA és PRASAD, 2003). Sütőtökre vonatkozóan ez a degresszió 30 %-os értéket mutatott két héttel a csírázás kezdete után (HARA *et al.*, 1976).

Az egyedfejlődés későbbi szakaszában, a rügyecskével rendelkező sziklevel és a kifejlett gyökérrendszerrel bíró csemete sziklevele között fehérjekoncentrációt illetően bekövetkező emelkedés fehérjeakkumulációra utal, melyet szintén babnövényeken elvégzett eredmények igazolnak (TABE és DROUX, 2001).

Az egyes szövetekből meghatározott mérési adatok között jelentős differenciákat figyelhetünk meg. A gyökeres és leveles állapotokban sziklevelekből kapott eredményekhez képest szignifikánsan alacsonyabb a gyökér-, illetve levélszövetek fehérjetartalma. A raktározó alapszervek közül a gyökérre vonatkozólag az idősebb csemete növényekben meghatározóan kevesebb a fehérjék koncentrációja.

Összességében vizsgálva levonhatjuk azt a következtetést, hogy a rügyecske állapot kivételével, a sziklevelek gyakorlatilag azonos fehérjetartalommal rendelkeznek a csemete növény kifejlődésének hatleveles állapotig tartó szakaszában. Ez az eredmény alátámasztja az enzimvizsgálatok egyik kísérletes előfeltételét, miszerint közel állandónak tekinthető fehérjetartalom esetén az enzimaktivitások nem függetlenek a reakciósebességektől, s csak abban az esetben szolgáltathatnak lineáris korrelációt, ha a biológiai rendszer e két enzim aktivitását egymáshoz viszonyítva arányosan szabályozza (NÉMETH, 2007a).

A vizsgálatokhoz választott biokémiai indikátorok egyesített halmazának – az indikátorok skaláris értékeiből származtatott vektorra – egyedfejlődés alatti változási mintázata a 13. táblázatban látható.

13. táblázat Az indikátorok egyesített változási mintázata kocsányos tölgy egyedfejlődése alatt.

Egyedfejlődés	Endogén formaldehidtartalom	Fenoloidtartalom	KAT aktivitás	POD aktivitás	PPO aktivitás	Összfehérje-tartalom
nyugalmi-duzzadási	↑	változatlan	változatlan	változatlan	↓	változatlan
duzzadási-gyököcske	↓	változatlan	változatlan	változatlan	változatlan	változatlan
gyököcske-rügyecske	változatlan	változatlan	változatlan	változatlan	változatlan	↓
rügyecske-gyökeres	változatlan	változatlan	változatlan	változatlan	változatlan	↑
gyökeres-leveles	változatlan	változatlan	változatlan	változatlan	változatlan	változatlan

A választott biokémiai indikátorok között az endogén formaldehidtartalom vs. peroxidáz és polifenoloxidáz aktivitások esetében állapítható meg jó határozottsági fokú lineáris korrelációs kapcsolat az ontogenezis kezdeti szakaszában, a gyökérzet kifejlődéséig tartó szakaszban. Ezen kívül ugyanazon egyedfejlődési szakaszokban (duzzadási és rügyecske) a fenoloidtartalom vs. POD és PPO enzimaktivitások, továbbá gyökeres állapotban a kataláz és a két oxidoreduktáz enzim között. Megállapítható tehát, hogy a választott indikátorok az ontogenezis folyamán egymással szoros összefüggésben állnak, s korrelációs kapcsolatukon keresztül lehetőség nyílik a növény fejlődésének e markereken keresztüli összehangolt feltérképezése (11. sz. melléklet).

6.2 A tárolás, mint környezeti körülmény hatása a fizikai és biokémiai paraméterekre

Az erdészetben széleskörűen alkalmazott hűtőkamrás tárolási módszert (1 °C, 100 % relatív páratartalom) a kísérletsorozat egyszerűbb kivitelezhetősége érdekében annyiban módosítottam, hogy a kocsányos tölgy makktételt 1 ± 1 °C-on, 80-90 % relatív páratartalom mellett, hűtőszekrényben tároltam. A tárolás folyamán csökkenő makkminőség nyomon követésére a választott kémiai paramétereket alkalmaztam. A statisztikai vizsgálat eredményei a 6. sz. melléklet táblázataiban találhatók meg.

6.2.1 A tárolás hatása a csíráképessegre és a makk sűrűségére

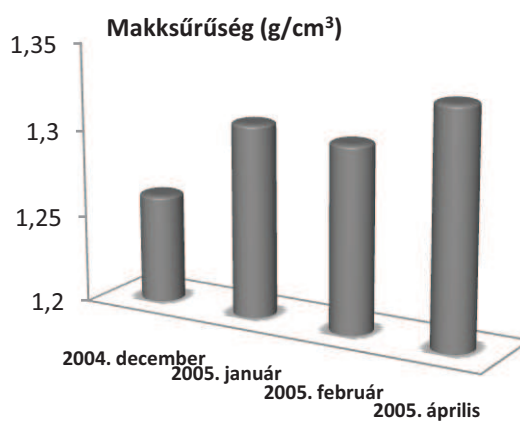
A makkminőség tárolás alatti jellemzésére csíráképessegi vizsgálatokat végeztem el. Ehhez havi időközökkel a tárolt makktételből véletlenszerűen válogatva, 50 darab maghéj nélküli kocsányos tölgy makkot sterilizált perlitágyba helyeztem és desztillált vízzel locsoltam a csírák megjelenéséig. A mérési eredményeket a 14. táblázat foglalta össze.

14. táblázat Tárolás alatti csíráképessegi vizsgálat eredményei.

Vizsgálat ideje	Csíráztatott egyedszám	Csíráképes egyedszám	Csírázási százalék
2004. december	50	50	100
2005. január	50	46	92
2005. február	50	43	86
2005. április	50	29	58

Megállapítható, hogy az alkalmazott körülmények mellett, a csíráképessege decemberi 100 %-os értéke, négy hónap elteltével közel felére esik vissza, ami a magvak nedvességtartalmában bekövetkező csökkenés eredménye.

A hosszabb idejű tárolás folyamán a makk nedvességtartalmának jelentős hányadát elveszti, melyet a tárolás során végbemenő sűrűség-növekedés visszatükröz. A 32. ábra makksűrűség értékeit szemlélteti a raktározási időszak alatt.



32. ábra Makksűrűség a tárolás alatt.

A makksűrűség átlagértékei és a statisztikai különbségek, valamint a vizsgált minták száma a 15. táblázatban láthatók.

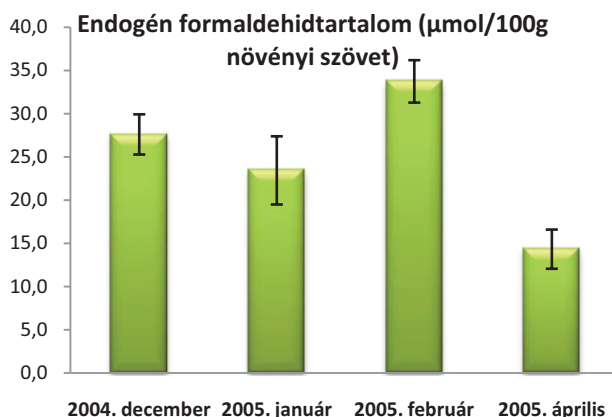
15. táblázat A makksűrűség átlagértékei a tárolás alatt.

Időpont	2004. december	2005. január	2005. február	2005. április
Sűrűség	1,26 ₆ ^a	1,31 ₆ ^b	1,30 ₆ ^b	1,33 ₆ ^b

6.2.2 Az endogén formaldehidtartalom

A ciklikusan jelentkező, jó termésből származó makk kezelésével és tárolásával foglalkozó tématerület régóta visszanyúló irodalmi háttérrel rendelkezik. Megállapítást nyert, hogy a jelentős minőségromlás nélküli, alacsony hőmérsékletű tárolás alapfeltétele a szikkasztott makk gázcseréjének biztosítása és nedvességtartalmának kb. 35-40 % közötti értéken tartása.

A tárolás endogén formaldehid ciklusra gyakorolt hatásának vizsgálatához, a 2004. december és 2005. április közötti időszakban történt a nyugalmi állapotú kocsányos tölgy magvak endogén formaldehidtartalmának meghatározása (33. ábra).



33. ábra Az endogén formaldehidtartalom változása kocsányos tölgy csemete szikleveleszövetében a tárolás alatt. Hibaszávok: Konfidencia intervallumok.

A mérési eredmények alapján megállapítható, hogy a tárolt, nyugalmi állapotú makk vegetációs időszakot megelőző endogén formaldehidtartalma változatlan értéken marad. Ezt követően mennyisége szignifikánsan megemelkedik, majd április hónapra több mint 50 %-kal redukálódik (6. sz. melléklet/1. táblázat).

A kocsányos tölgyre elvégzett kísérletben már áprilisra bekövetkező redukció egyik lehetséges oka a tárolási technikában keresendő. Az alacsonyabb relatív páratartalom a makk idő előtti nedvességtartalmának kritikus érték alá való csökkenését eredményezi, aminek velejárója a makk endogén formaldehidképző potenciáljának minimalizálódása.

A vegetációs időszak kezdetekor jelentkező megemelt endogén formaldehid koncentráció oka, a növények fejlődése során jelentkező ciklikusság. A mérsékelt égövi fák esetében a periodicitás az életcikluson belül is megtalálható, ami rendkívül szoros kapcsolatban áll az évszakok váltakozásával, ezért az éves cikluson belül lejátszódó morfológiai változások törvényszerű egymásutánisága mögött az évezredek környezeti feltételeiben jelentkező évszaki periodicitáshoz való alkalmazkodás, s ennek genetikai öröklődése rejlik. Ennek a ciklusnak képezi részét a rügyfakadás, melyet a megnövelt endogén formaldehid koncentráció visszatükröz.

A csertölgy esetében megállapítást nyert tendencia, miszerint a nyugalmi állapotú makk a vegetáció kezdetekor maximális endogén formaldehidképző potenciállal rendelkezik, érvényes a vizsgált kocsányos tölgyfajra is. A tavaszi vetésen túli tárolás során az endogén formaldehidszint csökken, ami a hosszabb időtartamú makktárolás alatt bekövetkező minőségbeli csökkenéssel lehet kapcsolatban.

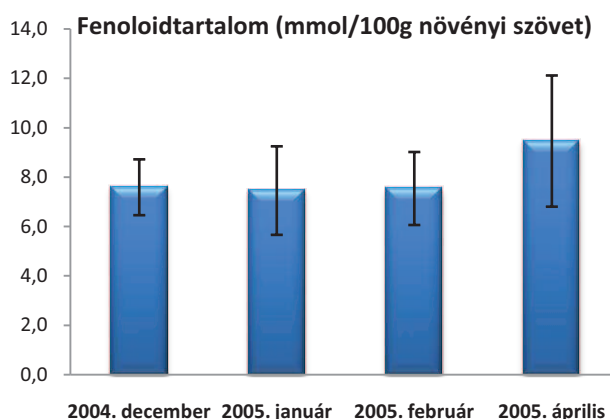
Összefoglalásként elmondható, hogy a tárolás körülményeinek körültekintő megválasztása és betartása elengedhetetlen feltétele a makk minőségének minél hosszabb távú megőrzésében. Fontos tény, hogy e kémiai paraméter alkalmas a makkminőség tárolás alatti

jellemzésére. Értéke determinisztikusan változik a tárolás folyamán, s e két tölgyfaj esetében analóg módon.

6.2.3 A fenoloidtartalom

Az egyedfejlődés korai szakaszában, sziklevelekben tapasztalt magas fenoloidtartalomra való tekintettel, arra a kérdésre kerestem választ, hogy vajon ezt a kontinuálisan fennálló nagy koncentráció értéket megőrzik-e a makk a raktározási időszak alatt is? Vizsgálataimban megállapítást nyert, hogy a hosszabb idejű tárolás folyamán a makk nedvességtartalmának jelentős hányadát elveszti, melyet a tárolás során végbemenő sűrűsögnövekedés visszatükröz. Arra a kérdésre kerestem választ, hogy a kiszáradásnak lehet-e indikátora az összfenoloid-tartalom mennyisége? Közismert tény ugyanis, hogy a kiszáradás, mint stressztényező, hatást gyakorol a növényi anyagcsere-folyamatokra, melynek egyik lehetséges velejárója a megnövelt fenolmennyiség.

A tárolt makktétel összes fenoloidmennyiségének tanulmányozásához az előző alfejezetben már említett időszakban végeztem vizsgálatokat, ugyanazon makk-egyedekből vett minták esetében (34. ábra).



34. ábra A fenoloidtartalom változása kocsányos tölgy csemete sziklevelszövetében a tárolás alatt.
Hibasávok: Konfidencia intervallumok.

A vizsgált tárolási időszak folyamán, az alkalmazott körülmények mellett a nyugalmi állapotú kocsányos tölgy makk összes fenoltartalma nem változott meg szignifikánsan (6. sz melléklet/2. táblázat). A magvak az alacsony hőmérsékletű tárolás alatt is megőrzik magas fenoloidok koncentrációjukat.

Mérési eredményeimet nagymértékben alátámasztják SHIMADA (2001) *Quercus serrata* és *Quercus mongolica*, valamint vadgesztenye (*Aesculus hippocastanum* L.) növényfajokon elvégzett tanulmányai, magokat elásó állatok vonatkozásában. A növények magjait egy és három hónap időtartamra nedves talajréteg tárolták abból a célból, hogy megvizsgálják okoz-e ez a magok tápanyagtartalmában valamiféle változást. Nem tapasztaltak figyelemreméltó módosulásokat a tanninok koncentráció értékeiben.

Ugyancsak ilyen eredmények születtek fehér (*Quercus alba*) és vörös tölgyfajok (*Quercus rubra*) makkjain, hasonlóan gyűjtögető állatokra vonatkozólag elvégzett kísérletekben. Sem a lipid-, sem a tannintartalom nem változott meg döntően a tárolás alatt (WOOD, 2005).

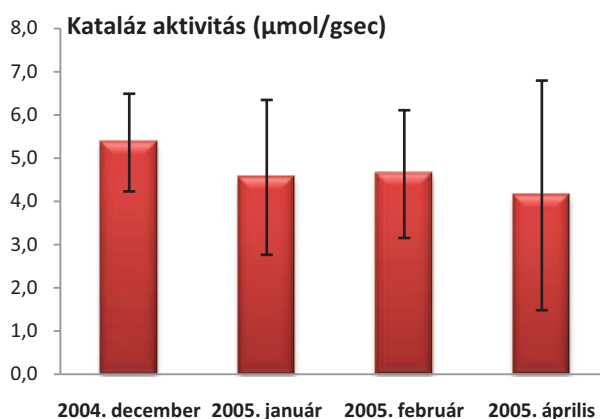
A raktározás ideje alatti magas fenoloid koncentráció megőrzése, a makk-egyedek későbbi növekedési és fejlődési folyamataihoz, az új szöveti struktúrák kifejlődéséhez szükséges fenolos anyagigény biztosítását szolgálhatja, hasonlóan az ontogenezisnél tett

megállapításokhoz. A makktétel tárolás alatti kiszáradásának mértéke az eredmények alapján, tehát nem okozott stresszt.

6.2.4 A kataláz aktivitás

Hasonlóan az előbb említett fenoltartalom állandóságához, a kataláz enzim aktivitása sem változott meg mértékadó módon az ontogenezis kezdeti stádiumaiban. Abból kiindulva, hogy a tárolás idejének előrehaladtával, a makk nedvességtartalmában csökkenés következik be, ok-okozati kapcsolatot keresve vizsgáltam a kataláznak, mint az oxidoreduktáz enzimnek az aktivitását. Az előző alfejezetben már említett megfontolások alapján, megnövelt enzimaktivitásokban megnyilvánuló kompenzálást vártam a víztartalom csökkenésére.

A tárolás kataláz aktivitásra gyakorolt hatásának tanulmányozásához, a 2004. december és 2005. április közötti időszakban hajtottam végre kísérleteimet, melynek eredményei a 35. ábrán láthatók.



35. ábra A kataláz aktivitás változása kocsányos tölgy csemete sziklevelszövetében a tárolás alatt.
Hibasávok: Konfidencia intervallumok.

A mérési eredményeket összefoglaló ábráról megállapítható, hogy az enzim aktivitása gyakorlatilag ugyanolyan nagyságrendű a tárolás öt hónapja alatt, mint a kiindulási, friss makké. Nem értelmezhető statisztikai eltérés az egyes hónapokban elvégzett mérések átlagértékei között (6. sz. melléklet/3. táblázat).

Szintén ilyen eredményre jutottak az 1900-as évek első felében tölgyfajokra vonatkozó tanulmány során. Fehér tölgy (*Quercus alba*) kataláz aktivitása 1937 novemberétől 1938 januárjáig tartó időszakban 2.5 °C hőmérsékletű tárolás folyamán ugyancsak stagnáló adatokat mutatott nyugalmi állapotú makk esetében. Csírázó makkra vonatkozólag a kataláz enzim aktivitása a novemberben meghatározott értékekhez képest decemberre megemelkedett, de ezt követően aktivitása januárig változatlan nagyságú maradt. Nem csírázó vörös tölgy (*Quercus rubra*) makkjai, ezen a tárolási hőmérsékleten ugyancsak változatlan aktivitási értékeket produkáltak (BROWN, 1939).

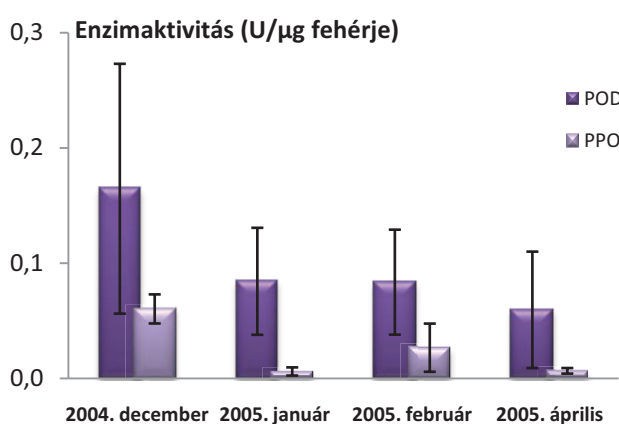
A kataláz aktivitás mérése tehát, lényegében nem járul hozzá a tárolás alatt bekövetkező esetleges minőségromlás indikálásához.

6.2.5 A peroxidáz és polifenol-oxidáz aktivitások

A tárolás alatt a makktételt érő egyik lehetséges stresszhatás, víztartalmuk kritikus érték alá történő csökkenése. A növényekben a stressz által előidézett morfológiai és fiziológiai változások mellett, biokémiai módosulások is végbemennek. Ezekben a folyamatokban a stresszt okozó tényezők reaktív oxigéngyökök keletkezését gerjesztik. Ezek a folyamatok stressz-gátló védekezési mechanizmusokat indukálnak. A rezisztens egyedek az oxidációs stresszre, pl. megnövelt peroxidáz aktivitással és a gyökfogó vegyületek intenzívebb szintézisével válaszolnak.

Tehát a makktétel fiziológiai és biokémiai folyamatainak tárolás során bekövetkező változásait a peroxidáz és polifenol-oxidáz enzimek aktivitásai jól reprezentálhatják.

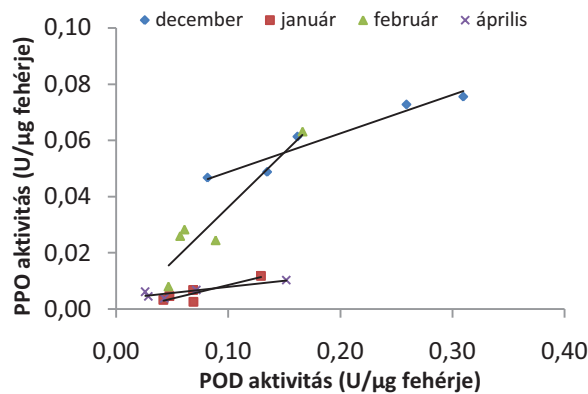
A 36. ábra a makk szikleveleiből mért peroxidáz és polifenol-oxidáz enzimek aktivitásainak átlagértékeit szemlélteti a raktározási periódusban.



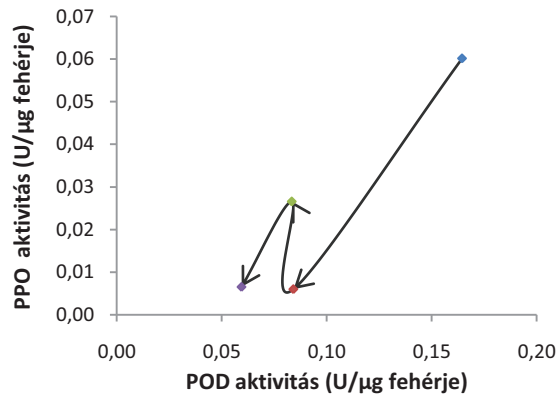
36. ábra A POD és PPO aktivitások változása kocsányos tölgy csemete szikleveleszövetében a tárolás alatt.
Hibasávok: Konfidencia intervallumok.

A 1 ± 1 °C-on, 80-90 % relatív páratartalom mellett hűtőben tárolt kocsányos tölgy makk enzimaktivitási értékeit decembertől áprilisig nyomon követve azt tapasztaltuk, hogy a peroxidáz és a polifenol-oxidáz aktivitások abszolút értékei a tárolás második hónapjára jelentős mértékű csökkenésen mentek keresztül, majd ezt követően értékük stagnált, állandó összfehérje-tartalom mellett (6. sz. melléklet/4. táblázat). Tendenciaként megállapítható, hogy a két enzim aktivitásának módosítása párhuzamosan, egymással összehangoltan történik. Ha az egyik enzim aktivitása csökken, akkor hozzá ugyanolyan mértékű csökkenés társul a másik enzim részéről, és fordítva.

Azért, hogy megvizsgáljuk a két enzim működésének szembetűnő kapcsolatát, lineáris regresszió analízist végeztem a két enzim aktivitás-értékpárjai között. A kapott eredmények a 37.a. ábrán, az egyenesek súlypontjának regressziós síkban való vándorlása, pedig a 37.b. ábrán látható.



37.a. ábra A POD és PPO enzimaktivitások korrelációja kocsányos tölgy csemete sziklevelszövetében a tárolás folyamán.



37.b. ábra A korrelációs tartományok súlypontjának dinamikája a tárolás folyamán.

A korrelációs egyenesek egyenletei és határozottsági fokai:

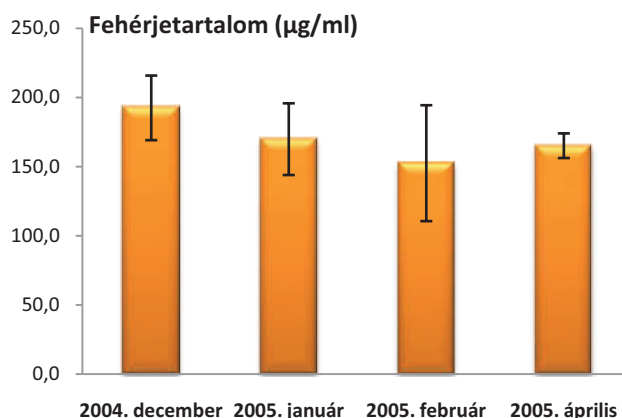
december:	$PPO = 0,1371 \text{ POD} + 0,0351$	$R^2 = 0,9310$
január:	$PPO = 0,0963 \text{ POD} - 0,001$	$R^2 = 0,7834$
február:	$PPO = 0,3886 \text{ POD} - 0,0026$	$R^2 = 0,8740$
március:	$PPO = 0,0435 \text{ POD} + 0,0036$	$R^2 = 0,8115$

Elvégezve a kovariancia analízist a regressziós egyenesek meredekségei között tapasztalható különbségek igazolására az alábbi megállapítások tehetők (7. sz. melléklet).

Az enzimaktivitások egymáshoz viszonyított arányán keresztül szignifikáns különbségek mutathatók ki a makktétel tárolás alatti állapotában. A 2004. decemberi és a 2005. januári regressziós egyenesek meredekségei között szignifikáns különbség nincs, azonban érvényességi tartománya mindkét irányban, jelentős mértékben leszűkül. A magvak a tárolás alatt bekövetkező vízvesztésre ebben az időszakban az enzimaktivitások összehangolt változását magában foglaló anyagcsereintenzitás-módosítással reagálnak. Ezt követően a regressziós egyenesek meredekségei között szignifikáns különbségek mutatkoznak, a sejt enzimaktivitásainak egymáshoz viszonyított arányán keresztül szabályozza anyagcsere-folyamatait. A határozottsági fokok 0.9 körüli értéke a folyamatok erőteljes szabályozottságára utal. A regressziós tartományok súlypontjai a tárolás folyamán a kiindulási állapottól csökkenő, majd januártól februárig növekvő és végül újra csökkenő tendenciát mutatnak. A súlyponti ábrán szembevetendő a februári kiugró érték, ami az endogén formaldehidtartalomnál már említett növényi életciklussal lehet kapcsolatban. Ez a tendencia az abszolút értékekben egyáltalán nem köszön vissza.

6.2.6 A fehérjetartalom

A peroxidáz és polifenol-oxidáz enzimek aktivitás értékeinek vonatkoztatási alapjául szolgáló fehérjetartalmat ugyancsak erre az időszakra megvizsgálva, az alábbi eredmények születtek. A 38. ábrán a tárolási periódusban, makk sziklevelszövetéből meghatározott fehérje koncentrációk átlagai és konfidencia intervallumai.



38. ábra A fehérjetartalom változása kocsányos tölgy csemete sziklevélszövetében a tárolás alatt.
Hibasávok: Konfidencia intervallumok.

A kapott adatok között statisztikailag különbség nem értelmezhető, a tárolás alatt a makk fehérjetartalma állandó értékű (6. sz. melléklet/5. táblázat). Tapasztalataim összhangban állnak Cleopatra mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) magjainak kontrolált körülmények (16 °C, 40 % relatív páratartalom) melletti tárolásával kapott fehérjekoncentrációkkal. A mandarin magjai még három hónap után sem veszítettek proteintartalmukból. Vizsgálataikban ez volt az egyik legérzékenyebb kémiai komponens, melyet a tárolás körülményei leginkább befolyásoltak (FAWUSI, 1989).

A fenoloidoknál már említett tölgyfajokra (*Quercus serrata* és *Quercus mongolica*) és vadgesztenyére (*Aesculus hippocastanum* L.) elvégzett tárolási vizsgálatok sorozatában a fehérje mennyisége sem mutatott számottevő redukciót a raktározás harmadik hónapjának elteltével (SHIMADA, 2001).

A vizsgálatokhoz választott biokémiai indikátor paraméterek összesített halmazának változásai láthatók a 16. táblázatban a tárolás folyamán.

16. táblázat Az indikátorok egyesített változási mintázata kocsányos tölgy maktétel tárolása alatt.

Tárolás	Endogén formaldehidtartalom	Fenoloidtartalom	KAT aktivitás	POD aktivitás	PPO aktivitás	Összfehérje-tartalom
2005. december-2006. január	változatlan	változatlan	változatlan	változatlan	↓	változatlan
2006. január-2006. február	↑	változatlan	változatlan	változatlan	változatlan	változatlan
2006. február-2006. április	↓	változatlan	változatlan	változatlan	változatlan	változatlan

A tárolási vizsgálatok sorozatában a mért biokémiai jelzőanyagok értékei között, hasonlóan az ontogeneziséhez tapasztaltakhoz, kapcsolat állapítható meg. A formaldehid koncentráció és a POD, PPO enzimek között a raktározás első két hónapjában, míg a fenoloid és e két enzim esetében a két utolsó mérési pont alkalmával. Ezek az eredmények is azt igazolják vissza, hogy a növények fejlődésében, biokémiai folyamataiban fontos és kitüntetett szerepe van e paramétereknek, s egymással összehangoltan változnak meg (11. sz. melléklet).

6.3 A kocsányos tölgy stresszvizsgálatai

A növények fejlődését a genetikai adottságok mellett a környezeti hatások is jelentős mértékben befolyásolják. Egyes biotikus és abiotikus környezeti tényezők korlátozó faktoraik lehetnek a fajok adott termőhelyen való előfordulásának. Azoknak a növényfajoknak az életben maradási esélyei nagyobbak, melyek alkalmazkodóképesebbek, minél több tényező szempontjából tágtűrősebbek. A környezeti stresszre a növény elpusztul, vagy reverzibilis stresszfolyamatokon megy keresztül, s alkalmazkodóképessége erősödik. A hatás erősségét döntően meghatározza, hogy a fejlődés mely szakaszában, milyen erősségű és időtartamú stressz éri a növényt.

A stressz hatására reaktív oxigén intermedierek képződnek, melyek a stressz celluláris indikátorai, valamint másodlagos hírvivők a stresszre adott válasz szignál transzdukciós folyamatában. Mivel ezek az aktív oxigénformák (AOF) mérgezőek a sejt számára, s egyszersmind jelzőfolyamatok résztvevői is, a növényi sejteknek legalább kétféle mechanizmusra van szükségük, hogy szabályozzák az intracelluláris AOF koncentrációt, illetve közömbösítésüket. Az egyiknek képesnek lennie arra, hogy rendkívül finom szabályozással alacsony szinten tartsa ezen anyagok koncentrációját. Másrészt a feleslegben lévő AOF-kat detoxifikálnia kell, különösen stressz alatt. Meghatározó lehet a termelt reaktív oxigén intermedierek típusa és a különböző fajták steady-state szintje közötti egyensúly. A termelt AOF és a scavenger (gyökfogó) folyamatok közötti kölcsönhatás eredményeként, mindezek a mechanizmusok egyértelműen determináltak, s a növény fiziológiai állapotától, valamint a különböző környezeti, fejlődési és biokémiai ingerek integrációjától függően drasztikusan meg is változhatnak. A környezeti, ill. stressz-tényezők fajokra és egyedeikre gyakorolt hatásának a feltérképezését, valamint a fiziológiai állapot mérésekkel való jellemzését a következő ismeretek teszik lehetővé.

- A sejt (jelen kutatásban a növényi sejt) optimális növekedésének törvénye. A sejt növekedésének ütemét az adott, pillanatnyi környezeti adottságokhoz igazítja és optimálja.
- A sejt növekedésének adott pillanatban jellemző sebességét a primer anyagcsere-folyamatok sebessége határozza meg. Növényi anyagcsere lefolyását elsősorban a fotoszintézis intenzitása uralja.
- Az előbbi két tapasztalatból következik, hogy a környezeti hatások a metabolizmust befolyásolni képesek, az extrém hideg, a fényhiányos körülmények, ill. a szárazság anyagcsere-folyamatokra gyakorolt szignifikáns változásán keresztül.

A különböző eredetű környezeti hatások leképezésére a növények enzimatis és nem enzimatis antioxidáns kapacitással rendelkeznek. Ennek a komplex biológiai rendszernek néhány enzim képviselőjét (kataláz, peroxidáz és polifenol-oxidáz enzimek), valamint aktivitásukkal kapcsolatba hozható anyagcsere metabolitok (endogén formaldehidtartalom, fenoloidtartalom és összfehérje-tartalom) mennyiségi változásait fogom taglalni a következő fejezetekben kocsányos tölgy makk és csemete növény különböző abiogén hatásra (hideg-, fényhiány-, szárazságstressz) adott stresszválaszaival összefüggésben.

6.3.1 A kocsányos tölgy makk hidegstressz vizsgálata

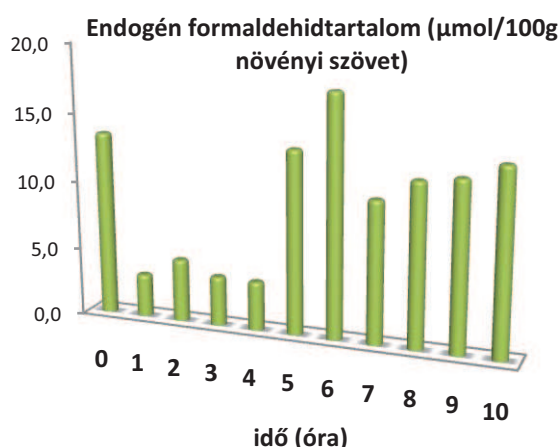
Számos tárolási technikát dolgoztak ki a nedvességtartalomra és a relatív oxigénhiányra érzékeny magvak életképességének megőrzése céljából. Az elsődleges raktározási szempont a makk egyenletes gázcseréjének biztosítása, valamint kiszáradásának megakadályozása. Azonban a legkörültekintőbb eljárások alkalmazása esetén is számos

stresszhatás érheti a makktételt tárolása folyamán. Ilyen káros tényező lehet például a környezeti tényezőkben bekövetkező hirtelen változás (pl. hőmérséklet, páratartalom). Ezen károk közül minden bizonnyal az egyik leggyakrabban előforduló a korai fagy okozta minőségromlás, mely a nyugalmi és duzzadási állapotú makk élettani folyamataira hatást gyakorol.

Az egyedfejlődés korai állapotainak pontosabb behatárolása lehetővé tette, hogy néhány növényfaj környezeti hatásokra adott időfüggő válaszreakciói feltérképezhetővé váljanak. Az időskálán nagyobb felbontás mellett végrehajtott stresszvizsgálatok a mért biológiai paraméterek értékeiben szignifikáns periodikus változásokat mutathatnak. Az alábbi alfejezetekben kocsányos tölgy makk hidegsokkra adott alarmfázisait fogom jellemezni endogén formaldehidtartalom, fenoloidtartalom és kataláz aktivitás mennyiségi változásain keresztül (POZSGAI-HARSÁNYI *et al.*, 2005).

6.3.1.1 Az endogén formaldehidtartalom

Terméshéjuk eltávolítása után, tömeg és sűrűség alapján válogatott, 10 % tömegnövekedésig csíráztatott kocsányos tölgy magvakat -20 °C hőmérsékletű hidegsokknak tettem ki. A stresszhatás időtartama 10 óra volt, óránkénti mintavétellel. A makkokat időben késleltetve tettem ki a hideghatásnak az összehasonlíthatóság érdekében. A kísérlet teljes időtartama három nap volt. A 39. ábrán a makk hidegsokkra adott válaszreakciója látható endogén formaldehidtartalom vonatkozásában.



39. ábra A kocsányos tölgy makk endogén formaldehidtartalma a hidegsokk alatt.

A 17. táblázatban az endogén formaldehidtartalmak átlagértékei és a statisztikai összehasonlítások eredményei találhatóak a vizsgált egyedszámokkal.

17. táblázat A kocsányos tölgy makk endogén formaldehidtartalmának átlagértékei a hidegsokk alatt.

kontroll	1ó	2ó	3ó	4ó	5ó	6ó	7ó	8ó	9ó	10ó
13,458 ^a	3,150 ^b	4,590 ^b	3,640 ^b	3,580 ^b	13,370 ^a	17,560 ^c	10,360 ^{ad}	11,940 ^{ad}	12,340 ^{ad}	13,490 ^{ad}

Csíráztatott kocsányos tölgy makk 1 órás időtartamú hidegstressz hatására endogén formaldehidtartalmát a kiindulási állapot negyedére redukálja. Helyi minimum elérése után, hat óra elteltével a formaldehidszint a kontrollt meghaladó értéken maximumot ér el, majd értéke lecsökken, s a kontroll állapotban meghatározott érték közelében stagnál.

Fusarium-mal fertőzött görögdiñnye (*Citrullus vulgaris* L.) változatok (Sugar Baby, Charleston) endogén formaldehidtartalma ugyancsak periódikus változásokat mutatott a

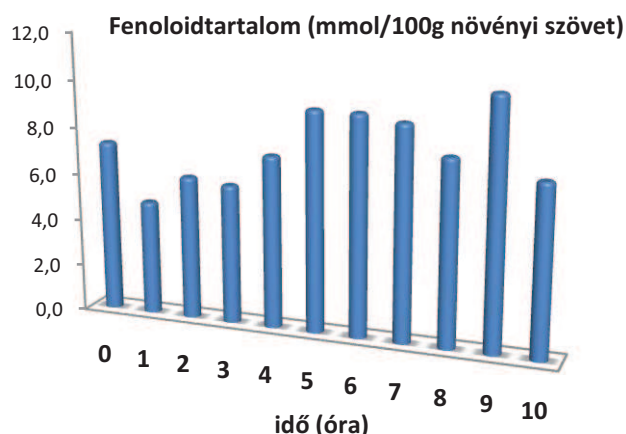
stresszhatásra (SÁRDI és TYIHÁK, 1995, 1998). A kapott válaszreakciókból indirekt módon a növények stressztűrő-képességére lehetett következtetni.

Hasonló eredményeket kaptak csertölgy makkjaira vonatkozólag is. Kimutatták, hogy a hidegsokk (-20 °C) a csírázó csermakk endogén formaldehidtartalmában oszcillációt képes indukálni, s néhány nap elteltével, a rezisztencia tartományban a kiindulásinál magasabb értéken állandósul. Vizsgálataikban megállapították, hogy a különböző környezeti hatásoknak kitett makk endogén formaldehidtartalma determinisztikusan követi a Selye-féle stressz-szindróma fázisait (ALBERT *et al.*, 1997, 1998; NÉMETH, 1998).

A két faj makk-egyedeire vonatkozólag tehát analóg változásokat generált a több órás hidegstressz az endogén formaldehidtartalmat illetően. A stressz alarm fázisában e vizsgált biokémiai paraméter szignifikáns periodikus változásokat mutat mind cser, mind kocsányos tölgy makk esetében.

6.3.1.2 A fenoloidtartalom

Az említett stresszkörülmények mellett, a tölgymakk összfenoloid-tartalma is meghatározásra került, abból a célból, hogy az irodalmakban közölt stresszhatásra bekövetkező megemelt fenolkoncentrációról is képet kaphassunk. A stressz hatására képződő gyökök kisöprésére a növények fenolos anyagok intenzív szintézisével reagálnak, aminek egyenes következménye a megemelt fenolkoncentráció. A 40. ábrán ennek a mérési sorozatnak az eredményeit foglaltam össze.



40. ábra A kocsányos tölgy makk fenoloidtartalma a hidegsokk alatt.

A 18. táblázatban kocsányos tölgy makk fenolkoncentrációinak átlagértékei, vizsgált egyedszámai és a statisztikai vizsgálat szignifikáns különbségei találhatók a hidegstressz alatt.

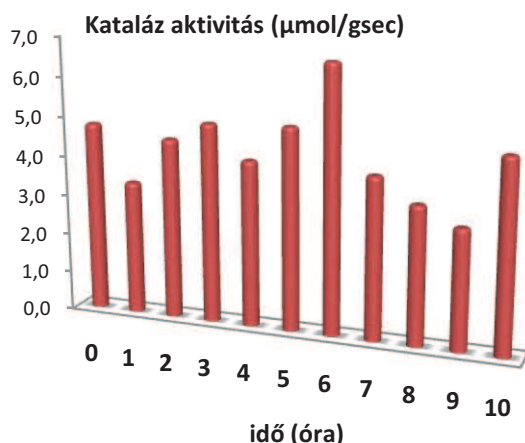
18. táblázat A kocsányos tölgy makk fenoloidtartalmának átlagértékei a hidegsokk alatt.

kontroll	1ó	2ó	3ó	4ó	5ó	6ó	7ó	8ó	9ó	10ó
7,312 ₃ ^{ab}	4,875 ₃ ^a	6,115 ₃ ^{ab}	5,922 ₃ ^{ab}	7,318 ₃ ^{ab}	9,342 ₂ ^{ab}	9,330 ₃ ^{ab}	9,075 ₂ ^{ab}	7,870 ₂ ^{ab}	10,483 ₃ ^b	7,231 ₂ ^{ab}

A csírázó tölgymakk fenoloidtartalma a stressz alarm fázisában a kontroll állapothoz képest lecsökken, majd megemelkedik, s újra csökken. Kilencórás hidegsokk hatására a fenolkoncentráció majd 40 %-kal nagyobb a kontroll állapothoz képest. Stasztikailag az 1 órás és a 9 órás adatok között értelmezhető különbség, a várt koncentrációemelkedés beigazolódott.

6.3.1.3 A kataláz aktivitás

A makk hidegsokk alatti folyamatainak bruttó hidrogén-peroxid szükségletéről a kataláz enzim aktivitásának mérésén keresztül tájékozódhatunk. A csertölgynél tapasztalt hidegsokkra bekövetkező periodicitás kimutatása e vizsgálati paraméter esetében kulcsfontosságú lehet abból a szempontból, hogy változásaik jellegében tapasztalható meghatározott tendenciák esetén általános érvényű következtetéseket tudjunk levonni. A biológiai rendszer általános sajátása ugyanis a stresszhatásra bekövetkező oszcilláció. A 41. ábra imbibíciós állapotú kocsányos tölgy makk kataláz enzim aktivitását mutatja a hidegstressz folyamán.



41. ábra A kocsányos tölgy makk kataláz aktivitása a hidegsokk alatt.

A 19. táblázatban kocsányos tölgy makk hidegstressz alatti kataláz aktivitásainak átlagértékei, vizsgált mintaszámai és a statisztikai összehasonlító vizsgálat eredményei találhatók.

19. táblázat A kocsányos tölgy makk kataláz aktivitásának átlagértékei a hidegsokk alatt.

kontroll	16	26	36	46	56	66	76	86	96	106
4,802 ₃ ^a	3,375 ₃ ^a	4,560 ₃ ^a	5,026 ₂ ^a	4,191 ₃ ^a	5,098 ₃ ^a	6,701 ₃ ^a	4,088 ₃ ^a	3,486 ₂ ^a	3,034 ₂ ^a	4,822 ₃ ^a

Kataláz aktivitás vonatkozásában a változás jellegében tapasztalható tendencia ellenére statisztikailag nem igazolhatók az egyes mérési pontok közötti szignifikáns különbségek. A stresszmentes állapothoz képest a helyi minimum és maximum értékek itt is jól megfigyelhetők a stressz manifesztálódása folyamán.

Összefoglalásként megállapítható, hogy a kocsányos tölgy makkjain elvégzett hidegstressz a vizsgált paraméterek közül az endogén formaldehidtartalomban indukált periodikus változásokat. Értékében a kiindulási állapothoz képest csökkenő, minimum értéken áthaladó, majd növekvő, maximum értéket elérő és újra csökkenő tendenciát tapasztaltuk. Változása a stressz-szindróma fázisait követte. A kiválasztott stresszmarkerek közül a legérzékenyebben az endogén formaldehid-, illetve a fenoloidtartalom tükrözte vissza a stresszhatásra bekövetkező válaszreakciókat. Mindhárom paraméter között a stressz lefolyása alatt jó korrelációs kapcsolat áll fenn (11. sz. melléklet).

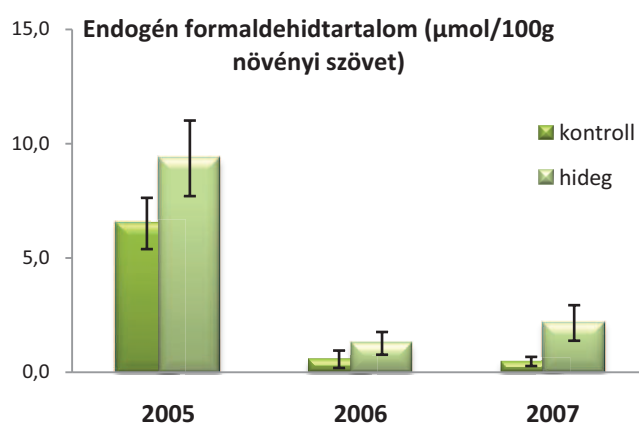
6.3.2 A kocsányos tölgy csemete hidegstressz vizsgálata

A hőmérséklet azon általános életfeltételek egyike, mely a biokémiai reakciók, s ezzel az anyagcsere-folyamatok intenzitását alapvetően meghatározza. Az alacsony hőmérséklet hatására károsodik a sejtek membránszerkezete, a membránok elvesztik folyadékkristályos állapotukat, merevek lesznek. Ezáltal csökken a membránalkotók mobilitása, reakcióinak intenzitása, lassul a tápanyagok mobilizációja. Szabadgyökök képződnek, s az indukált gyökreakciók membránkárosodáshoz vezetnek. A membránalkotók összetételbeli változása közvetett módon ugyan, de hatást gyakorol egyéb anyagcsere-metabolitok mennyiségi viszonyaira is. Mindemellett az is fontos tény, hogy az enzimatis reakciók sebessége szintén hőmérsékletfüggő, mely leginkább a membránhoz kötött enzimreakciók esetében érvényesül. Mivel ezek az enzimfolyamatok szoros kapcsolatban állnak a szolubilis enzimreakciókkal, a normál anyagcsere elengedhetetlen feltétele e reakciók kiegyensúlyozottsága. Az egyensúly felbomlása anyagcsere-intermedierek felhalmozódásához, s az anyagcsere károsodásához vezet (PETHŐ, 1993).

Az alábbi alfejezetekben a hidegstressz-hatás biokémiai következményeit tanulmányozom a választott kémiai jelzőparamétereken keresztül hatleves állapotú kocsányos tölgy csemetéken. Ehhez a vizsgálathoz az 5.2.3 fejezetben leírt körülmények mellett nevelt fiatal csemete növényeket 4.5 órás -20 °C hőmérsékletű hidegsokknak vettem alá. A reprodukálható eredmények érdekében a mintavételt időben késleltetve végeztem el. A mérésekhez a csemete összes levelét felhasználtam és átlagmintát készítettem, így lehetőség volt az összes kémiai paraméter egy extraktumból történő meghatározása, mely elengedhetetlen feltétele a mérési eredmények összehasonlíthatóságának. A statisztikai összehasonlító vizsgálatok eredményei a 8. sz. melléklet táblázatai foglalják össze.

6.3.2.1 Az endogén formaldehidtartalom

A vizsgálatokat 2005, 2006 és 2007 tavaszán végeztem különböző helyről származó makktételből csíráztatott és nevelt növényekkel, hogy az eredet okán fennálló esetleges minőségi különbségek kimutathatók legyenek. A 42. ábra a levélszövetek hidegstressz hatására bekövetkező endogén formaldehidtartalmának változásait szemlélteti.



42. ábra A hidegstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek endogén formaldehidtartalmára. Hibasávok: konfidencia intervallumok.

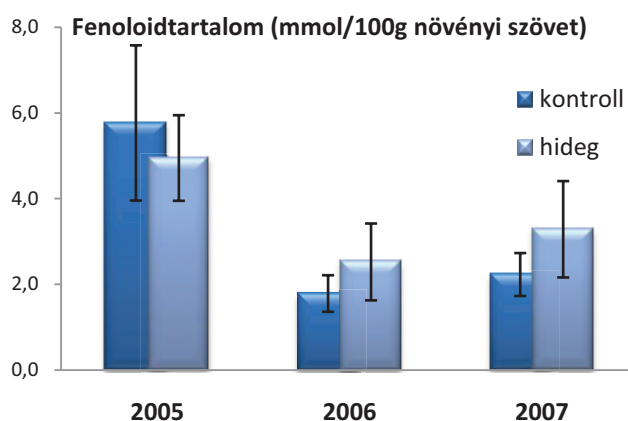
Megállapítható, hogy mindhárom évben a 4.5 órás hideghatásra a levelek endogén formaldehidtartalma szignifikáns módon megemelkedik. TYIHÁK (1989) babnövények levelein elvégzett kísérleteiken ellenkező megállapításra jutott.

Csermakk ellenben hidegsokra (≥ 72 óra) megemelt endogén formaldehidtartalommal reagált (NÉMETH, 2002).

A különböző maktételből származó egyedeket összehasonlítva kijelenthető, hogy a Gyulai Erdészetből származó makk endogén formaldehidképző potenciálja nagyságrendekkel nagyobb volt, mint a Kisalföldi Erdészeti Rt. vitnyédi telephelyéről származóké. A vitnyédi maktételből nevelt csemeték 2006-ban és 2007-ben is azonos nagyságrendi tartományban lévő értékeket mutattak és azonos módon reagáltak a hidegstresszre.

6.3.2.2 A fenoloidtartalom

Kimagasló szerepet tulajdonítanak a fenoloidok szuperoxid- és hidroxil-szabadgyököket közömbösítő aktivitásának (ROBAK és GRYGLWSKI, 1988). Ezen vegyületek sokfélesége ellenére, a növények élettani folyamatai során betöltött szerepük hasonló. Sejtvédő funkcióval rendelkeznek. Az irodalmakban közölt (RIVERO *et al.*, 2000) stresszhatásra bekövetkező összfenol-tartalombeli akkumuláció igazolására, meghatároztam a levelekből készített extraktumok fenoloid koncentrációját (43. ábra).

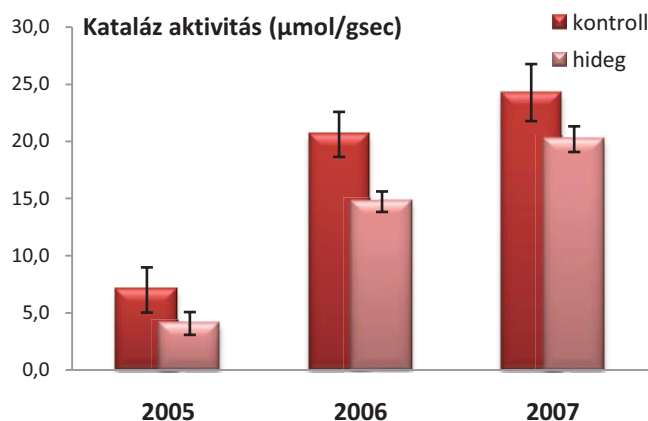


43. ábra A hidegstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek fenoloidtartalmára.
Hibasávok: konfidencia intervallumok.

A 2006-os és 2007-es évben elvégzett kísérletsorozatok eredményeiben tapasztalható emelkedő tendencia ellenére, statisztikailag szignifikáns eltérések nem voltak kimutathatók a kontroll és a stresszelt növények között a relatíve nagy szórásértékek miatt. A csemeték összes fenoltartalma egyik évben sem nőtt meg szignifikáns módon, tehát a kocsányos tölgy csemetéken elvégzett hidegstressz vizsgálat eredményei nem erősítik meg az irodalmi adatokat. Az egyes évek mérési eredményeit egymáshoz viszonyítva viszont meghatározó csökkenés figyelhető meg, mind a kontroll (stresszmentes), mind a stresszelt növények fenoloidtartalmára vonatkozólag. A vitnyédi csemetekert makkjaiból nevelt egyedek levelei harmadakkora fenol koncentrációval rendelkeztek. Hasonlóan az endogén formaldehidtartalomhoz, az azonos telephelyről származó növények azonos eredményeket produkáltak.

6.3.2.3 A kataláz aktivitás

A peroxiszómák és a glioxiszómák hidrogén-peroxid szintjének csökkentésében résztvevő kataláz az egyik leguniverzálisabb enzim, mely mind a növény-, mind az állatvilágban megtalálható. Hogy pontosabb képet kaphassunk a stressz következtében kialakuló károsodások mértékéről aktivitásának meghatározása kézenfekvőnek bizonyult. A 44. ábra a hidegstressz hatásra bekövetkező kataláz enzim aktivitás értékeit szemlélteti a kontroll növényekben mérthez képest az egyes vizsgálati években.



44. ábra A hidegstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek kataláz aktivitására.
Hibasávok: konfidencia intervallumok.

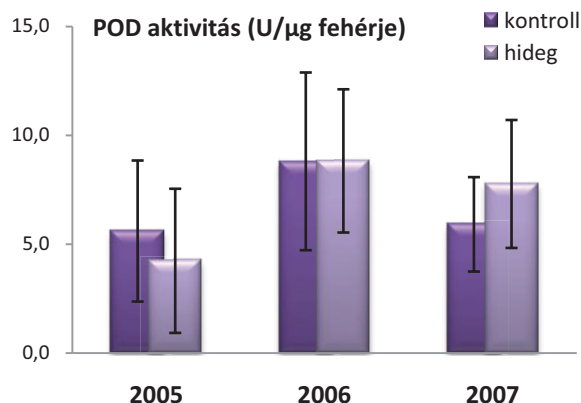
A 44. ábra alapján elmondható, hogy mindhárom vizsgálati évben a kataláz enzim aktivitása szignifikáns módon lecsökkent. Az egyes években elvégzett kísérletek eredményeire tekintettel megállapítható, hogy a vitnyédről származó makktételből nevelt tölgyek enzimaktivitása négyszerese a gyulai erdőszetből származókéénak, továbbá, hogy a vitnyédiek ugyancsak azonos értékeket mutatnak minden tekintetben.

Megállapításaimat nagymértékben megerősítik az irodalmi összefoglalóban felsorolt publikációk eltérő növényfajokra (uborka, kukorica, búza) vonatkozólag. GECHÉV *et al.* 2003-ban hasonló körülmények mellett dohányynövények levelein elvégzett hidegstressz vizsgálataiban a kataláz enzim aktivitásának redukcióját tapasztalták más enzimek (pl., POD) változatlan aktivitásával egyidejűleg.

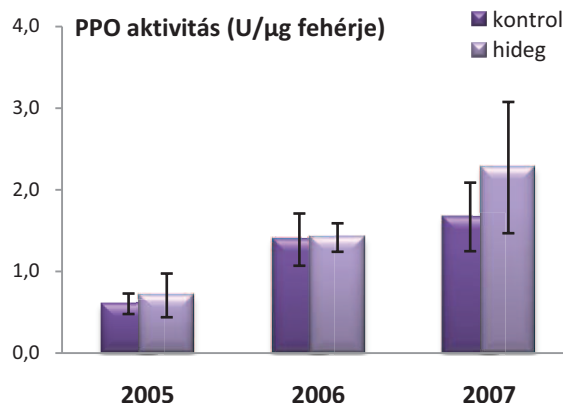
A kataláz tehát stresszérzékeny enzim, hideg hatására kocsányos tölgy csemeték leveleiben aktivitása szignifikáns módon lecsökken.

6.3.2.4 A peroxidáz és polifenol-oxidáz aktivitások

A peroxidáz és a polifenol-oxidáz ugyancsak a növényi szervezetekben előforduló univerzális enzimek közé tartoznak. Kiemelkedő jelentőségűek, mint enzimatis antioxiánok, s mindkettő részt vesz fenolos anyagok oxidálásában is. Fontos információk nyerhetők aktivitásuk meghatározásával a fenoloidtartalommal összefüggésben. A kataláz és a peroxidáz közötti kapcsolatok felderítése a stressz alatti hidrogén-peroxid-szint alakulásáról nyújthat felvilágosítást, hiszen a kataláz elsősorban a szervezet számára káros hidrogén-peroxid bontását végzi, míg a peroxidáz hidrogén-donor vegyületek oxidálásánál szubsztrátként használja fel azt. Aktivitásaik hidegstresszre bekövetkező változásai a 45. és 46. ábrán láthatóak.



45. ábra A hidegstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek peroxidáz aktivitására. Hibasávok: konfidencia intervallumok.



46. ábra A hidegstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek polifenol-oxidáz aktivitására. Hibasávok: konfidencia intervallumok.

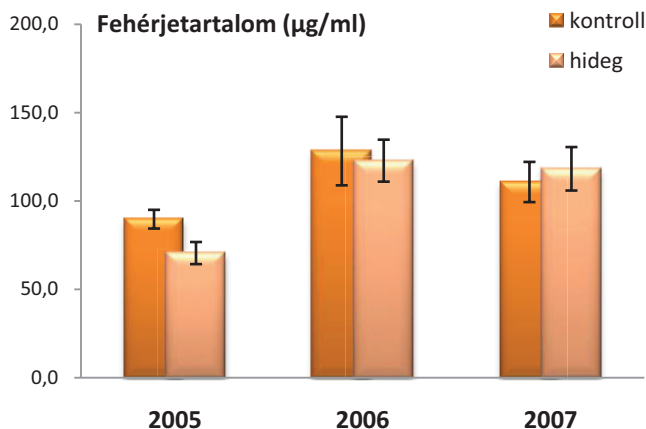
Az egyes években levelekből mért enzimaktivitások a viszonylag nagy szórásértékek miatt sem a peroxidáz, sem a polifenol-oxidáz esetében nem jeleznek meghatározó differenciákat. A peroxidázra vonatkozólag a makktételek között sincs különbség, ezzel szemben a polifenol-oxidáz aktivitásai a 2006-os és 2007-es mérési eredmények alapján szignifikánsan magasabbak. Az azonos származási körzet megintcsak azonos nagyságrendű mérési adatokat szolgáltatott.

A kataláznál már említett dohányynövény hidegstressz kísérletére hivatkozva, mérési eredményeim ebben a vonatkozásban is alátámasztást nyertek (GECHEV *et al.*, 2003). A peroxidáz enzim változatlan aktivitásokat szemléltet a csökkent kataláz értékekkel párhuzamosan.

6.3.2.5 A fehérjetartalom

A fehérjék hidrogén-peroxid általi oxidatív módosulásainak egyik következménye lehet, a fehérjék fragmentálódása. A fehérjék aminosav maradékai állandó célpontjai a stressz hatására felszabaduló szabadgyökök támadásának. A szervezet lebontó folyamatokkal védekezik a fiziológiailag inaktív fehérjék sejtekben történő felszaporodása ellen. Az oxidatív módon módosult fehérjék eltávolítása alapvető fontosságú a sejtek számára, mert az inaktív, gyakran mérgező hulladék a sejtek funkcióit gátolja (GOLDBERG, 1982).

A hidegstresszre bekövetkező fehérjetartalombeli átalakulásokat mutatja be a 47. ábra.



47. ábra A hidegstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek fehérjetartalmára. Hibasávok: konfidencia intervallumok.

A vizsgálatok első évében stresszhatásra bekövetkező fehérje-degradációt a következő évek mérései nem erősítik meg. Az időfüggő és időfüggetlen lineáris enzimkorrelációk létezésének egyik kiindulási alapfeltétele tehát teljesül, a sejtek összfehérje-mennyisége állandónak tekinthető.

A kísérleteimhez választott stresszmarkerek egyesített halmazának – az indikátorok skaláris értékeiből származtatott vektorra – hidegstressz alatti változási mintázata a 20. táblázatban látható.

20. táblázat Az indikátorok egyesített változási mintázata csemete hidegstressz vizsgálata alatt.

Kocsányos tölgy csemete hidegstressz	Endogén formaldehidtartalom	Fenoloidtartalom	KAT aktivitás	POD aktivitás	PPO aktivitás	Összfehérje-tartalom
2005: kontroll-hideg	↑	változatlan	↓	változatlan	változatlan	↓
2006: kontroll-hideg	↑	változatlan	↓	változatlan	változatlan	változatlan
2007: kontroll-hideg	↑	változatlan	↓	változatlan	változatlan	változatlan

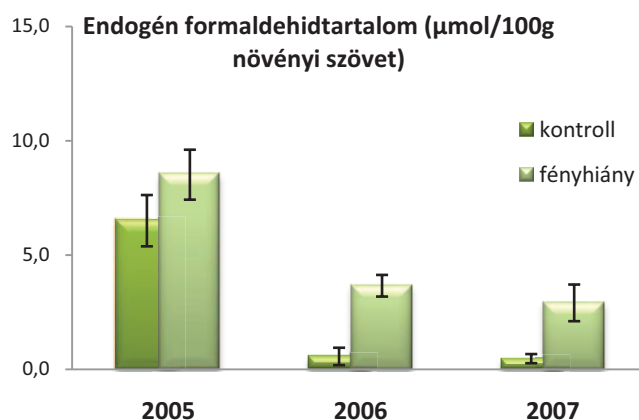
6.3.3 A kocsányos tölgy csemete fényhiánystressz vizsgálata

A növények növekedéséhez, fényre van szükség. Fejlődésüket, morfogenezisüket a gének és a környezet – elsődlegesen a fény – szoros kölcsönhatása jellemzi. Sötétben növekedésük lelassul, s morfológiai változásokon mennek keresztül. A fényhiány morfológiai és fiziológiai jegyekben egyaránt megjelenő tünetegyüttese az ún. etioláltság. A fényhiány gátolja a szövetek differenciálódását, gyorsítja az öregedési folyamatokat. A levelekben fényhiánystressz hatására fiziológiai és biokémiai változások történnek. Lassulnak az anyagszere-folyamatok, így közvetett módon a metabolitok koncentrációja is megváltozik (PETHŐ, 1993).

Az alábbi alfejezetekben hatleveles állapotú kocsányos tölgy csemeték fényhiány stresszre bekövetkező válaszreakcióit taglalom a választott kémiai paraméterek mennyiségi viszonyain keresztül. Ehhez a kísérlethez az 5.2.3 fejezetben leírt körülmények mellett kifejlett csemete növényeket időben késleltetve 72 órára sötétbe helyeztem szobahőmérsékleten. A kísérlettervezési szempontokat az előbbieken már ismertetésre kerültek. A mérésekhez ugyanazon kontroll növényekhez viszonyítva határoztam meg mindkét stresszesemény (hideg és fényhiány) hatását. A statisztikai összehasonlító vizsgálatok eredményei a 8. sz. melléklet táblázataiban találhatók.

6.3.3.1 Az endogén formaldehidtartalom

A levélszövetek endogén formaldehidtartalmának fényhiánystresszre bekövetkező kvantitatív változásait a 48. ábra mutatja be.

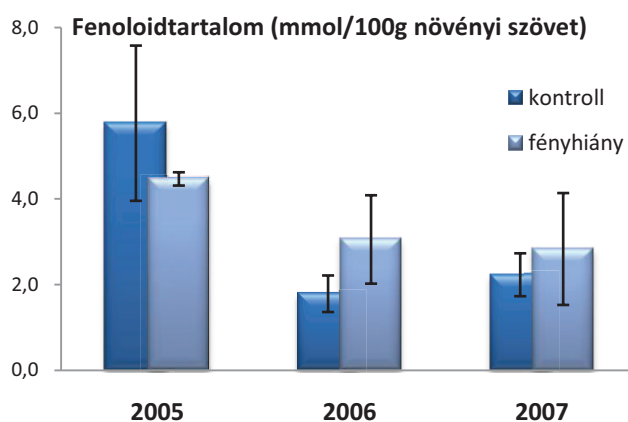


48. ábra A fényhiánystressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek endogén formaldehidtartalmára. Hibasávok: konfidencia intervallumok.

Az összefoglaló 48. ábra alapján deklarálnak, hogy a három egymást követő évben a levelek endogén formaldehidtartalma szignifikánsan megemelkedett a három napos sötétben való tárolás hatására. A makktételeket összehasonlításából kiderül, hogy az eddigi eredményekhez hasonlóan változik az egyes években a kontroll és a stresszelt növények endogén formaldehid koncentrációja. A vitnyéd környékéről származó magvak csemetái azonosan egy nagyságrenddel alacsonyabb értékeket mutatnak a gyulaihoz képest. A 2006-os és 2007-es években elvégzett méréseknél figyelemreméltó a stresszre bekövetkező koncentrációnövekmény azonos mértéke. Tehát a hidegstressznél tapasztaltak e stressz manifesztálódásakor is ugyanolyan módon jutnak érvényre.

6.3.3.2 A fenoloidtartalom

A sötétben tartott csemeték leveleinek fenoloidtartamainak kontrollhoz viszonyított értékei a 49. ábrán láthatóak.

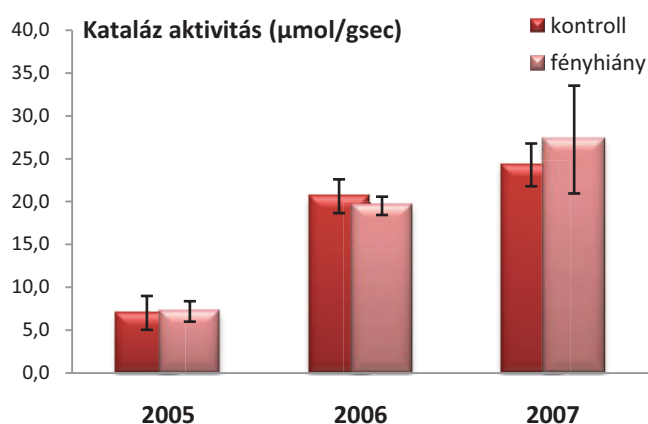


49. ábra A fényhiánystressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek fenoloidtartalmára. Hibasávok: konfidencia intervallumok.

Kijelenthető, hogy a 2005-ös és a 2007-es években végzett vizsgálatok esetében sem változott meg a kocsányos tölgy levélszövetek összes fenoltartalma, a szórásértékek nagyok. A szignifikancia vizsgálat eredményei alapján a második évi kísérletek bizonyítanak fenoltartalombeli növekedést. A hidegstressznél tapasztalt csökkenő tendencia a 2005-ben mért értékekhez képest itt is megállapítható a két utolsó évben.

6.3.3.3 A kataláz aktivitás

A növények fényviszonyokhoz való alkalmazkodása nem gyors folyamat. A bekövetkező változásokhoz sok esetben több napra van szükség (FOYER *et al.*, 1989), ezért a fényhiánystressz vizsgálatát 3 napra terveztük. A KAT aktivitásokat a 50. ábra szemlélteti.



50. ábra A fényhiánystressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek kataláz aktivitására.
Hibasávok: konfidencia intervallumok.

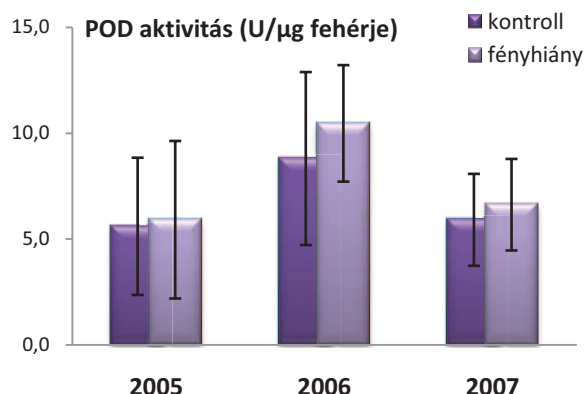
Az összefoglaló ábra alapján a kataláz enzim 72 órás fényhiánystresszre bekövetkező bármilyen változása nem igazolható vissza. A makktételek közötti különbségek azonosak a hidegstressznél tapasztaltakhoz.

Az alacsony és nagy fényintenzitást összehasonlítva, számos tanulmány szerint a napos levelekből mért antioxidáns enzimek aktivitása többszöröse az árnyékosokéból mértnek. REDINBAUGH és SCANDALIOS (1990) a kataláz enzim szokatlan cirkadián ritmusát állapították meg 12 órás fotoperiódus alatt nevelt kukorica levelekből. A kései sötét és a korai fényszakaszban az enzim aktivitásának rendkívül alacsony értékeit, míg a fényszakasz végén, illetve a sötét szakasz kezdetekor magas aktivitásokat tapasztaltak. Borsó kataláz aktivitása egy nap sötétben való tartás után változatlan maradt, csak a második nap okozott szignifikáns növekedést aktivitásában (MATAMOROS *et al.*, 1999).

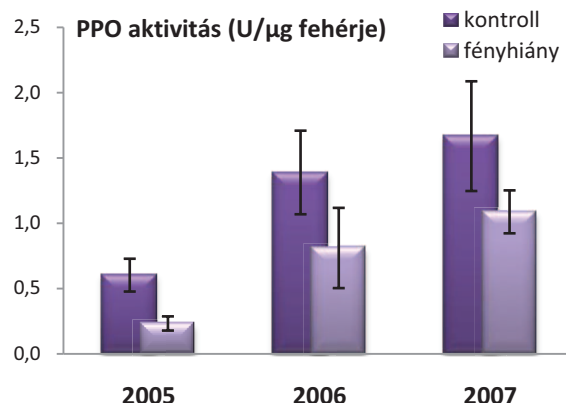
Tehát a mért aktivitást nagyban befolyásolja a stressz időtartama és a vizsgált növényfaj. Kocsányos tölgy esetében a három nap után meghatározott enzimaktivitások nem mutatnak eltérést a fényhiánystressz esetében.

6.3.3.4 A peroxidáz és polifenol-oxidáz aktivitások

Az eddig vizsgált jelzőmolekulák (KAT, fenoloidtartalom) mennyiségi változásaiban tapasztalt tendencia a két enzim aktivitásának előírt megváltozását kell, hogy indukálják. A fenoltartalombeli növekedéshez csökkent PPO aktivitás, míg a változatlan kataláz aktivitásokhoz megnövelt POD aktivitás prognosztizálható. A peroxidáz aktivitásai az 51. ábrán, a polifenol-oxidázé az 52. ábrán láthatók.



51. ábra A fényhiánystressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek peroxidáz aktivitására. Hibasávok: konfidencia intervallumok.

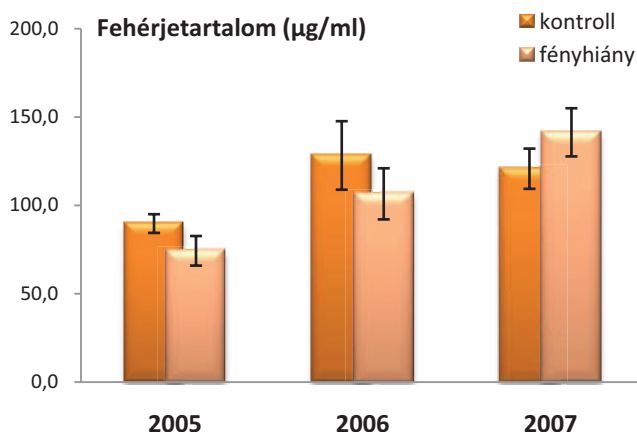


52. ábra A fényhiánystressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek polifenol-oxidáz aktivitására. Hibasávok: konfidencia intervallumok.

A peroxidáz aktivitás egyik évben sem változott meg szignifikánsan a fényhiánystressz hatására, ami az egyedi sajátágokból fakadó nagy szórásértékeknek tudható be. Ezzel szemben a polifenol-oxidáz a várt csökkenést igazolta, aktivitásai mindhárom évben felére csökkentek a stressz következtében. A száramazási körzetek vonatkozásában a peroxidázra nézve konkrét következtetéseket levonni nem lehet, a polifenol-oxidáz azonban, hasonlóan a kataláz enzimhez, nagyobb aktivitásokat mutatott a 2006-os és 2007-es években a Gyulai Erdészeti Rt. száramazó magvak csemeteiben meghatározotthoz képest. A Kisalföldi Erdészeti Rt. vitnyédi telephelyéről száramazóké mindkét évben azonos értékeket mutatott.

6.3.3.5 A fehérjetartalom

A kloroplasztiszok fehérjeszintézisének intenzitása sötétben már az első nap után jelentős mértékben lecsökken, a fényhiány tehát a kloroplasztiszok károsodásához vezet. Tekintve, hogy a levelek fehérjetartalmának nagy része a kloroplasztiszokban szintetizálódik, ezért a sötétség, az árnyékos környezet a levelek idő előtti öregedéséhez vezet (PETHŐ, 1993). A POD és PPO enzimek aktivitásainak vonatkoztatási alapjául szolgáló összfehérje mennyiségének értékeit az 53. ábra foglalja össze az egyes vizsgálati évek függvényében.



53. ábra A fényhiánystressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek fehérjetartalmára. Hibasávok: konfidencia intervallumok.

Látható, hogy az előjelzett fehérjemennyiségbeli csökkenést az első évben elvégzett kísérletek eredményei produkálták szignifikáns módon. A második és harmadik évben a szórásértékek nagy értéke miatt a kontroll állapothoz képest nem mutathatóak ki a differenciák fényhiánystressz folyamán. Borsó növények már említett ugyanilyen vonatkozású tanulmányozásakor a fehérjetartalom az első napra szignifikánsan redukálódott, majd a második napon ehhez képest változatlan maradt és a negyedik nap már nem okozott számottevő különbséget értékében (MATAMOROS *et al.*, 1999).

A kísérletekhez alkalmazott biokémiai markerek egyesített változási mintázata a 21. táblázatban látható.

21. táblázat Az indikátorok egyesített változási mintázata csemete fényhiánystressz vizsgálata alatt.

Kocsányos tölgycsemete fényhiánystressz	Endogén formaldehidtartalom	Fenoloidtartalom	KAT aktivitás	POD aktivitás	PPO aktivitás	Összfehérjetartalom
2005: kontroll-fényhiány	↑	változatlan	változatlan	változatlan	↓	↓
2006: kontroll- fényhiány	↑	változatlan	változatlan	változatlan	↓	változatlan
2007: kontroll- fényhiány	↑	változatlan	változatlan	változatlan	↓	változatlan

Összefoglalásként elmondható, hogy egyértelmű összefüggés a stresszvizsgálatoknál 2005-ös (hidegstressz és fényhiány stressz), 2006-os évben (kontroll) volt az endogén formaldehid és a fenoloidok mennyisége között, valamint a második évben a formaldehid vs. POD (kontroll, hidegstressz), és a fenoloid koncentráció vs. POD aktivitás (kontroll, hideg, fényhiány), illetve a PPO aktivitás (kontroll, fényhiány) között. A vizsgálat harmadik évében hidegsokk esetében jó határozottsági fokú lineáris kapcsolat állapítható meg az endogén formaldehidtartalom és a PPO aktivitás értékei között (11. sz. melléklet).

6.3.4 A kocsányos tölgy csemete szárazságstressz vizsgálata

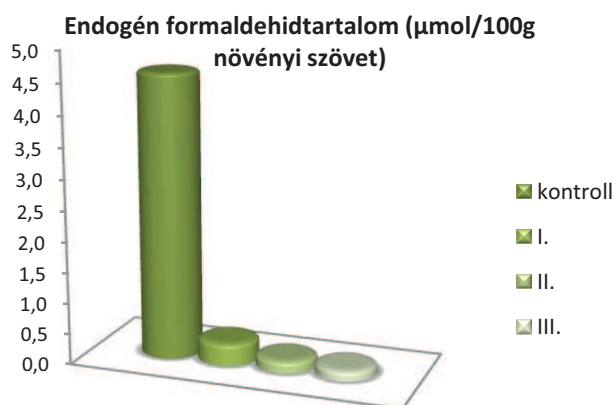
A víz általános életfeltétel, ezért hiánya szelekciós tényezőként hat a növények adott termőhelyen való előfordulásában. Morfológiai, fiziológiai és biokémiai adaptáción keresztül a növények alkalmazkodni képesek a megváltozott környezeti feltételekhez. Az adott termőterület vízellátottsága nemcsak a növények elterjedését, hanem a termesztendő fajokat, fajtákat is meghatározza. Természetesen közöttük jelentős különbségek vannak alkalmazkodóképesség tekintetében. Azonos mértékű vízdeficitet egyes növények érzékenyebben, mások jobban elviselnek. Aszályos időszakokban csökken a talaj felvehető vízkészlete, ami az aktívabb párologtatás következménye. Kritikus csökkenésével a növény gyökerének és levelének vízpotenciálja tartósan és nagymértékben lesüllyed, aminek hatására a levelek hervadásnak indulnak. Az egyes anyagcsere-folyamatok eltérő érzékenységek adott szöveti vízpotenciál süllyedésre. Már kismértékű vízhiány esetén is leáll a sejtosztódás és a sejtnagyobbodás, a sejtfal anyagainak szintézise, lassul a fehérjeszintézis. Morfológiai következményként, csökken a levelek asszimilációs felülete. Mindezekon túl a vízhiány hatást gyakorol a fotoszintézisre, a légzésre és a szervesanyag-akkumulációra, tápanyagfelvételre. A sztomák bezáródnak, csökken a fotoszintézis intenzitása, melyet a levelek csökkent széndioxid ellátottsága, valamint a citoplazma ultrastrukturális károsodásával járó enzimaktivitásbeli csökkenés együttesen eredményeznek (PETHŐ, 1993).

A kocsányos tölgy a szárazságtűrő fajok közé sorolható, mely kiterjedt gyökérzetének köszönhető. A vízhiány hatásának modellezésére a hatleveles állapotú csemetétet kifejlődésükig hetente egyszer azonos térfogatú vízzel locsoltam. Majd megszüntetve a vízellátást, heti mintavételezéssel vizsgáltam a stressz lefolyását a választott marker

paraméterek mennyiségi változásán keresztül (1. sz. melléklet/3.-4. ábra). Az alábbi fejezetekben a szárazságstressz mérési eredményeit taglalom.

6.3.4.1 Az endogén formaldehidtartalom

Az eddigi vizsgálatok alapján rendkívül stresszérzékenynek minősülő endogén formaldehidtartalom szárazságstressz hatására bekövetkező kvantitatív változásait az 54. ábra mutatja be. A 22. táblázatban az endogén formaldehid koncentrációk átlagai és közöttük lévő statisztikai eltérések, valamint a mintaszámok láthatók.



54. ábra A szárazságstressz hatása kocsányos tölgy leveleinek endogén formaldehidtartalmára.

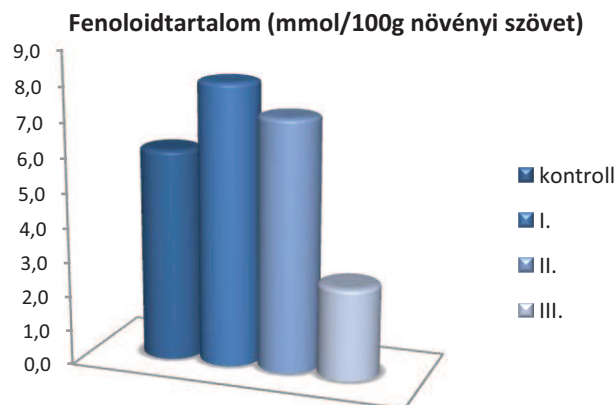
22. táblázat Kocsányos tölgy csemete leveleinek endogén formaldehidtartalma szárazságstressz alatt.

kontroll	I.	II.	III.
4,616 ^a	0,357 ^b	0,192 ^b	0,164 ^b

Látható, hogy a kontroll növény magas endogén formaldehidtartalma már az első mintavételezés alkalmával rendkívül alacsony értékre csökkent, s ezután koncentrációja már nem is változott meg számottevően. A vízhiány során tehát az endogén formaldehidképző potenciál redukálódott. A növény metilezési és demetilezési folyamatai közötti egyensúly felborult. Az endogén formaldehidtartalom csökkenése a csemete szárazságstresszre bekövetkező demetilezési folyamatainak háttérbe szorulására utal. A növény ellenállóképessége a fiziológiás kiindulási érték alá esik, krónikus tünetek jelennek meg rajta, melyet a növény pusztulása követ. A stressz lefolyása alatt a csemeték apoptózis közeli állapotba kerültek, a folyamat visszafordíthatatlanná vált.

6.3.4.2 A fenoloidtartalom

Az eddigi stresszvizsgálataimban sem a hideg, sem a fényhiány nem okozott jelentős mértékű változást a fenoloidok összmenyiségében. A szárazság időben végig követett válaszreakcióit fenoltartalomra való tekintettel az 55. ábra szemlélteti. A 23. táblázat a fenoloidtartalom átlagértékeit, mintaszámait és szignifikáns eltéréseit tartalmazza.



55. ábra A szárazságstressz hatása kocsányos tölgy leveleinek fenoloidtartalmára.

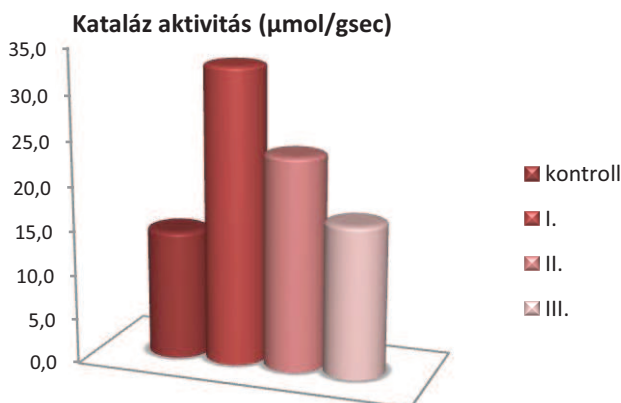
23. táblázat Kocsányos tölgy csemete leveleinek fenoloidtartalma szárazságstressz alatt.

kontroll	I.	II.	III.
6,135 ^a	8,136 ^a	7,266 ^a	2,658 ^b

Az 55. ábra jól szemlélteti a fenoloidtartalom csökkenő koncentrációját a stressz lefolyása során. A biológiai rendszer a stressz hatására a fenolos anyagokat termelő folyamatok intenzitását csökkenti, a fenoloidok mennyisége harmadára esik vissza a stressz kimerülési szakaszában. Tehát a fenoloidtartalomban gyakorlatilag nem következik be szignifikáns változás a vizsgálat második időpontjáig, ezt követően értéke drámai módon redukálódik.

6.3.4.3 A kataláz aktivitás

A hidegstresszre bekövetkező kataláz aktivitásbeli csökkenés, s a fényhiány esetében tapasztalt változatlan értékek a kataláz enzim aktivitásának stresszérzékenységére utalnak, melyet az adott stresszesemény minősége, a stressz időtartama és még számos tényező egyidejűleg befolyásol. Az irodalmi hivatkozásokban közölt megemelt antioxidáns aktivitás tanulmányozására meghatároztam a levelek kataláz enzim aktivitását. A kapott eredményeket az 56. ábrán foglaltam össze, a 24. táblázatban pedig a kataláz aktivitás átlagai, statisztikai különbségei, és a vizsgált növényi mintaszámok találhatók.



56. ábra A szárazságstressz hatása kocsányos tölgy leveleinek kataláz aktivitására.

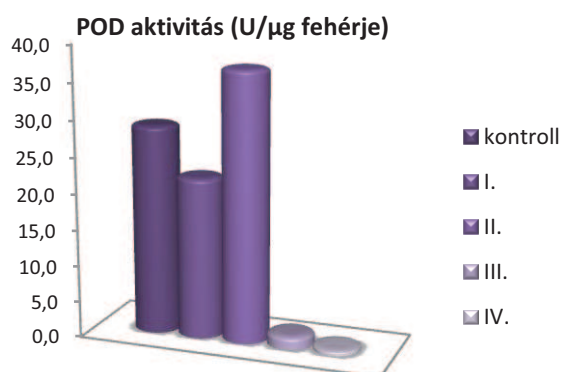
24. táblázat Kocsányos tölgy csemete leveleinek kataláz aktivitása szárazságstressz alatt.

kontroll	I.	II.	III.
14,515 ^a	33,209 ^b	23,927 ^{bc}	17,039 ^{abd}

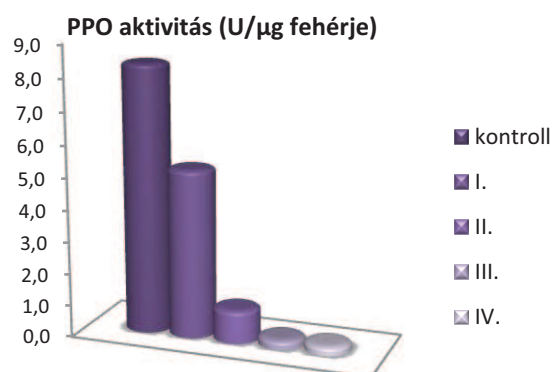
Az első mérési pontban az enzim aktivitása több mint kétszerese a kiindulási állapotban mértnek, ami feltehetőleg a stressz hatására felboruló antioxidánsok és prooxidánsok közötti egyensúly során felszaporodó AOF közömbösítésében aktívan résztvevő enzim működésének következménye. Ezt követően intenzitása a harmadik mérési pontban szignifikánsan lecsökken. A vízhiány mértéke ebben a pontban már olyan mértékű, hogy a növény apoptózis közeli állapotba kerül, amit a csökkent enzimaktivitási értékek abszolút visszatükröznek. A reaktív oxigénformák felszaporodását a sejt már nem képes szabályozni, s ennek következtében a növény elpusztul. Olajfákra vonatkozóan is ilyen eredményeket kaptak (SOFO *et al.*, 2005, 2007)

6.3.4.4 A peroxidáz és polifenol-oxidáz aktivitások

Az eddigi tapasztalatok tükrében a POD és PPO enzimek aktivitásainak vizsgálata kiszélesítheti annak a lehetőségét, hogy a szárazság alatt lezajló anyagcsere-folyamatokról komplexebb képet kaphassunk. Az 57.-58. ábrákon e két enzim aktivitásait mutatom be a vízhiány időtartamának függvényében. A későbbi korrelációs vizsgálatok finomabb felosztása érdekében e vizsgálat során beiktattunk egy további mérési pontot a kontroll és az eddig I.-es állapottal jelzett pontok közé. Ebben az időpontban a csemetét 10 napos vízhiánystressz érte. A 25. táblázatban a párhuzamos mérések száma, az enzimaktivitások átlagértékei és a közöttük lévő szignifikáns eltérések láthatók.



57. ábra A szárazságstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek peroxidáz aktivitására.



58. ábra A szárazságstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek polifenol-oxidáz aktivitására.

25. táblázat Kocsányos tölgy csemete POD és PPO aktivitása szárazságstressz alatt.

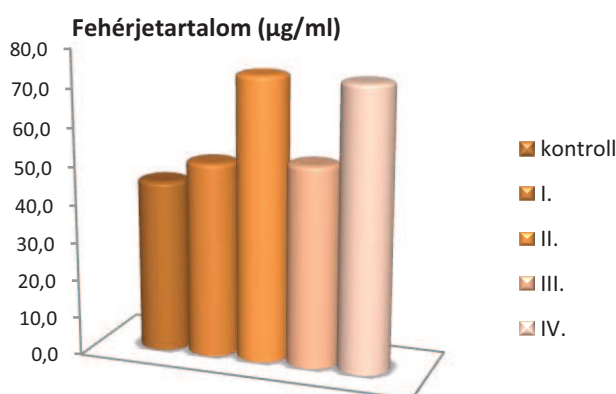
	kontroll	I.	II.	III.	IV.
POD	28,852 ^a	22,223 ^a	37,086 ^a	1,759 ^b	0,637 ^b
PPO	8,367 ^a	5,253 ^b	1,031 ^c	0,281 ^c	0,279 ^c

A peroxidáz enzim esetében az első két mérési pontig bekövetkező vízdeficit nem okoz változást az enzim működésében. Aktivitása változatlan marad, majd ezt követően egy nagyságrendi tartományt felölelő csökkenés tapasztalható értékében. A polifenol-oxidáz aktivitása ezzel szemben szignifikáns mértékű fokozatos csökkenésen megy keresztül. Már az első vizsgálati alkalom után aktivitása közel felére esik vissza, ami aztán tovább redukálódik, s hasonlóan a POD-hoz alig detektálható szinten állandósul.

Ugyanílyan eredmények születtek az irodalmi összefoglalóban már megemlített olíva facsemeték szárazságstressz vizsgálata során (SOFO *et al.*, 2005, 2007). A KAT és POD magas aktivitásával párhuzamosan a PPO aktivitása csökkenő tendenciát követett.

6.3.4.5 A fehérjetartalom

A vízhiányban szenvedő növények fehérjeszintézise jelentősen mérséklődik, amit a csökkent víztartalmú szövetek alacsonyabb poliriboszóma számának tulajdonítanak (PETHŐ, 1993). A 59. ábrán a szárazságstressz alatti összfehérje-tartalmak láthatók, a 26. táblázat a statisztikai eredményeket foglalja össze, mintaszámokkal és átlagértékekkel.



59. ábra A szárazságstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek fehérjetartalmára.

26. táblázat Kocsányos tölgy csemete leveleinek fehérjetartalma szárazságstressz alatt.

kontroll	I.	II.	III.	IV.
45,318 ^a	51,182 ^a	74,313 ^a	52,668 ^a	73,883 ^a

Vizsgálataim alapján az irodalmakban közölt fehérjetartalombeli csökkenés nem mutatható ki (FAZELI *et al.*, 2007). Gyakorlatilag állandónak tekinthető a sejtek összfehérjemennyisége, mely tapasztalat jelentős értelmet az enzimkorrelációk létezésének bizonyításánál kapott.

A választott indikátorok egyesített adathalmazának szárazságstressz alatti változási mintázata a 27. táblázatban található.

27. táblázat Az indikátorok egyesített változási mintázata csemete szárazságstressz vizsgálata alatt.

Kocsányos tölgy csemete szárazságstressz	Endogén formaldehidtartalom	Fenoloidtartalom	KAT aktivitás	POD aktivitás	PPO aktivitás	Összfehérje-tartalom
kontroll-I.	↓	változatlan	↑	változatlan	↓	változatlan
kontroll-II.	↓	változatlan	↑	változatlan	↓	változatlan
kontroll-III.	↓	↓	változatlan	↓	↓	változatlan
kontroll-IV.				↓	↓	változatlan

A paraméterek egyesített halmazán kölcsönhatások az endogén formaldehidtartalom és fenoloidtartalom között értelmezhetők, valamint a POD és PPO enzimek esetében csökkenő tendencia szerint (11. sz. melléklet).

6.3.5 A stressz jellemzése enzimkorrelációs vizsgálatokkal

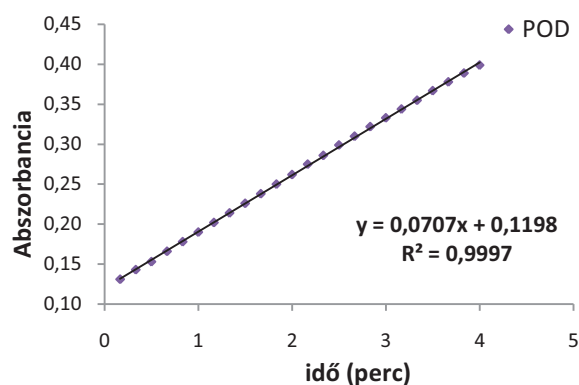
A növényi stressz szignifikáns változásokat képes előidézni az anyagcserében, ami magában foglalja az enzimaktivitások értékeinek, ill. az aktivitás eloszlások paramétereinek az „előírt” megváltozását. A növényi enzimek aktivitásának mérésével a stresszt érzékelni és lefolyását nyomon követni lehet. Az enzimaktivitások értékeivel történő stressz-jellemzés általánossá és elterjedté válását, azonban a mérési eredmények viszonylag nagy, elsősorban az

időfüggetlen eloszlásból származó szórásértékei, valamint az egyedi sajátságokból fakadó eltérések jelentősen korlátozzák. Két aktivitás átlagérték közötti szignifikáns eltérés kimutatása, így sok esetben nagyszámú párhuzamos mérés végrehajtását igényli, ami a relatív nagy szórás összehasonlítást rontó szerepét statisztikailag kompenzálja.

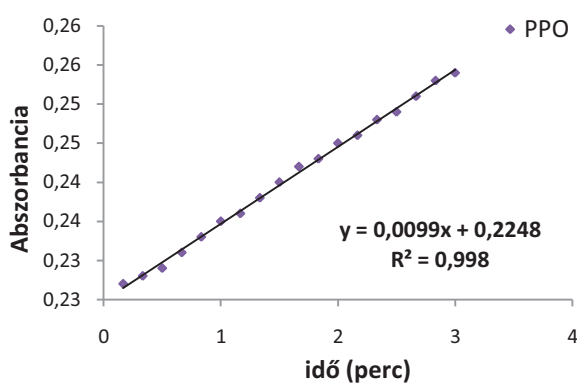
Az enzimaktivásokon alapuló hatékony stressz-minősítő értékelési rendszerek kidolgozásának alapfeltétele a mérési eredmények szórásának csökkentése. A statisztikai összehasonlítás javításához, ill. a nagy szórások szerepének kiküszöböléséhez feltétlenül szükséges ismerni az enzimaktivások eltéréseinek okait, ill. eredetét. Adott környezeti körülmények mellett és adott fejlődési állapotban egy növényfaj egyedei között tapasztalt aktivitás eltéréseket gyakran a fajon belüli egyedi jellegzetességet visszatükröző információként kezeljük. Hasonló, de kisebb mértékű aktivitásshórás jellemzi egy egyed adott szöveti struktúrájának különböző mintarészleteit is. Az aktivitás szórását az analitikai módszer véletlen hibája, a fejlődési állapot behatárolásának bizonytalansága és a biológiai minták eltérő anyagcsere-intenzitásai eredményezik. A három szórásr előidézó hatás között a sejtek közötti anyagcsere-folyamat intenzitás-eltérései a domináns szerepűek. Így a stressz-vizsgálatok enzimaktivásokkal történő minősítésénél a módszer hatékonyságát fokozni leginkább a metabolizmus intenzitás-eltéréseinek háttérbe szorításával lehetséges.

Enzimaktivások időtől független lineáris korrelációjának eredetvizsgálatában a peroxidáz és a polifenol-oxidáz, Michaelis-Menten katalitikus hatású enzimeket választottuk. Az enzimaktivások a biológiai mintákban állandó összfehérje-tartalom mellett eltérő értékekkel rendelkeznek. Az alkalmazott aktivitás meghatározási módszernél biztosítottuk, hogy a szubsztrátok koncentrációi legalább két nagyságrenddel nagyobbak legyenek enzimjeik Michaelis konstans értékeinél, így a biokémiai reakciók sebességei a Briggs-Haldane összefüggés zérus-rendű tartományába tolnak. Figyelembe véve a szövetekben mért enzimaktivások eloszlásának normál jellegét és értékeiknek legalább egy nagyságrendi tartományra kiterjedő megjelenésüket, továbbá a növényi anyagcsere szöveten belüli inhomogenitását, az időfüggetlen lineáris enzimkorrelációk érzékelésének szükséges feltétele, hogy az aktivitások mérése ugyanabból a növényi kivonatból történjék.

E kísérletes kikötések teljesülése esetén és alloszterikus hatás hiányában a fotometriásan nyomon követett biokémiai reakció időben egyenletes termékkoncentráció változásról tájékoztat bennünket (60.a. és 61.b. ábra).



60.a. ábra A POD enzim abszorbancia változása az idő függvényében.



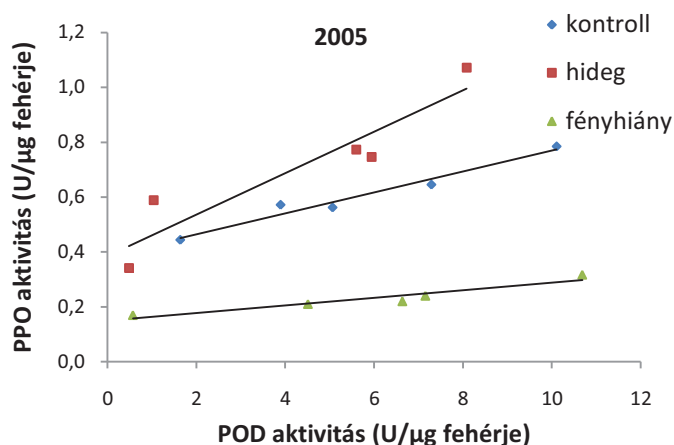
61.b. ábra A PPO enzim abszorbancia változása az idő függvényében.

A reakciósebességek jó közelítéssel egyenesen arányosak az enzimek koncentrációival. Ezen enzimek lineáris regresszió analízisekor a korrelációk abban az esetben fedik fel magukat, ha a biológiai rendszer az enzimek aktivitását egymáshoz viszonyítva arányosan szabályozza. A POD és PPO enzimek aktivitásainak korrelációját

hideg-, fényhiány-, valamint szárazságstressz alatt vizsgáltam. Az enzimaktivitási regressziós egyenesekkel szemléltetett korrelációk paramétereinek változása visszautal az anyagcsere-szabályozásban bekövetkező változásokra. A környezeti tényezők változása a szabályozási mechanizmusokon keresztül befolyásolja a PPO-POD enzimkorreláció meredekségét, tengelymetszetét, a regresszió határozottsági fokát és a mért enzimaktivitások által behatárolt regresszió érvényességi tartományát.

6.3.5.1 A hideg és fényhiánystressz enzimkorrelációs vizsgálata

Az előző fejezetekben tapasztalt mérési eredmények különböző eredetű relatíve nagy szórásértékei, valamint a két enzim működésében tapasztalt arányos szabályozás vezetett arra, hogy aktivitásaik között lineáris korrelációt feltételezzünk és keressünk. Az 61. ábrán a 2005-ben kocsányos tölgy csemétéken elvégzett hideg- és fényhiánystressz esetében kapott lineáris regressziós analízis eredményei láthatóak. Az ábrán az egyes pontok egy-egy csemete összes leveléből készített átlagminta három párhuzamos mérésből kapott aktivitás értékpárjait azonosítja.



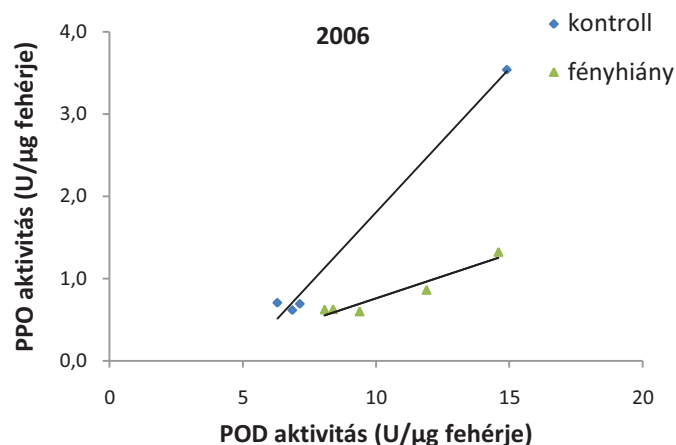
61. ábra A kocsányos tölgy csemete enzimkorrelációs egyenesei hideg és fényhiánystressz alatt 2005-ben.

A korrelációs egyenesek egyenletei és határozottsági fokai:

kontroll: $PPO = 0,0381 \text{ POD} + 0,3883$ $R^2 = 0,9650$
hideg: $PPO = 0,0755 \text{ POD} + 0,3849$ $R^2 = 0,8723$
fényhiány: $PPO = 0,0139 \text{ POD} + 0,1490$ $R^2 = 0,9099$.

A regressziós egyenesek meredekségeinek összehasonlítására kovariancia analízist végeztem (9. sz. melléklet), mely vizsgálat eredményei alapján megállapítható, hogy a stressz hatására az egyenesek meredekségeiben szignifikáns eltérések következnek be. Az egyenesek 0.9-es érték körüli határozottsági fokai az anyagcsere erőteljes szabályozottságára utalnak. Hidegstressz hatására a PPO enzim aktivitásainak abszolút értékei között statisztikai eltérés nem áll fenn. A 61. ábra jól szemlélteti azt a megállapítást, hogy a korreláció paraméterei (pl. a regresszió meredeksége) akkor is szignifikáns eltérést mutatnak, amikor az a levél anyagcsere heterogenitása eredményeként az aktivitások átlagértékeinek statisztikai összehasonlítása statisztikai eltérést, s így stressz-hatás fennállását nem támaszt alá.

Kísérleteinket a következő évben az eltérő termőhelyről származó maktételből nevelt csemetékkel megismételtük. A kapott eredményeket az 62. ábra szemlélteti.



62. ábra A kocsányos tölgy csemete enzimkorrelációs egyenesei fényhiánystressz alatt 2006-ban.

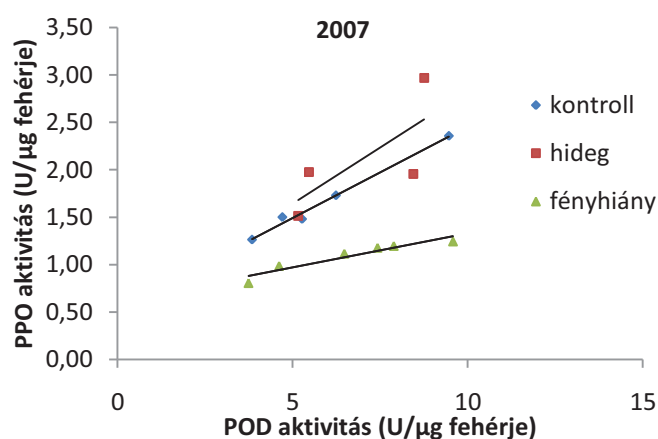
A korrelációs egyenesek egyenletei és határozottsági fokai:

kontroll: $PPO = 0,3494 \text{ POD} - 1,6870$ $R^2 = 0,9903$

fényhiány: $PPO = 0,1071 \text{ POD} - 0,3103$ $R^2 = 0,9196$.

A várt eredményeket hidegstressz esetében reprodukálni nem tudtunk, ami valószínűsíthetőleg a kísérleti körülmények pontatlan beállításának tudható be (fagyasztó hőmérséklete). Azonban mind a kontroll, mind a fényhiánystressz során kapott peroxidáz és polifenol-oxidáz enzimek aktivitás adatpont-párjaira nagyon jó közelítéssel (≥ 0.9) lineáris regressziós egyenesek illeszthetők. Az egyenesek meredekségei szignifikánsan eltérnek egymástól, tehát a növényi sejt a stresszhatásra bekövetkező anyagcsere-folyamatokat enzimaktivitásainak egymáshoz viszonyított arányán keresztül szabályozza (9. sz. melléklet). Az enzimek aktivitásának abszolút értékei között szignifikáns eltérések nem mutatkoztak. Tehát a korrelációs analízis ebben az esetben is alkalmas volt az adott környezeti hatás leképezésére.

Az ugyancsak Vitnyéd vonzáskörzetéből beszerzett makktétel esetében ugyanolyan kísérleti körülmények között nevelt csemete növényeket hideg és fényhiánystressznek kitéve az alábbi lineáris regressziós eredményeket kaptuk (63. ábra).



63. ábra A kocsányos tölgy csemete enzimkorrelációs egyenesei hideg és fényhiánystressz alatt 2007-ben.

A korrelációs egyenesek egyenletei és határozottsági fokai:

kontroll: $PPO = 0,1925 \text{ POD} + 0,5289$ $R^2 = 0,9883$

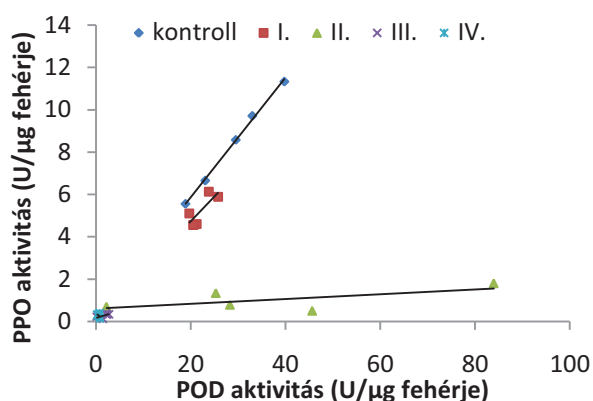
hideg: $PPO = 0,2367 \text{ POD} + 0,4569$ $R^2 = 0,5401$

fényhiány: $PPO = 0,0722 \text{ POD} + 0,6082$ $R^2 = 0,9005$.

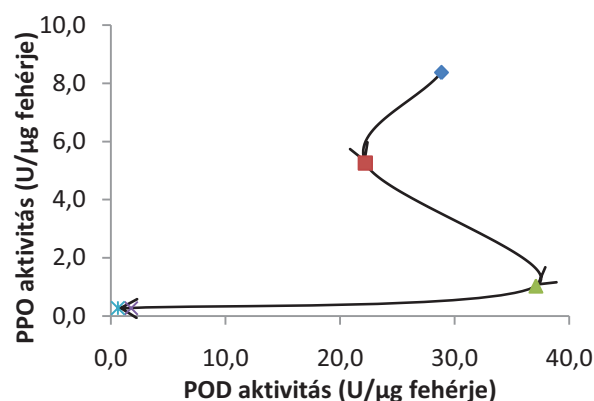
A kapott eredményeket kiértékelve a következő megállapítások tehetők. A kovariancia analízis alapján a korrelációs egyenesek meredekségei között a kontroll és a fényhiánystressz esetében szignifikáns eltérések vannak, hasonlóan az elmúlt évek tapasztalataihoz (9. sz. melléklet). A határozottsági fokok a kontrollra és a fényhiánystresszre vonatkozólag 0.9 felettiek, ami a szabályozás robosztus jellegéről nyújt felvilágosítást. A hidegstressz esetében tapasztalt gyengébb határozottsági fok a biológiai rendszer szabályozott vezérlésének gyengülését jelzi. A kontrollhoz képest hidegstressznél meredekség növekedést, míg fényhiánystressznél csökkenés tapasztalható az egyenesek meredekségét illetően mindhárom év kísérleti eredményeit összehasonlítva.

6.3.5.2 A szárazságstressz enzimkorrelációs vizsgálata

Annak érdekében, hogy az időben nyomon követett stresszvizsgálatoknál tapasztalható enzimkorreláció minőségéről képet kaphassunk, a szárazságstressz enzimaktivitásainak regresszió analízisét is elvégeztem, melynek eredményeit a 64. ábrán foglaltam össze. A 65. ábra a regressziós egyenesek súlypontjainak enzimaktivitási síkban történő vándorlását mutatja be.



64. ábra A kocsányos tölgy csemete enzimkorrelációs egyenesei szárazságstressz alatt.



65. ábra A korrelációs tartományok súlypontjának dinamikája a szárazságstressz alatt.

A korrelációs egyenesek egyenletei és határozottsági fokai:

kontroll:	$PPO = 0,2824 \text{ POD} + 0,2199$	$R^2 = 0,9977$
I.:	$PPO = 0,2320 \text{ POD} + 0,0969$	$R^2 = 0,6378$
II.:	$PPO = 0,0113 \text{ POD} + 0,6117$	$R^2 = 0,4134$
III.:	$PPO = 0,0618 \text{ POD} + 0,1720$	$R^2 = 0,3430$
IV.:	$PPO = -0,1415 \text{ POD} + 0,3689$	$R^2 = 0,1203$

Az enzimkorrelációs vizsgálat alapján megállapítható, hogy a kontroll és az I. állapotok között a regressziós egyenesek meredekségei között nincs szignifikancia, mint ahogyan az abszolút értékeik között sem PPO-ra vonatkozóan (10. sz. melléklet). Azonban a regresszió érvényességi tartománya jelentősen lecsökken. A kontroll állapothoz képest a II. időpontban a meredekség és az érvényességi tartomány is drasztikusan megváltozik. Míg a PPO aktivitás lecsökken, addig a POD aktivitás növekszik, a korrelációs egyenes meredeksége egy nagyságrenddel lecsökken. A kontroll és a III. állapot között szintén szignifikáns a meredekségek közötti differencia, a regressziós egyenes adatai gyakorlatilag egy pontban, az origo környezetében csoportosulnak, hasonlóan a IV. mérési ponthoz. Az egyenesek határozottsági foka egyenletes mértékben lecsökken a stressz lefolyása alatt (R^2 : 0,9; 0,6; 0,4; 0,3; 0,1). A regressziós egyenesek súlypontjainak enzimaktivitási síkban történő vándorlásáról megállapítható, hogy a szárazságstressz a kezdeti enzimaktivitás csökkenést

követően a fokozódó hatás következményeként növekszik, majd a súlypont a nullába tart, mely eklatáns példája a Selye-féle stressz-szindróma kifejeződésének. A regressziós tartományok módosulásai a stressz manifesztálódása folyamán arról tájékoztatnak, hogy a sejt az anyagcsere-intenzitás módosításán keresztül is reagál a stresszre. A kizáradás mértékének növekedésével ez a tartomány jelentősen beszűkül, ami a növény pusztulásának következményeként jelentkezik.

IV. ÖSSZEFOGLALÁS

7. AZ ELVÉGZETT KÍSÉRLETES MUNKA ÖSSZEGZÉSE

Az erdőtelepítési programok megvalósíthatóságának alapvető feltétele az egyenletes szaporítóanyag- és csemeteellátás biztosítása. Ehhez szükséges a szaporítóanyag minőségromlás nélküli tárolása, a tárolt makktétel minőségének jellemzése, valamint a környezeti hatásokhoz leginkább alkalmazkodni képes egyedek kiválasztása. Ismernünk kell, hogy adott termőhelyen a környezeti paraméterek hirtelen változásából eredő stresszhatások, milyen válaszokat indukálnak az egyes növényfajokból. Elengedhetetlen feladat tehát, az egyedek biológiai állapotának jellemzéséhez olyan gyors, hatékony, könnyen kivitelezhető mérési módszerek kidolgozása, melyek a növények egyedi élete során a környezeti feltételek megváltozásából adódó hatásokat egzakt módon visszatükrözik.

Kutatásaim célja a kocsányos tölgy tárolása és korai ontogenezise folyamán bekövetkező abiogén hatások leképezése, valamint egyedfejlődése folyamán lezajló élettani folyamatok nyomon követése volt. A válaszott markerek az endogén formaldehidtartalom, az összes fenoloidtartalom, összfehérje-tartalom, illetve a kataláz, peroxidáz, és polifenol-oxidáz enzimek aktivitása.

Az endogén formaldehidtartalom mérésével az enzimkatalizált szubsztitúciós reakciók csoportjába tartozó transzmetilezési folyamatokban bekövetkező változásokról nyerhető információ, mely minden biológiai rendszer közös és általános tulajdonsága. A metilezési-demetilezési folyamatok, többek között enzimek és szubsztrátok biológiai aktivitását befolyásolják. A biológiailag aktív anyagok metil-csoportjainak transzfere a formaldehid cikluson keresztül endogén formaldehid közti termék keletkezése közben valósul meg. A sejtek transzmetilezési folyamatait az endogén formaldehid ciklus paraméterein keresztül a környezeti hatások jelentősen befolyásolják. Az endogén formaldehidtartalom mérésével a transzmetilezésben bekövetkező változások nyomon követhetőek.

A növényvilág elterjedt metabolitjai közé tartozó fenolos anyagok nagy jelentőségűek az élettani folyamatokban, az anyagcsere-folyamatok irányításán keresztül a sejtosztódás, növekedés, érés, öregedési folyamatok befolyásolásában, a stresszválaszban. Kiemelkedő szerepük van a különböző eredetű aktív oxigénformák semlegesítésében.

A kataláz jelentős szerepet játszik a peroxiszómák és a glioxiszómák hidrogén-peroxid-szintjének csökkentésében, ahol főleg a fotorespiráció és a zsírsavak bontása során keletkező hidrogén-peroxid lebontásáért felelős. Savas közegben (*in vitro*) az enzim peroxidatív aktivitást is mutat, hidrogén-peroxiddal szubsztrátokat képes eloxidálni. A szubsztrátok lehetnek alkoholok, fenolok, hangyasav, formaldehid.

A peroxidáz több különböző funkcióval is rendelkezik a növényekben: részt vesz a sejt differenciálódásban, az IES oxidációjában, lignifikációban, a gesztképződésben. A sejt belüli hidrogén-peroxid bontása során felszabaduló oxigént használja fel oxidációs reakciókban. Egyes esetekben a POD a H_2O_2 bontása nélkül, közvetlenül a molekuláris oxigén felhasználásával is képes oxidálni. Szubsztrátumként felhasználhat többek között különböző fenolokat, indolecetsavat, aszkorbinsavat. Fontos szerepe van a növények oxidatív stresszre adott válaszreakcióiban

A polifenol-oxidáz o-difenolok oxidációját katalizálja o-kinonokká, illetve a fenolok orto hidroxilálását o-difenolokká hidrogén-peroxid bontásából származó molekuláris oxigén segítségével. A keletkező vegyületeknek és oxidatív polimerizációjukkal képződő termékeknek aktív szerepük van a növényi szervezet védekezési reakciójában biotikus és abiotikus hatásokkal szemben egyaránt.

A fehérjetartalom meghatározása szükséges az enzimaktivitások kiszámításához (U/ μ g fehérje), másrészt utal az enzimek koncentrációjára is, mivel a szöveti fehérjetartalom az enzimek mennyiségével arányos. Az általam alkalmazott ún. Bradford-módszer a fehérjét felépítő aminosavak színes komplexképzésén alapszik. A reagens a különböző aminosavakhoz eltérő sebességgel kötődik, így a fehérje primer szerkezetének függvényében eltérő intenzitású színt ad. Standardként BSA fehérjét használtam, ezért az eredmények relatív fehérjetartalmakat jelölnek. Mivel az enzimaktivitások változásainak tendenciáit kívántam meghatározni -nem az abszolút aktivitásokat- a módszert alkalmazhatónak találtam.

A mérésekhez 2005-ben a Délalföldi Erdészeti Zrt. Gyulai Erdészetéből, 2006-ban és 2007-ben pedig a Kisalföldi Erdőgazdaság Zrt. Rábaközi Erdészetének vitnyédi csemetekertjéből származó magvakat használtam fel, abból a megfontolásból, hogy vajon kimutathatók-e különbségek a két eltérő származási körzet makkjai között minőségre vonatkozólag, valamint az azonos eredetűek között reprodukálhatóak-e a kapott mérési eredmények.

A szakirodalmi áttekintés során a konkrét fajra (*Quercus robur* L.) vonatkozó hivatkozásokat foglaltam össze, az esetleges analógiák és divergenciák megállapíthatósága érdekében. Kapott mérési adataim zöme alátámasztást nyert, mások merőben új eredményeket szolgáltatnak, melyek mibenléte az eltérő faj eredetében, faj-, vagy fajtaazonosság esetén a különböző egyedfejlődési állapotokban, illetve az alkalmazott kísérleti körülmények differenciáiban keresendők.

EGYEDFEJLŐDÉS

Csíráztatási kísérleteimhez tömeg és sűrűség alapján válogatott makkegyedeket vizsgáltam. A tölgymakk relatív tömege és sűrűsége közötti lineáris korreláció kísérletes nyomon követésével az azonos egyedfejlődési állapotokhoz tartozó makkegyedek kiválasztási bizonytalanságát sikerült csökkenteni, redukálva ezzel a mért indikátorok értékeinek szórását is. A kocsányos tölgy makk egyedfejlődését végigkísérő relatív tömeg - sűrűség adatpárookra illesztett lineáris korrelációs egyenesek meredekségei között szignifikáns eltérés statisztikailag nem volt kimutatható, tehát az egységnyi relatív tömegnövekedésre jutó sűrűségcsökkenés állandónak tekinthető az ontogenezis folyamán, ami a csírázó tölgymakk biológiai jellegzetessége. A csertölgyre vonatkozó ugyanilyen szakirodalmi adatok alapján feltehető, hogy egyedektől független legalább fajspecifikus biológiai sajátosság a makk relatív tömegnövekedése mellett bekövetkező sűrűségcsökkenés.

Az endogén formaldehidtartalom kezdeti növekedése intenzív demetilezési folyamatokra, míg azt követő csökkenése metilezési folyamatok előtérbe kerülését tükrözi vissza. Kijelenthető, hogy ez a vizsgálati paraméter érzékeny indikátora az ontogenezisnek. Értékeiben bekövetkező változások determinisztikusan követik az egyes egyedfejlődési állapotokat, s mind a csertölgynél, mind az általam vizsgált kocsányos tölgynél tendenciaszerűen azonos útvonal szerint, mely ugyancsak egyedektől független legalább fajspecifikus sajátosságra enged következtetni.

A fenoloidtartalom és a kataláz aktivitás az egyedfejlődés jellemzésében nem bizonyultak eredményes indikátoroknak az alkalmazott vizsgálati eljárással. Az ontogenezis folyamán értékeikben bekövetkező változások között szignifikáns statisztikai különbségek nem voltak kimutathatók.

A peroxidáz és polifenol-oxidáz enzimek aktivitásai hasonló eredményeket mutattak, azonban korrelációs vizsgálatukkal a hatleveles állapotú csemeték kifejlődéséig tartó egyedfejlődési szakasz anyagcsere-intenzitás eltérései közvetett úton jellemezhetőkké váltak állandó összfehérje-tartalom mellett.

Az alkalmazott enzimkorrelációs vizsgálattal az ontogenezis fiziológias eseményeinek nyomon követése az abszolút enzimaktivitási értékekkel történő jellemzéshez képest a növényi fejlődés finomabb feltérképezését tette lehetővé. Az alkalmazott korrelációs összefüggések paraméterei (regressziós egyenesek meredeksége, regresszió érvényességi tartománya, regresszió határozottsági foka, tengelymetszet) az enzimaktivitások abszolút értékeihez viszonyítva a fejlődés alatt bekövetkező folyamatokkal szemben érzékenyebbek. A regresszió érvényességi tartományának kiszélesedése az intenzív fotoszintézist végző levélszövetek esetében egyértelmű bizonyítéka annak, hogy a regressziós paraméter az anyagcsere-intenzitáseloszlás „tükrképe”. A regressziós egyenesek súlypontjainak enzimaktivitási térben való vándorlása az egyedfejlődésben fellépő szignifikáns változások jellegzetes útvonalait szimbolizálja. Az ontogenezis erőteljes szabályozásában az enzimaktivitások egymáshoz viszonyított arányán, illetve az anyagcsere intenzitásán keresztüli módosítások egyidejűleg valósultak meg. Az ontogenezis szabályozott voltáról tájékoztatott minket az enzimkorreláció lineáris jellege, nagy határozottsági foka és enzimkorreláció érvényességi tartománya. Ez utóbbi paraméter az anyagcsere-intenzitás eloszlásának megváltozását képezi le.

TÁROLÁS

A 1 ± 1 °C-on, 80-90 % relatív páratartalom mellett, hűtőszekrényben tárolt kocsányos tölgy makk minőségében bekövetkező változásokon túl, biokémiai folyamatok iniciálódása is leképezhető az endogén formaldehidtartalom szignifikáns megváltozásán keresztül. A 2004 decemberében mért magas endogén formaldehid koncentrációja február közepére megnövekedett, majd áprilisra lecsökkent. A vegetációs időszak kezdetén jelentkező megemelt endogén formaldehid koncentráció a makk életsiklusában jelentkező rügyfakadás lehetséges indikátora. A tavaszi vetésen túli tárolás során bekövetkező endogén formaldehidszint csökkenése a hosszabb időtartamú makktárolás alatti minőségbeli redukcióval hozható kapcsolatba. Mivel csermakkra vonatkozólag is ugyanilyen eredmények születtek, kijelenthető, hogy az endogén formaldehid mennyisége celluláris indikátora a tárolás során jelentkező fiziológiai és biokémiai változásoknak. Értéke determinisztikusan változott a raktározás folyamán, s a két tölgyfaj esetében analóg módon.

Az egyedfejlődésnél tapasztalt változatlan fenoloidtartalom és kataláz aktivitás a tárolási kísérletsorozatra vonatkozóan is megállapítható volt, amit a szakirodalmi adatok is alátámasztottak.

A peroxidáz és a polifenol-oxidáz aktivitások abszolút értékei a tárolás január hónapjára jelentős mértékű csökkenésen mentek keresztül, majd ezt követően értékük stagnált, állandó összfehérje-tartalom mellett.

Az enzimkorrelációk paramétereinek vizsgálata során is szignifikáns különbségek voltak kimutathatók a magvak tárolási intervallumai között. A raktározáshoz társuló szignifikáns anyagcsere-módosulások a vizsgált enzimaktivitások értékeiben, s közöttük lévő korrelációkban is megjelentek. A tárolás, mint egy specifikus, hosszú időtartamú környezeti körülmény egyaránt hatást gyakorolt a korreláció meredekségére és érvényességi tartományára. A regressziós tartományok súlypontjai által, az enzimaktivitási síkban kirajzolt útvonalak determinisztikusan változtak meg a raktározás hónapjai alatt. A tárolás körülményeinek körültekintő megválasztása és betartása tehát elengedhetetlen feltétele a makk minőségének minél hosszabb távú megőrzésében. Az alkalmazott két vizsgálati eljárás (endogén formaldehidtartalom, POD és PPO enzimek korrelációs analízise) alkalmas a makkminőség tárolás alatti jellemzésére.

STRESSZVIZSGÁLATOK

Kocsányos tölgy makk hidegstressz vizsgálata

A -20 °C-os hidegstressznek kitett, 10 % tömegnövekedésig csíráztatott kocsányos tölgy makk endogén formaldehidtartalmát 1 óra elteltével a negyedére csökkentette. Hat óra elteltével a formaldehidszint a kontrollt meghaladó értéken maximumot ért el, majd értéke újra lecsökkent, s a kontroll állapotban meghatározott érték közelében stagnált.

A hidegsokk alatt a vizsgált makktétel totálfenol-tartalma a stressz vészreakció szakaszában a kontroll állapothoz képest lecsökkent, majd megemelkedett, és újra csökkent. A periódus hossza 4 óra volt. Kilencórás hidegsokk hatására a fenoloidok összkoncentrációja több mint 40 %-kal nagyobb volt a kontroll állapothoz képest.

Kataláz aktivitás vonatkozásában a stresszmentes állapothoz képest a helyi minimum és maximum értékek itt is jól megfigyelhetők voltak a stressz lefolyása alatt. A változás jellegében tapasztalható tendencia ellenére statisztikailag nem voltak igazolhatók a mérési pontok közötti szignifikáns eltérések.

Megállapítható, hogy a választott stresszmarkerek közül a legérzékenyebben az endogén formaldehid-, illetve az összfenol-tartalom tükrözte vissza a stresszhatásra bekövetkező válaszreakciókat. A fenoloidok mennyisége szignifikánsan megemelkedett a hidegstressz kilencedik órájára. A kocsányos tölgy makkjain elvégzett hidegstressz a Shannon-féle mintavételi törvény alapján determinisztikus periódikus változást indukált endogén formaldehidtartalom vonatkozásában. Változása a stressz-szindróma fázisaival kapcsolatba hozható. A szakirodalomban is ilyen eredmények lelhetők fel csertölgy makkjaira vonatkozólag. A két faj makkegyedeiben tehát analóg változásokat generált a több órás hidegstressz az endogén formaldehidtartalomra. A stressz alarm fázisában a vizsgált biokémiai paraméter szignifikáns periodikus változásokat mutat mind cser, mind kocsányos tölgy makktétel esetében. A biológiai rendszerek stresszhatásra bekövetkező oszcillációját az endogén formaldehidtartalom szignifikánsan képes jelezni.

Kocsányos tölgy csemeték hidegstressz vizsgálata

Mindhárom vizsgálati évben a levelek endogén formaldehidtartalma a 4.5 órás -20 °C-os hideghatásra szignifikáns módon megemelkedett. Az összfenol-tartalom mennyiségében azonban a hidegsokk nem okozott számottevő változást. A kataláz enzim aktivitásértékei kocsányos tölgy csemeték leveleiben egyöntetűen lecsökkentek. Az egyes években levelekből mért enzimaktivitások a viszonylag nagy szórásértékek miatt sem a peroxidáz, sem a polifenol-oxidáz esetében nem jeleztek meghatározó differenciákat. Mindezen tapasztalatok az irodalomban fellelhető eredmények alapján alátámasztást nyertek. A fehérjék összmennyiségének csökkenését 2005-ben lehetett kimutatni, azt követően koncentrációja egyik évben sem változott meg szignifikánsan.

A különböző származási helyű makktételből nevelt csemeték vizsgálati paraméterek alapján összehasonlíthatókká váltak. Egyértelmű különbségek adódtak minden egyes indikátor vonatkozásában a Gyulai Erdészetből származó makk és a Kisalföldi Erdészeti Rt. vitnyédi telephelyéről származó között. A Vitnyéd körzetéből begyűjtött makk endogén formaldehidképző potenciálja nagyságrendekkel kisebb volt az Alföldről származókéénál, hasonlóan a totálfenol-tartalomhoz, ugyanakkor a gyulai makktételt magasabb enzimaktivitások jellemezték. A stresszre bekövetkező változások mértékének összehasonlításával ugyancsak azonos nagyságrendi adatokat tapasztaltam minden paraméter vonatkozásában.

Kocsányos tölgy csemeték fényhiánysressz vizsgálata

A három egymást követő kísérleti évben a levelek endogén formaldehidtartalma szignifikánsan megemelkedett a három napos sötétben való tárolás hatására. A hidegstressznél tapasztalt stagnáló összfenol-tartalom e stresszesemény kifejeződése folyamán is változatlan koncentrációkat eredményezett. A kataláz és peroxidáz enzimek 72 órás fényhiánysresszre bekövetkező bárminemű aktivitásbeli változásai nem voltak visszaigazolhatóak. A polifenol-oxidáz ezzel szemben szignifikánsan lecsökkent. A vizsgálat első évében tapasztalt fényhiánysresszre bekövetkező fehérjemennyiségbeli csökkenést a két utolsó év kísérleti eredményei nem erősítették meg.

A makktételek egymáshoz való összehasonlításából kiderült, hogy az eddigi eredményekhez hasonlóan a csemeték fényhiánysresszre adott válaszreakciója tendenciájában és mértékében egyaránt ugyanolyan módon jutott kifejezésre.

A különböző eredetű stresszhatások érzékelése folyamán a választott vizsgálati paraméterek eltérő érzékenységgű válaszreakciókat indikáltak. Az alkalmazott kémiai molekulák tehát alkalmasak voltak a hideg- és fényhiánysressz alatt bekövetkező változásaik alapján a makktételek esetleges minőségbeli különbségeinek szignifikáns kimutatására. Az azonos eredetű csemeték eredményei között meghatározó különbségek nem voltak.

Kocsányos tölgy csemeték szárazságsressz vizsgálata

A szárazság kocsányos tölgy csemetékre gyakorolt hatásának vizsgálata során időben követtem nyomon a kiszáradás mértékét. A tölgy csemeték leveléből meghatározott magas endogén formaldehidtartalom már az első mintavételezés alkalmával a kimutatási határérték közelébe csökkent, s ezt követően értéke már nem is változott. A vízhiány mértékének fokozódásával az endogén formaldehidképző potenciál alacsony értékre esett vissza. Az endogén formaldehidtartalom csökkenése a csemete szárazságsresszre bekövetkező demetilezési folyamatainak háttérbe szorulására utalt. A növény ellenálló-képessége a fiziológiás kiindulási érték alá esett, krónikus tünetek jelentek meg rajta, melyet pusztulása követett. A stressz lefolyása alatt a csemeték apoptózis közeli állapotba kerültek, a folyamat irreverzibilissé vált.

A biológiai rendszer a stressz hatására a fenolos anyagokat termelő folyamatainak intenzitását 5 hét után drasztikus mértékben lecsökkentette, a fenoloidok mennyisége harmadára esett vissza. Azonban ezen időszakig koncentrációjában gyakorlatilag nem állt be számottevő változás.

A kataláz enzim aktivitása egy hónap szárazság után több mint kétszeresére emelkedett a kontroll növényben mérthez képest, ami feltehetőleg a stressz hatására felboruló antioxidánsok és prooxidánsok közötti egyensúly során felszaporodó AOF közömbösítésében aktívan résztvevő enzim működésének következménye (SIES, 1991). Ezt követően intenzitása egy újabb hét vízmentes időszak múltán szignifikánsan lecsökkent. A vízhiány mértékét ebben a pontban a csökkent enzimaktivitási értékek egyértelműen visszatükrözték.

A peroxidáz enzim esetében a kezdeti vízdeficit nem okozott változást az enzim működésében. Aktivitása változatlan maradt, majd ezt követően egy nagyságrendi tartományt felölelő hirtelen csökkenést tapasztaltam értékében. A polifenol-oxidáz aktivitása ezzel szemben szignifikáns mértékű fokozatos csökkenésen ment keresztül. Már az első mérési alkalom után aktivitása közel felére esett vissza, ami aztán tovább redukálódott, s hasonlóan a POD-hoz, rendkívül alacsony szinten állandósult. Olajfa csemetéiben ugyanilyen változások következtek be a három végoxidáz enzim vonatkozásában (SOFO *et al.*, 2007). Az enzimek aktivitásainak megváltozása a sejtek állandó összfehérje-mennyisége mellett valósult meg.

Enzimkorrelációs vizsgálatok

Hideg- és fényhiánystressz

Az extrém, hirtelen bekövetkező hideg és a fényhiányos állapot esetében tapasztalt állandónak tekinthető peroxidáz és polifenol-oxidáz enzimaktivitások arányosan változtak meg a stresszesemények folyamán. Az adott körülmények mellett alacsony POD aktivitáshoz alacsony értékű PPO aktivitások társultak és fordítva, tehát az enzimek aktivitása az anyagcserében összehangoltan szabályozott volt.

Kísérleteim mindhárom évében a 72 óráig fényhiányos körülmények között tartott hatleveles állapotú kocsányos tölgy csemeték enzimkorrelációs egyeneseinek meredeksége a kontroll állapothoz viszonyítva szignifikánsan lecsökkent ($R^2=0.9$). A hidegsokknál 2005-ben meredekség növekedést tapasztaltam 0.87-es határozottsági fokkal, míg 2007-ben változatlan eredményeket kaptam jóval gyengébb R^2 (0.54) értékkel. A határozottsági fokok relatíve nagy értékei az anyagcsere szabályozott voltát tükrözik vissza. Az enzimkorrelációk érvényességi tartományai szignifikánsan változtak meg, ami az anyagcsere heterogenitásából ered, s a metabolizmus intenzitás-eltéréseit egzakt módon szimbolizálja.

Szárazságstressz

A peroxidáz és polifenol-oxidáz enzimek korrelációs egyenesei a csemeték vízhiányos állapotának fokozódásával drámai változásokon mentek keresztül. A korreláció határozottsági fokának egyenletes csökkenésével a regressziós súlypontok enzimaktivitási síkban kirajzolt útvonala a stressz-szindróma fázisait követte. A meredekség csökkenésével egyidejűleg a regressziós tartományok szűkülését, kiszélesedését, majd újabb erőteljes beszűkülését tapasztaltam. A regressziós paraméterekben a szárazság tehát minden tekintetben szignifikáns módosulásokat eredményezett. A sejt enzimaktivitásait szárazság esetében is egymáshoz viszonyítva arányosan szabályozta. A metabolizmus szárazságra bekövetkező fiziológias állapotváltozása köszönt vissza az enzimkorrelációt jellemző regressziós egyenesek paramétereinek, nevezetesen a meredekségnek, a határozottsági foknak és az érvényességi tartománynak a megváltozásában.

8. TÉZISEK

A dolgozatban közölt célkitűzések megvalósítása és a kivitelezett kísérletek eredményei a következő megállapításokat támasztják alá:

1. A kocsányos tölgy egyedfejlődése során magvak esetében tapasztaltak a csertölggyel teljesen analóg módon zajlanak le, így egyedektől független legalább fajspecifikus következtetések vonhatók le:

- az egyedfejlődést jellemző relatív tömegnövekedéshez társuló sűrűségcsökkenés lineáris korrelációt szolgáltat, melynek meredeksége azt jelzi, hogy az egységnyi relatív tömegnövekedésre eső sűrűségcsökkenés a csírázó tölgymakk általános biológiai tulajdonsága,
- az ontogenezis kezdeti szakaszában az endogén formaldehidtartalom értékeiben bekövetkező determinisztikus változások tendenciaszerűen azonos útvonal szerint zajlanak mindkét növényfajra vonatkozóan,
- a tárolás kezdetekor a nyugalmi állapotú tölgymakk maximális endogén formaldehidképző potenciállal rendelkezik, ami a tavaszi vetésen túli tárolás alatt lecsökken, a makkminőségben bekövetkező csökkenés hatására,
- a tölgymakk hidegsokkra adott, időben nyomon követett stresszválaszában jelentkező oszcilláló endogén formaldehidtartalom a transzmetilezési folyamatok egyensúlyának felborulását tükrözi vissza, mely indirekt módon a növények stressztűrő-képességéről nyújthat információt.

2. Az alkalmazott vizsgálati paraméterek felhasználhatóak a különböző származási körzet makkjai között fennálló minőségbeli különbségek indikálására:

- a hideg- és fényhiánystressz hatására minden mérési paraméter tekintetében szignifikáns különbségek adódtak a Gyulai Erdészetből, illetve a Kisalföldi Erdészeti Rt. vitnyédi telephelyéről származó makktétel válaszütemek között,
- az azonos származási körzetű magvak azonban azonos eredményeket szolgáltattak mind a stresszre bekövetkező mennyiségi változás irányultságát, mind mértékét tekintve.

3. Hatékony minősítési eljárást alkalmaztam a fajok egyedeit jellemző tulajdonságbeli eltérések kiküszöbölésére:

- a peroxidáz és polifenol-oxidáz aktivitások anyagcserén belüli összehangolt szabályozásának érzékelését az azonos időpontban vett, azonos növényi minták enzimaktivitási analízise teszi lehetővé,
- a korrelációs vizsgálat során kapott lineáris egyenesek az egyedfejlődési állapotok karakterisztikus jellemzésén túl, a tárolás alatt bekövetkező makkminőségbeli változásokat is determinisztikusan követik.

4. Megállapítottam, hogy enzimkorrelációs vizsgálattal a stresszt érzékelni, lefolyását nyomon követni lehetséges:

- a korreláció határozottsági foka az anyagcsere szabályozottságáról egyértelmű képet szolgáltat,
- a meredekségek változásából, az enzimek aktivitásainak egymáshoz viszonyított arányára vonatkozólag nyerhetők információk,
- a növényi szövetek anyagcsere-intenzitás eltéréseit, a növényi anyagcsere heterogenitását, s ennek mértékét a regressziók érvényességi tartománya tükrözi vissza.

5. Bebizonyosodott, hogy az enzimkorreláció paraméterei stresszérzékenyek, s abban az esetben is szignifikáns változások jelzésére alkalmasak, amikor az a vizsgált növényi szövet anyagcsere heterogenitása eredményeként az aktivitások átlagértékeinek statisztikai összehasonlítása eltérést, s így stresszhatás fennállását nem támaszt alá:

- a környezeti hatások szignifikánsan képesek megváltoztatni az enzimkorrelációk érvényességi tartományát,
- a regressziós tartományok súlypontjai által, az enzimaktivitási síkban kirajzolt útvonalak stresszhatás specifikusak,
- a korrelációs egyenesek meredekségeiben mutatkozó eltérések egy általánosnak tekinthető, környezeti hatásokkal szembeni adaptációs válaszreakciót fejezhetnek ki.

9. KIVONATOK

ABIOTIKUS HATÁSOK KÉMIAI VIZSGÁLATA A KOCSÁNYOS TÖLGY (*QUERCUS ROBUR* L.) MAKK TÁROLÁSA ÉS KORAI ONTOGENEZISE FOLYAMÁN

A vizsgálatok célja a kocsányos tölgy makk korai egyedfejlődési szakaszában jelentkező stressz események érzékelése és nyomon követése, valamint a tárolás, mint egy specifikus hosszú időtartamú környezeti körülmény hatásának tanulmányozása a makkban lezajló fiziológiai és biokémiai folyamatokra endogén formaldehidtartalom, fenoloidtartalom, kataláz, peroxidáz és polifenol-oxidáz aktivitás, mint indikátor paraméterek mennyiségi változásán keresztül. A kísérletek a Gyulai Erdészetből, és a Vitnyédi Csemetekert vonzáskörzetéből begyűjtött makktétellel lettek elvégezve.

Egyedektől független, legalább fajspecifikus biokémiai jellegzetességek váltak beazonosíthatóvá. Az egyedfejlődést jellemző relatív tömegnövekedéshez társuló sűrűségcsökkenés állandó meredekségű lineáris korrelációt szolgáltatott. Az ontogenezis kezdeti szakaszában az endogén formaldehidtartalom értékeiben bekövetkező determinisztikus változások tendenciaszerűen azonos útvonal szerint zajlottak, mint csertölgy esetében, hasonlóan a tárolás folyamán bekövetkező változásokhoz. A tölgymakk hidegsokkra adott időben nyomon követett stresszválaszában jelentkező oszcilláló endogén formaldehidtartalom a transzmetilezési folyamatok egyensúlyának felborulását tükrözte vissza, mely indirekt módon a növények stressztűrő-képességéről nyújthat információt.

A felhasznált marker anyagok értékeiben stresszhatásra bekövetkező változások alapján, indirekt módon minősíthetővé váltak az eltérő származási körzet makktételei.

Hatékony minősítési eljárást sikerült kidolgozni a fajok egyedeit jellemző tulajdonságbeli eltérések kiküszöbölésére, s általa lehetőség nyílt a stressz lefolyásának finomabb feltérképezésére, valamint a raktározás és ontogenezis anyagcsere-folyamatainak jellemzésére. A módszer alapját a peroxidáz és polifenol-oxidáz enzimek korrelációs vizsgálata képezi, melynek kísérletes érzékelésének feltételei rögzítésre kerültek. A korreláció paraméterei – határozottsági fok, meredekség, regresszió érvényességi tartománya – az anyagcsere szabályozottságának minőségéről, az enzimek egymáshoz viszonyított arányáról, illetve a növényi szövetek anyagcsere-intenzitás eltéréseiről, a növényi anyagcsere heterogenitásáról, s ennek mértékéről tájékoztatnak. Bebizonyosodott, hogy az enzimkorreláció paraméterei stresszérzékenyek, s abban az esetben is szignifikáns változások jelzésére alkalmasak, ha az enzimaktivitások abszolút értékein keresztül az nem lehetséges.

**CHEMICAL INVESTIGATIONS OF ABIOTIC EFFECTS DURING THE
STORAGE AND EARLY ONTOGENESIS OF THE PENDUNCULATE OAK
(*QUERCUS ROBUR* L.)**

Abstract

The aim of the investigations was to detect and track the stress events occurring in the early ontogenesis of the pendunculate oak acorn and, moreover, to study the effect of the storage itself as a specific long-time environmental factor on the physiological and biochemical processes in the acorn. The chosen indicator parameters are the endogenous formaldehyde level, the total phenol content and the activities of catalase, peroxidase and polyphenol-oxidase. To the investigation the acorns have been gathered from the vicinity of Gyula town and the seedling-nursery of Vitnyéd, Hungary. An effective qualification method has been developed to eliminate the significant deviations in the main features of the species, which made stress syndrome available for being mapped more precisely manner, and to characterize the storage and the metabolic process of the ontogenesis. The method was based on the correlation of peroxidase and polyphenol-oxidase activities. It has been established that the parameters of the enzyme correlation are stress-sensitive and they were even able to show the significant alteration if not possible via the absolute values of enzyme activities.

V. KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani a Kémia Tanszék minden dolgozójának azért az elméleti és gyakorlati segítségért melyet a disszertáció elkészítéséhez nyújtottak. Külön köszönöm a technikusok kísérletes munka során nyújtott fáradhatatlan segítségét.

Köszönöm a Nyugat-magyarországi Egyetem Erdőművelési és Erdővédelmi Intézet vezetőjének, Dr. Varga Szabolcs egyetemi tanárnak, valamint Csepregi Imre tanszéki mérnöknek, hogy biztosították számomra a kocsányos tölgy makkokat.

Külön köszönöm Dr. Németh Zsolt István docens úrnak értékes tanácsait és fáradhatatlan emberi és szakmai támogatását.

Ezúton szeretném megköszönni témavezetőmnek, Dr. Albert Leventének számos hasznos elméleti és gyakorlati tanácsát és támogatását mellyel munkámat segítette.

Végül, de nem utolsósorban köszönöm családomnak a szüntelen emberi- erkölcsi támogatást és kitartást.

A kísérletek forrásigényét az OTKA T046408 számú kutatás biztosította.

VI. IRODALOMJEGYZÉK

- Abdul-Baki, A. (1969) Metabolism of Barley Seed During Early Hours of Germination. *Plant Physiology* 44: 733-738
- Albert, L., Hofmann, T., Rétfalvi, T., Németh, Zs. I., Koloszar, J., Varga, Sz., Csepregi, I. (2005) A fenoloidok, a polifenol oxidáz és a peroxidáz szerepe a bükkálgeszt kialakulásában. In: Erdő- és fagazdaságunk időszerű kérdései. Solymos, R. (Szerkesztő) MTA Agrártudományok Osztálya, Budapest, 161-176
- Albert, L., Hofmann, T., Németh, Zs. I., Koloszar, J., Varga, Sz., Csepregi, I. (2003) Radial variation of total phenol contents in Beech (*Fagus sylvatica* L.) wood with and without red-heartwood. *Holz as Roh- und Werkstoff* 61 (3): 227-230
- Albert, L., Németh, Zs. I., Barna, T., Varga, Sz., Tyihák, E. (1998) Measurement of endogenous formaldehyde in the early development stages of European Turkey oak (*Quercus cerris* L.). *Phytochemical Analysis* 9: 227
- Albert, L., Németh, Zs. I., Varga, Sz., Barna, T. (1997) The cold shock in the early stage of European turkey oak (*Quercus cerris* L.). In: Vol. Abstr. of "Stress of Life" Congress, Stress and Adaptation from Molecules to Man. Budapest, 180
- Albert, L., Németh, Zs. I., Varga, Sz. (1998) The effect of heat shock on the formaldehyde cycle in germinating acorns of European turkey oak. *Acta Biologica Hungarica* 49 (2-4): 363-368
- Aldea, M., Frank, T. D., DeLucia, E. H. (2006) A method for quantitative analysis of spatially variable physiological processes across leaf surfaces. *Photosynthesis Research* 90: 161-172
- Almaas, E., Kovács, B., Vicsek, T., Oltvai, Z. N., Barabási, A.-L. (2004) Global organization of metabolic fluxes in the bacterium *Escherichia coli*. *Nature* 427: 839-843
- Amano, A., Tamagawa, H., Takagaki, M., Murakami, Y., Shizukuishi, S., Tsunemitsu, A. (1988) Relationship between Enzyme Activities Involved in Oxygen Metabolism and Oxygen Tolerance in Black-pigmented Bacteroides. *Journal of Dental Research* 67 (9): 1196-1199
- Balázs, E., Barna, B., Király, Z. (1977) Heat-induced local lesions with high peroxidase activity in systematic host of TMV. *Acta Phytopathologica Hungarica* 12: 151-156
- Baldwin, I. T., Preston, C. A. (1999) The eco-physiological complexity of plant responses to insect herbivores. *Planta* (208): 137-145
- Beevers, H. (1969) Glyoxysomes of castor bean endosperm and their relation to gluconeogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 168: 313-324
- Belpoliti, M., Maraini, G., Alberti, G., Corona, R. and Crateri, S. (1993) Enzyme activities in human lens epithelium of age-related cataract. *Investigative Ophthalmology and Visual Science* 34: 2843-2847
- Benet, L. Z., Kroetz, D. L., Sheiner, L. B. (1995) Pharmacokinetics: The dynamics of drug absorption, distribution and elimination. In: Hardmann, J. G., Libird, L. E., Matimoll, P. B., Ruddon, R. W. (Editors) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 9th Edition, McGraw-Hill, New York, 13
- Berglund, G., Carlsson, G., Smith, A., Szoke, H., Henriksen, A., Hajdu, J. (2002) The Catalytic Pathway of Horseradish Peroxidase at High Resolution. *Nature* (417): 463
- Bergmann, H., Lippmann, B., Leinhos, V., Tiroke, S., Machelett, B. (1999) Activation of Stress Resistance in Bean Plants and Consequences for Product Quality. *Angewandte Botanik* 73: 153-161
- Bewley, J. D. (1997) Seed Germination and Dormancy. *The Plant Cell* 9: 1055-1066
- Bewley, J. D., Black, M. (1983) Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination-development, germination and growth. Berlin: Springer-Verlag

- Bewley, J. D., Black, M. (1994) Seeds: physiology of development and germination. 2nd Edition, New York, Plenum Press, 445
- Blunden, G., Gordon, S. M., Smith, B. E., Fletcher, R. L. (1985) Quaternary Ammonium Compounds in Species of the Fucaceae (Phaeophyceae) from Britain. *European Journal of Phycology* 20 (2): 105-108
- Bonner, F. T. and Nisley, R. T. (2002) Woody-Plant Seed Manual. Chapter 1, USDA-Forest Service, Washington DC
- Bonner, F. T., Vozzo, J. A. (1987) Seed biology and technology of *Quercus*. General Technical Report. SO-66. New Orleans: USDA Forest Service, Southern Forest Experiment Station, 21
- Bonner, F. T., Vozzo, J. A., Elam, W. W., Land, S. B. Jr. (1994) Tree seed technology training course. Instructor's manual. General Technical Report. SO-106. New Orleans: USDA Forest Service, Southern Forest Experiment Station, 160
- Botz, L., Majerné-Bogdács, M., Szabó, L., Técsi, L. I. (1995) Növényélettani gyakorlatok. Egyetemi jegyzet, Janus Pannonius Tudományegyetem, Pécs, 127
- Bradford, M. M. (1976) A rapid sensitive method for the quantisation of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254
- Brown, J. W. (1939) Respiration of acorns as related to temperature and after-ripening. *Plant Physiology* 14: 621-645
- Callis, J. (1995) Regulation of Protein Degradation. *The Plant Cell* 7: 845-57
- Chalker-Scott, L. and Fuchigami, L. H. (1989) The role of phenolic compounds in plant stress responses. In: Li, P. H. (Editors) Low Temperature Stress Physiology in Crops. CRC Press Incorporated, Florida, 67-79
- Chamnongpol, S., Willekens, H., Langebartels, C., Van Montagu, M., Inzé, D. and Van Camp, W. (1996) Transgenic tobacco with a reduced catalase activity developed necrotic lesions and induces pathogenesis-related expression under high light. *The Plant Journal* 10 (3): 491-503
- Chance, B., Sies, H. and Boveris, A. (1979) Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiological Reviews* 59: 527-605
- Chelvarajan, R. L., Fannin, F. F., Bush, L. P. (1983) Study of Nicotine Demethylation in Nicotinaneotophora. *Journal of Agriculture Food Chemistry* 41: 85
- Cohen, E., Arad, S. M., Heimer, Y. H., Mizrah, Y. (1984) Polyamine biosynthetic enzymes in the cell cycle of Chlorella (Correlation between ornithine decarboxylase and DNA synthesis at different light intensities). *Plant Physiology* 74: 385-388
- Dantas, B. F., Ribeiro, L. S. and Aragão, C. A. (2007) Germination, initial growth and cotyledon protein content of bean cultivars under salinity stress. *Revista Brasileira de Sementes* 29 (2): 106-110
- Diaz, A., Horjales, E., Rudino-Pinera, E., Arreola, R., Hansberg, W. (2004) Unusual Cys-Tyr covalent bond in a large catalase. *Journal of Molecular Biology* 342: 971-985
- Ebermann, R., Korori, S. A. A. (1991) Temperature Dependent Alterations of Peroxidase and Amylase Isoenzymes in *Quercus robur*. *Phyton* 31 (1): 121-128
- Farkas, G. L., Stahmann, M. A. (1966) On the nature of changes in peroxidase isoenzymes in bean leaves infected by southern bean mosaic virus. *Phytopathology* 56: 669-677
- Fawusi, M. O. A. (1989) Seed germination, emergence, biochemical changes and early seedling performance in Cleopatra mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) following controlled environment storage. *Biotronics* 18: 29-35
- Fazeli, F., Ghorbanli, M. and Niknam, V. (2007) Effect of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in two sesame cultivars. *Biologia Plantarum* 51 (1): 98-103

- Ferrari, C. K. B., and Torres, E. A. F. S. (2003) Biochemical pharmacology of functional foods and prevention of chronic diseases of aging. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 57: 251–260
- Fersht, A. R. (1977) Enzyme Structure and Mechanism. Freeman, W. H. and Company, San Francisco, 132
- Finch-Savage, W. E., Clay, H. A., Blake, P. S. and Browning, G. (1992) Seed Development in the Recalcitrant Species *Quercus robur* L: Water status and endogenous abscisic acid levels. *Journal of Experimental Botany* 43: 671-679
- Finch-Savage, W. E., Clay, H. A., Budge, S. P., Dent, K. C., Clarkson, J. P., Whipps, J. M. (2003) Biological Control of Sclerotinia pseudotuberosa and Other Fungi During Moist Storage of *Quercus robur* Seeds. *Plant Pathology* 109 (6): 615-624
- Finch-Savage, W. E., Grange, R. I., Hendry, G. A. F., Atherton, N. M. (1993) Embryo water status and loss of viability during desiccation in the recalcitrant species *Quercus robur* L. In: Come, D., Corbineau, F., (Editors) Proceedings of the Fourth International Workshop on Seeds: Basic and Applied Aspects of Seed Biology. Paris: ASFIS, 723-30
- Fioritto, A., Papa, S., Pellegrino, A., Fuggi, A. (2007) Decomposition dynamics of *Myrtus communis* and *Quercus ilex* leaf litter: mass loss, microbial activity and quality change. *Applied Soil Ecology* 36 (1): 32-40
- Flohé, L. (1989) Glutathione peroxidase (fact and fiction). In: Miguel, J., Quintanilha, A. T. and Weber, H. (Editors) Handbook of Free Radicals and Antioxidants in Biomedicine. III. CRC Press, Boca Raton, 281–286
- Fodor, M., Hegedűs, A., Stefanovits-Bányai, É. (2005) Zirconium induced physiological alterations in wheat seedlings. *Biologia Plantarum* 49 (4): 633-636
- Foster, J. G., Hess, J. L. (1980) Responses of superoxide dismutase and glutathione reductase activities in cotton leaf tissue exposed to an atmosphere enriched in oxygen. *Plant Physiology* 66: 482-487
- Foyer, C. H., Dujardin, M., Lemoine, Y. (1989) Responses of photosynthesis and the xanthophyll and ascorbate-glutathione cycles to changes in irradiance, photoinhibition and recovery. *Plant Physiology and Biochemistry* 27: 751 -60
- Foyer, C. H., Lelandais, M., Kunert, K. J. (1994) Photooxidative stress in plants. *Physiologia Plantarum* 92: 696-717
- Fryer, M. J. (1992) The antioxidant effects of thylakoid Vitamin-E (α -tocopherol). *Plant, Cell and Environment* 15: 381-392
- Gáborjányi, R., Sági, F., Balázs, E. (1973) Growth inhibition of virus-indeed plants: Alterations of peroxidase enzymes in compatible and incompatible host-parasite relations. *Acta Phytopathologica Hungarica* 8: 80-91
- Garrett, R. H., Grisham, C. M. (1995) Biochemistry. Sanders College Publishing, Forth Worth, Canada, 851
- Gáspár, S. (1970) Tetrazólium redukció és az életképesség közötti korreláció vizsgálata. Kandidátusi értekezés, Budapest
- Gaspar, T., Penel, C., Thorpe, T., Greppin, H. (1970-1980) Peroxidases. Université de Genève – Centre de Botanique
- Gechev, T., Willekens, H., Van Montagu, M., Inzé, D., Van Camp, W., Toneva, V., Minkov, I. (2003) Different responses of tobacco antioxidant enzymes to light and chilling stress. *Journal of Plant Physiology* 160 (5): 509-15
- Goldberg, A. L. and Boches, F. S. (1982) Oxidized proteins in erythrocytes are rapidly degraded by the adenosine triphosphate-dependent proteolyc system. *Science* 215:1107-1108
- Gombkötő, G., Sajgó, M. (1985) Biokémia. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- Gong, C., Wang, A., Wang, S. (2006) Changes of polyphenols in Tobacco leaves during the flue-curing process and correlation analysis on some chemical components. *Agricultural*

Sciences in China 5 (12): 928-932

Goodman, B. A. (1994) The involvement of oxygen-derived free radicals in plant-pathogen interactions. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh* 102B: 479-493

Gosling, P. G. (1988) The effect of drying *Quercus robur* acorns to different moisture contents, followed by storage, either with or without imbibition. *Forestry* 62: 41-50

Greggains, V. (1998) Free radical processes and viability loss in recalcitrant seeds. Ph D thesis, University of Sheffield, UK

Greggains, V., Finch-Savage, W. E., Quick, W. P. and Atherton, N. M. (2000) Metabolism-induced free radical activity does not contribute significantly to loss of viability in moist-stored recalcitrant seeds of contrasting species. *New Phytology* 148: 267-276

Hahlbrock, K. and Grisebach, H. (1979) Enzymatic controls in biosynthesis of lignin and flavonoids. *Annual Review of Plant Physiology* 30: 105-130

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. (1984) Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage and antioxidant therapy. *Lancet* 8391: 1396-1397

Hara, I., Wada, K. and Matsubara, H. (1976) Pumpkin (*Cucurbita* sp.) seed globulin II. Alterations during germination. *Plant and Cell Physiology* 17 (4): 815-823

Harborne, J. B. (1980) Plant phenolics. In: Bell, E. A. and Charlwood, B. V. (Editors) *Encyclopedia of Plant Physiology* 8: 329-402

Heller, W. and Forkmann, G. (1988) Biosynthesis. In: Harborne, J. B. (Editor), *The Flavonoids*, Chapman and Hall, London, 399-425

Hemalatha, K. P. J. and Prasad, D. S. (2003) Changes in the metabolism of protein during germination of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds. *Plants Foods for Human Nutrition* 58 (3): 1-10

Hendry, G. A. E., Finch-Savage, W. E., Thorpe, P. C., Atherton, N. M., Buckland, S. M., Nilsson, K. A. and Seel, W. E. (1992) Free radical processes and loss of seed viability during desiccation in the recalcitrant species *Quercus robur* L. *New Phytology* 122: 273-279

Hendry, G. A. F. (1993) Oxygen, free radical processes and seed longevity. *Seed Science Research* 3: 141-153

Henniger, H., Bartel, W. (1963) Die Eignung des Peroxydesaktivität-Testes zur Bestimmung der „relativen Phytophthora Resistenz“ (Feldresistenz) bei Kartoffeln. *Züchter* 33: 86-91

Hess, E. G. (1958) The polyphenolase of tobacco and its participation in amino acid metabolism. I. Manometric studies. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 74: 198-208

Hodges, D. M., Andrews, C. J., Johnson, D. A. and Hamilton, R. I. (1997) Antioxidant enzyme responses to chilling stress in differentially sensitive inbred maize lines. *Journal of Experimental Botany* 48 (310): 1105-1113

Hofmann, T. (2004) Polifenol-oxidáz és peroxidáz növényi szövetekben. TDK dolgozat, Nyugat-magyarországi Egyetem, Erdőmérnöki Kar, Sopron. Témavezető: Dr. Albert Levente egyetemi tanár

Hofmann, T. (2006): A kémiai paraméterek szerepe a bükk (*Fagus sylvatica* L.) álgesztenyésedésében, Doktori (Ph. D.) értekezés, Nyugat-magyarországi Egyetem, Erdőmérnöki Kar, Sopron. Témavezető: Dr. Albert Levente egyetemi tanár

Holmes, G. D. and Buszewicz, G. (1955) Longevity of acorns with several storage methods. Forestry Commission, Report on Forest Research, London, 88-94

Hung, Y. C., Sava, V. M., Mekan, S. Y., Chen, T. H. J., Hong, M. Y., Huang, G. S. (2002) Antioxidant activity of melanins derived from tea: comparison between different oxidative states. *Food Chemistry* (78): 233-240

Izsáki, Z. (2004) Szántóföldi növények vetőmagtermesztése és kereskedelme. Mezőgazda Kiadó, Kempelen Farkas Digitális Tankönyvtár

Jaleel, C. A., Gopi, R., Manivannan, P., Gomathinayagam, M., Sridharan, R., Panneerselvam, R. (2007) Antioxidant potential and indole alkaloid profile variations with

- water deficits along different parts of two varieties of *Catharanus roseus*. *Colloids and Surfaces: Biointerfaces* Article in press
- Karolyi, D., Salajpal, K., Kiš, G., Dikić, M., Jurić, I. (2007) Influence of finishing diet on fatty acid profile of longissimus muscle of black slavonian pigs. *Agriculture* 13 (1): 176-179
- Kastori, R., (1984) Fiziologija semena. Novi Sad, Matica Srpska
- Keen, N. T. (1975a) Specific elicitors of plant phytoalexin production: Determination of race specificity in pathogens. *Science* (187): 74-75
- Keen, N. T. (1975b) The isolation of phytoalexins from germinating seeds of *Cicer arietinum*, *Vigna sinensis*, *Arachis hypogaea* and other plants. *Phytopathology* (65): 91-92
- Kigel, J. and Galili, G. (1995) Seed development and germination. Marcel Dekker, New York
- Kitajima, K., Fenner, M., (2000) Ecology of Seedling Regeneration. In: Fenner, M. (Editor) *Seeds: Ecology of Regeneration in Plant Communities*. Wallingford, CAB International: 331-360
- Klabunde, T., Eicken, C., Sacchettini, J. C., Krebs, B. (1998) Crystal Structure of a Plant Catechol Oxidase Containing a Dicopper Center. *Nature Structural Biology* (5): 1084
- Kobayashi, Y., Ito, M. (1998) Valuation of Phytotoxic Activity of Naturally Occurring Phenolic Compounds. *Journal of Weed Science and Technology* 43 (4): 341-348
- Kozłowski, T. T., Gentile, A. C. (1959) Influence of the seed coat on germination, water absorption, and oxygen uptake of eastern white pine seed. *Forest Science* 5: 389-395
- Kramer, P. J., Kozłowski, T. T. (1979) Physiology of woody plants. Academic Press, New York, 811
- Lamb, J. E., H. Riezman, W. M. Becker, and C. J. Leaver. (1978) Regulation of glyoxysomal enzymes during germination. II. Isolation and immunological detection of isocitrate lyase and catalase. *Plant Physiology* 62: 754-760
- Láng, F. (1998): Növényélettan. A növényi anyagcsere. ELTE Eötvös Kiadó, Budapest
- Láng, F. (2002) Növényélettan. ELTE Eötvös Kiadó, Budapest
- László, I., Szőke, É., Tyihák, E. (1998) Relationship between abiotic stress and formaldehyde concentration in tissue culture of *Datura innoxia* Mill. *Plant Growth Regulation* 25: 195-199
- László, I., Szőke, É., Tyihák, E., Szende, B. (2001) Programmed cell death in *Datura innoxia* Mill. Callus cultures cultivated in light and in dark. *Plant Growth Regulation* 33: 231-236
- Lee, D. H., Lee, C. B. (2000) Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: in gel enzyme activity assays. *Plant Science* 159 (1): 75-85
- Lichtenthaler, H. K. (1996) Vegetation Stress: an Introduction to the Stress Concept in Plants. *Journal of Plant Physiology* 148: 4-14
- Lion, S., Gabriel, F., Bost, B., Fiévet, J., Dillmann, C., de Vienne D. (2004) An extension to the metabolic control theory taking into account correlations between enzyme concentrations. *European Journal of Biochemistry* 271: 4375-4391
- Majeau, N., Coleman, J. R. (1994) Correlation of carbonic anhydrase and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase expression in Pea. *Plant Physiology* 104: 1393-1399
- Makino, A. Sakashita, H., Hidema, J., Mae, T., Ojima, K., Osmond, B. (1992) Distinct responses of ribulose1,5-bisphosphate carboxylase and carbonic anhydrase in wheat leaves to nitrogen nutrition and their possible relationships to CO₂-transfer resistance. *Plant Physiology* 100: 1737-1743
- Manivannan, P., Jaleel, C. A., Kishorekumar, A., Sankar, B., Somasundaram, R., Sridharan, R., Panneerselvam, R. (2007) Changes in antioxidant metabolism of *Vigna unguiculata* L. Walp. by propiconazole under water deficit stress. *Colloids and Surfaces: Biointerfaces* Article in press
- Matamoros, M. A., Baird, L. M., Escuredo, P. R., Dalton, D. A., Minchin, F. R., Iturbe-

- Ormaetxe, I., Rubio, M. C., Moran, J. F., Gordon, A. J. and Becana, M. (1999) Stress-Induced Legume Root Nodule Senescence. Physiological, Biochemical, and Structural Alterations. *Plant Physiology* 121: 97–111
- McKersie, B. D., Hoekstra, F. A., Krieg, L. C. (1990) Differences in susceptibility of plant membrane lipids to peroxidation. *Biochimica et Biophysica Acta* 1030: 119-126
- Michal, G. (1993) Biochemical pathways, Biochemica, Boehringer Mannheim GmbH, Würzburg, Germany, 3rd Edition, Part 1
- Moharrery, A., Das, T. K. (2001) Correlation between microbial enzyme activities in the rumen fluid of sheep under different treatments. *Reproduction, nutrition, development* 41 (6): 513-529
- Mullen, R. T. and Gifford, D. J. (1993) Purification and Characterization of Catalase from Loblolly Pine (*Pinus taeda* L.) Megagametophytes. *Plant Physiology* 103: 477-483
- Nable, R. O., Houtz, R. L., Cheniae, G. M. (1988) Early inhibition of photosynthesis during development of Mn toxicity in Tobacco. *Plant Physiology* 86: 1136-1142
- Nagababu, E., Chrest, F. J., Rifkind, J. M. (2003) Hydrogen-peroxide-induced heme degradation in red blood cells: the protective roles of catalase and glutathione peroxidase. *Biochimica et Biophysica Acta* 1620 (1): 211-217
- Németh, Zs. I. (2002) A formaldehid és természetes generátorai, mint a környezeti hatások jelző molekulái a csertölgy ontogenezisének korai szakaszaiban. Doktori (Ph. D.) dolgozat, Nyugat-magyarországi Egyetem, Erdőmérnöki Kar, Sopron. Témavezetők: Dr. Albert Levente egyetemi tanár, Dr. Németh Károly egyetemi tanár
- Németh, Zs. I. (2007a): A növényi stressz vizsgálata és értékelése szabályozásméleti analógiák alapján. MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (2006-2009), I. Részjelentés, 2007. szeptember
- Németh, Zs. I. (2007b): Tölgyfajok környezeti hatásokra adott válaszreakcióinak kémiai vizsgálata. 2006 évi OTKA részjelentés, 2007. február
- Németh, Zs. I., Albert, L., Varga, Sz. (1998) Changes in formaldehyde contents of germinating acorns of *Quercus cerris* L. under low temperature stress conditions. *Acta Biologica Hungarica* 49 (2-4): 369-374
- Németh, Zs. I., Albert, L., Varga, Sz. (2004) Characterization with physical parameters: correlation of relative mass and density as an indicator function of the germination of European Turkey oak acorn. *Journal of Theoretical Biology* 231: 167-174
- Németh, Zs. I., Albert, L., Varga, Sz., Balaskó, M. (2000) Changes of catalase activity and endogenous formaldehyde level in the germinating acorns of *Quercus cerris* L. 5th International Jubilee Conference on *Role of formaldehyde in biological systems*, Sopron, Hungary.
- Nikolić, N., Orlović, S., Krstić, B., Kevrešan, Ž. (2006) Variability of acorn nutrient concentrations in pedunculate oak (*Quercus robur* L.) genotypes. *Journal of Forest Science* 52 (2): 51-60
- Omran, R. G. (1980) Peroxide levels and the activities of catalase, peroxidase, and indoleacetic acid oxidase during and after chilling cucumber seedlings. *Plant Physiology* 65: 407-408
- Ozyigit, I. I., Kahraman, M. V., Ercan, O. (2007) Relation between explant age, total phenols and regeneration response in tissue cultured cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *African Journal of Biotechnology* 6 (1): 003-008
- Özcan, T. (2006) Total Protein and Amino acid Compositions in the Acorns of Turkish *Quercus* L. Taxa. *Genetic Resources and Crop Evolution* 53 (2): 419-429
- Paik, W. K., Kim, S. (1968) Protein methylase I. *Journal of Biological Chemistry* 243: 2108
- Paik, W. K., Polastro, E., Kim, S. (1980) Cytochrome c methylation: enzymology and biologic significance. In: Current Topics in Cellular Regulation. Horecker, B. L., Stadtman,

- E. R. (Editors), Academic Press, New York, 16
- Palada-Nicolau, M., Hausmann, J. F. (2001) Comparison between somatic and zygotic embryo development in *Quercus robur* L. *Plant Biosystems* 135: 47–55
- Park, I. K., Paik, W. K. (1990) The Occurrence and Analysis of Methylated Amino Acids. In: Protein Methylation. Paik, W. K., Kim, S. (Editors), CRC Press Inc., Boca Raton, Florida
- Perl, M. (1986) ATP synthesis and utilization in the early stage of seed germination in relation to seed dormancy and quality. *Physiologia Plantarum* 66 (1): 177–182
- Pesis, E., Ackerman, M., Ben-Arie, R., Feygenberg, O., Xuqiao, F., Apelbaum, A., Goren, R., Prusky, D. (2002) Ethylene involvement in chilling injury symptoms of avocado during cold storage. *Postharvest Biology and Technology* 24 (2): 171–181
- Pethő, M. (1993) Mezőgazdasági növények élettana. 2. kiadás, Akadémiai Kiadó, Budapest
- Petrović, S., Šobajić, S., Rakić, S., Tomić, A., Kukić, J. (2004) Investigation of kernel oils of *Quercus robur* and *Quercus cerris*. *Chemistry of Natural Compounds* 40 (5): 420–422
- Piontek, K., Antorini, M., Choinowski, T. (2002) Crystal structure of laccase from the fungus *Trametes versicolor* at 1.90-Å resolution containing a full complement of coppers. *The Journal of Biological Chemistry* 277 (40): 37663–37669
- Piotto, B. and Di Noi, A. (2001) Propagation of Mediterranean trees and shrubs from seed. Chapter 12 of the ANPA Handbook
- Pliego-Alfaro, F., Litz, R. E., Moon, P. A., Gray, D. J. (1996) Effect of abscisic acid, osmolarity and temperature on *in vitro* development of recalcitrant mango nucellar embryos. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 44: 53–61
- Prasad, T. K., Anderson, M. D., Martin, B. A., Stewart, C. R. (1994) Evidence for Chilling-Induced Oxidative Stress in Maize Seedlings and a Regulatory Role for Hydrogen Peroxide. *Plant Cell* 6: 65–74
- Prewein, C., Endemann, M., Reinohl, V., Salaj, J., Sunderlikova, V., Wilhelm, E. (2006) Physiological and morphological characteristics during development of pedunculate oak (*Quercus robur* L.) zygotic embryos. *Trees* 20: 53–60
- Queiroz, C. G. S., Alonso, A., Mares-Guia, M., Magalhaes, A. C. (1998) Chilling-induced changes in membrane fluidity and antioxidant enzyme activities in *Coffea arabica* L. roots. *Biologica Plantarum* 41 (3): 403–413
- Racchi, M. L., Bagnoli, F., Balla, I., Danti, S. (2001) Differential activity of catalase and superoxide dismutase in seedlings and in vitro micropropagated oak (*Quercus robur* L.). *Plant Cell Reports* 20: 169–174
- Rakić, S., Petrović, S., Kukić, J., Jadranin, M., Tešević, V., Povrenović, D. and Šiler-Marinković, S. (2007) Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. *Food Chemistry* (104): 830–834
- Redinbaugh, M. G., Sabre, M. and Scandalios, J. G. (1990) Expression of the maize Cat3 catalase gene is under the influence of a circadian rhythm. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87 (17): 6853–6857
- Rivero, R. M., Ruiz, J. M., García, P. C., López-Lefebvre, L. R., Sánchez, E., Romero, L. (2000) Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. *Plant Science* 160: 315–321
- Robak, J. and Gryglewski, R. J. (1988) Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochemistry and Pharmacology* 37: 837–841
- Robbins, R. (1980) Medical and nutritional aspects of citrus bioflavonoids. In: Nagy, S. and Attaway, J. (Editors) Citrus Nutrition and Quality, American Chemistry Society, Washington, DC. 43–59
- Roberts, E. H. (1973) Predicting the storage life of seeds. *Seed Science Technology* 1: 499–514
- Rothe, G. M. (1990) Efficiency and limitations of isozyme studies in forest tree genetics.

- Forest Genetic Resources Information 18, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma
- Ruuhola, T., Yang, S. (2006) Wound-induced oxidative responses in Mountain Birch leaves. *Annals of Botany* 97 (1): 29-37
- Salajpal, K., Karolyi, D., Beck, R., Kiš, G., Vicković, I., Dikić, M. and Kovačić, D. (2004) Effect of acorn (*Quercus robur*) intake on faecal egg count in outdoor reared black slavianian pig. *Acta Agriculturae Slovenica* 1: 173-178
- Salma, A., Baqui, J., Shah, J. (1985) Histoenzymatic Studies on Wood of *Acacia auriculiformis* cunn. during heartwood formation. *Holzforschung* 39: 311-320
- Samson, L., Cairns, J. (1977) A new pathway for DNA repair in *Escherichia coli*. *Nature* 267: 281
- Sárdi, É., Tyihák, E. (1995) Measurement of formaldehyde and its main potential generators in the seeds of water-melon (*Citrullus vulgaris* L.) varieties and F1 hybrids of different *Fusarium* sensitivity. *Horticultural Science Hung* 27: 66-70
- Sárdi, É., Tyihák, E. (1998) Change of biotransformation steps of formaldehyde cycle in water-melon plants after infection with *Fusarium oxysporum*. *Acta Biologica Hungarica* 49 (2-4): 353-362
- Sarić, M. R. (1981) Genetic specificity in relation to plant mineral nutrition. *Journal of Plant Nutrition* 3: 743-766
- Scandalios, J. G., Guan, L., Polidoros, A. N. (1997) Catalases in plants: gene structure, properties, regulation and expression. In: Scandalios, J. G. (Editor) *Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defenses*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 343-406
- Schröder, T. (2002) On the geographic variation of *Ciboria batschiana* (Zopf) Buchwald, the main pathogenic fungus on acorns of *Quercus robur* and *Q. petraea*. in Europe. *Dendrobiology* 47: 13-19
- Shannon, L. M., Kay, E., Lew, J. Y. (1966) Peroxidase isoenzymes from horseradish roots. *Journal of Biological Chemistry* 241: 2166-2172
- Shimada, T. (2001) Nutrient compositions of acorns and horse chestnuts in relation to seed-hoarding. *Ecological Research* 16 (4): 803-808
- Sies, H. (1991) *Oxidative Stress II. Oxidants and Antioxidants*. Academic Press, London
- Singleton, V. L., Rossi, J. A., Jr. (1965) Colorimetry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158
- Sofo, A., Dichio, B., Xiloyannis, C., Masia, A. (2005) Antioxidant defences in olive trees during drought stress: changes in activity of some antioxidant enzymes. *Funkcional Plant Biology* 32 (1): 45-53
- Sofo, A., Manfreda, S., Dichio, B., Fiorentino, M. and Xiloyannis, C. (2007) The olive tree: a paradigm for drought tolerance in Mediterranean climates. *Hydrology and Earth System Sciences Discussions* 4: 2811-2835
- Stout, M. J., Workman, K. V., Bostock, R. M. (1998) Specificity of induced resistance in the tomato, *Lycopersicon esculentum*. *Oecologia* (113): 74-81
- Stryer, L. (1988) *Biochemistry*, 3rd Edition, Freeman, V. H. and Co., New York, 583
- Suska, B. (1970) Storage of mazzard cherry (*Prunus avium* L.) seeds over many years. *Arboretum Kornickie* 15: 129-137
- Suska, B., Muller, C. and Bonnet-Masimbert, M. (1996) *Seeds of Forest Broadleaves: from Sowing to Harvest* (English translation). INRA Editions, Paris, France, 294
- Suska, B., Tylkowski, T. (1980) Storage of acorns of the English oak (*Quercus robur* L.) over 1-5 winters. *Arboretum Kornickie* 25: 199-229
- Sutherland, M. W. (1991) The generation of oxygen radicals during host plant responses to

infection. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 39: 79-93

Sváb, J. (1967) biometriai módszerek a mezőgazdasági kutatásban, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest

Szabó, L. Gy. (1980) A magbiológia alapjai. Akadémiai Kiadó, Budapest

Szabó, L. Gy. (1984) Növényi metabolitok allelopátiás hatása. A biológia aktuális problémái. Medicina, Budapest

Szabó, L. Gy. (2005) Gyógynövény-ismereti tájékoztató. Schmidt und Co. Kft, Baksa-Melius Alapítvány, Pécs

Szecskó, V., Hrotko, K., Stefanovits-Bányai, É. (2004) Changes of peroxidase and polyphenol oxidase activities during the rooting of plum hardwood cuttings. *Biologia* 59 (13): 117-122

Szilágyi, F. (1997-2001) Fák és cserjék. Székelyudvarhely, www.mek.oszk.hu/005/00544/html/index.htm

Taba, L. M. and Droux, M. (2001) Sulfur Assimilation in Developing Lupin Cotyledons Could Contribute Significantly to the Accumulation of Organic Sulfur Reserves in the Seed. *Plant Physiology* 126: 176-187

Tappel, A. L. (1978) Methods in Enzymology. Colowick, S. P. and Kaplan, N. O. (Editors). LII. Academic Press, New York, 506-629

Tasgin, E., Atici, Ö., Nalbantoglu, B. and Popova, L. P. (2006) Effects of salicylic acid and cold treatments on protein levels and on the activities of antioxidant enzymes in the apoplast of winter wheat leaves. *Phytochemistry* 67 (7): 710-715

Tewari, R. K., Kumar, P., Sharma, P. N. and Bisht, S. S. (2002) Modulation of oxidative stress responsive enzymes by excess cobalt. *Plant Science* 162 (3): 381-388

Thomas, P., Ravindra, M. B. (1999) Shoot tip culture in mango: Influence of medium, genotype, explant factors, season and decontamination treatments on phenolic exudation, explant survival and axenic culture establishment. *Journal of Horticultural Science* 72 (5): 713-722

Tolbert, N. E. (1973) Activation of polyphenol oxidase of Chloroplasts. *Plant Physiology* 51: 234-244

Tolbert, N. E. (1981) Metabolic pathways in peroxisomes and glyoxysomes. *Annual Review Biochemistry* 50: 133-157

Tuck, M. T., Farooqui, J. Z., Paik, W. K. (1985) Two histone H1-specific protein-lysine N-methyltransferase from *Euglena gracilis*. Purification and characterization. *Journal of Biological Chemistry* 260: 7114

Tyihák, E. (1987) Is there a formaldehyde cycle in biological systems? In Proc. 2nd International Conference on the Role of Formaldehyde in Biological Systems. Tyihák, E. and Gullner, G. (Editors) SOTE Press, Budapest, 155

Tyihák, E. (1989) Temperature – dependent formaldehyde metabolism in bean plants. The heat shock response. *Plant Science* 59: 133-139

Tyihák, E. (1997) Study of formaldehyde cycle in budding and apoptosis of trees by personal OPLC. In: Chomatography. Kaiser, O. *et al.*, (Editors) InCom Sonderband, Düsseldorf, Germany, 333-342

Tyihák, E., Trézl, L., Szende, B. (1998) Formaldehyde cycle and the phases of stress syndrome. In: Stress of Life: From Molecules to Man. Csermely P. (Editor) *Annals of the New York Academy of Sciences* 851: 259-270

Tylkowski, T. (1977) Cold storage of *Quercus robur* L. acorns in an atmosphere of increased content of CO₂ and a reduced O₂ level. *Arboretum Kórnickie* 22: 275-283

Vainshtein, B. K., Melik-Adamyan, W. R., Barynin, V. V., Vagin, A. A. and Grebenko, A. I. (1981) Three-dimensional structure of the enzyme catalase. *Nature* 293: 411 – 412

Valentine, J., Pettigrew, G. W. (1982) A cytochrome c methyltransferase from *Crithidia*

oncopelti. *Biochemical Journal* 201: 329

Stefanovits-Bányai, E., Sárdi, E., Lakatos, S., Zajan, M., and Velich, I. (1998) Drought stress, peroxidase activity and formaldehyde metabolism in bean plants. *Acta Biologica Hungarica* 49 (2-4): 309-316

Vertucci, C. W. (1989) The kinetics of seed imbibition: controlling factors and relevance to seedling vigor. In: Seed moisture. Stanwood, P. C., McDonald, M. B., (Editors) Spec. Publ. 14. Madison, WI: Crop Science of America, 93–115

Wada, H., Gombos, Z. and Murata, N. (1990) Enhancement of chilling tolerance of a cyanobacterium by genetic manipulation of fatty acid desaturation. *Nature* 347: 200-203

Wang, I., Dykhuizen, D. E. (2001) Variation of enzyme activities at a branched pathway involved in the utilization of gluconate in *Escherichia coli*. *Evolution* 55 (5): 897-908

Wang, J., Li, Y., Wan Lo, Sz., Hillmer, S., Sun, S. S. M., Robinson, D. G. and Jiang, L. (2007) Protein Mobilization in Germinating Mung Bean Seeds Involves Vacuolar Sorting Receptors and Multivesicular Bodies. *Plant Physiology* 143 (4): 1628–1639

Wang, S., Lin, Y. and Huang, A. H. C. (1984) Lipase Activities in Scutella of Maize Lines Having Diverse Kernel Lipid Content. *Plant Physiology* 76 (3): 837–839

Wolswinkel, P., (1992) Transport of nutrients into developing seeds: a review of physiological mechanisms. *Seed Science Research* 2: 59–73

Wood, M. D. (2005) Tannin and Lipid Content of Acorns in Scatterhoards and Larderhoards. *Northeastern Naturalist* 12 (4): 463–472

Wyrwicka, A., Sklodowska, M. (2006) Influence of repeated acid rain treatment on antioxidative enzyme activities and on lipid peroxidation in cucumber leaves. *Environmental and Experimental Botany* 56 (2): 198-204

Yang, G. Xu, Q. Y., You, M. S. (2004) The change of activities of protective enzymes in Chinese cabbage infected by diamondback moth, *Plutella oxylostella*. *Entomological Journal of East China* 13 (1): 48-54

Yoshioka, T., Inokuchi, T., Fujioka, S. and Kimura, Y. (2004) Phenolic Compounds and Flavonoids as Plant Growth Regulators from Fruit and Leaf of *Vitex rotundifolia*, *Zeitschrift für Naturforschung* 59c: 509-514

Zanetto, A., Kremer, A., Müller-Starck, G., Hattemer, H. H. (1996) Inheritance of isozymes in pedunculate oak (*Quercus robur* L.). *Heredity* 87: 364-370

Zhang, L., Han, S., Li, Z., Liu, N., Li, L., Luo, L., Peng, T., Liu, W. (2006) Effects of the infestation by *Actinote thalia pyrrha* (Fabricius) on the physiological indexes of *Mikania micrantha* leaves. *Acta Ecologica Sinica* 26 (5): 1330-1336

Zheng, H., Cui, C., Zhang, Y., Wang, D., Jing, Y., Kim, Y. (2005) Active changes lignification-related enzymes in pepper response to *Glomus intraradices* and/or *Phytophthora capsici*. *Journal of Zhejiang University Science* 6B (8): 778-786

A KUTATÁSSAL KAPCSOLATOS SAJÁT PUBLIKÁCIÓK:

Németh, Zs. I., Albert, L., Tyihák, E., Hofmann, T., Rétfalvi, T., Pozsgai-Harsányi, M. (2003) Alteration of measurable formaldehyde level of European Turkey Oak acorn in the function of parameters of sample preparation. 6th International Conference on Role of Formaldehyde in Biological Systems, Pécs. Poszter

Pozsgai-Harsányi, M., Németh, Zs. I., Gálos, B., Albert, L., Varga, Sz. (2005) Comparison of the alarm phases induced by cold shock in case of germinating acorns of *Quercus cerris* L. and *Quercus robur* L. International Conference on Non-linear Processes in Life Sciences. Lengyelország, Lublin. Poszter

Németh, Zs. I., Pozsgainé Harsányi M., Albert, L. (2006) A környezeti hatásvizsgálatok módszertani fejlesztése. Szimpozion, Nyugat-magyarországi Egyetem, Környezeti Erőforrásgazdálkodási és –védelmi Kooperációs Kutatási Központ, Sopron. Előadás

Németh, Zs. I., Pozsgainé Harsányi, M., Gálos, B., Albert, L. (2007) Növényi enzimkorreláció stresszérzékenysége. Tudományos Konferencia, Nyugat-magyarországi Egyetem, Erdőmérnöki Kar, Sopron. Előadás

Pozsgainé Harsányi, M., Németh, Zs. I., Badáczy, D., Horváth, A. (2007) Stressz-szindróma jellemzése enzimkorrelációval. Tudományos Konferencia, Nyugat-magyarországi Egyetem, Erdőmérnöki Kar, Sopron. Poszter

Németh, Zs. I., Pozsgainé Harsányi, M. (2008) Növényi enzimkorrelációk: a környezeti hatások indikátorai? III. Regionális Természettudományi Konferencia, Nyugat-magyarországi Egyetem, Szombathely. Előadás

Németh, Zs. I., Pozsgai-Harsányi, M., Badáczy, D., Horváth, A. (2008) Characterization of plant developmental stages by enzyme correlation. *FEBS Journal* (megjelentetés alatt)

Németh, Zs. I., Pozsgai-Harsányi, M., Gálos, B., Albert, L. (2008) Stress sensitivity of a plant enzyme correlation. *Plant Science* (megjelentetés alatt)

Ábrák jegyzéke

1. ábra A kétszikű makk felépítése.
2. ábra Kocsányos tölgy makk víztartalma az érés alatt (PREWEIN *et al.*, 2006).
3. ábra A vízfelvétel három fázisa alatt lejátszódó biokémiai folyamatok (BEWLEY, 1997).
4. ábra Árpa oxigén felvételének és fehérje szintézisének kapcsolata a csírázás korai szakaszában (Abdul-Baki, 1969).
5. ábra Az ATP-szintézis útja a csírázás kezdeti szakaszában (MAL - malát; OA – oxál-acetát; PEP - foszfo-enol-piroszölősav; NMN - nikotin-amid-mononukleotid; a *-gal jelzett vegyületek az érés során felhalmozódnak).
- 6.a ábra Tölgymakk tárolási lehetőségei (Piotto és Di Noi, 2001).
7. ábra Kocsányos tölgy makk tárolás alatt bekövetkező változásai 5 °C-on (kör), 15 °C-on (négyzet) és +O₂-el (rombusz). (a) csírázási százalék 5 °C-on (háromszög) és a normál csemetefejlődés, (b) lipidperoxidáció, (c) elektron paramágneses rezonancia (EPR) szabadgyök mérések, (d) SOD aktivitás, (e) GPOD aktivitás, (f) embriótenyely összes tokoferol-tartalma.
8. ábra Kocsányos tölgy légzése a kibocsátott CO₂ szint alapján 5 °C-on (kör), 15 °C-on (négyzet) és +O₂-el (rombusz).
9. ábra A stressz-szindróma fázisai (LICHTENTHALER, 1996).
10. ábra A polifenol-oxidáz által katalizált reakciók (HOFMANN, 2004).
11. ábra Burgonyából izolált polifenol-oxidáz térszerkezete (KLABUNDE *et al.*, 1998).
12. ábra A PPO enzim Cu-ionjainak szerepe az elektronátvitelben és a molekuláris oxigén redukciójában (LÁNG, 1998). (E: enzim-alegység, q: kinon, d: difenol, Ed: enzim-difenol komplex, Eq: enzim-kinon komplex).
13. ábra A torma peroxidáz szerkezete (BERGLUND *et al.*, 2002).
14. ábra A peroxidáz szerepe a ligninképződésben.
15. ábra A kataláz enzim (*Neurospora crassa*) háromdimenziós struktúrája (DIAZ *et al.*, 2004).
16. ábra Metil-csoport donorok (NÉMETH, 2002).
17. ábra Endogén formaldehid ciklus (TYIHÁK *et al.*, 1998).
18. ábra Fenoloidok szintézisének általános útvonala (HELLER és FORKMANN, 1988).
19. ábra Hőmérsékletváltozás hatása a bab (*Phaseolus vulgaris* L.) leveleinek endogén formaldehidtartalmára.
20. ábra A szárazságstressz hatása oliva fa élettani folyamataira a csökkenő levél vízpotenciálja függvényében.
21. ábra Szárazságtűrő és szárazságra érzékeny bab endogén formaldehidtartalma.
22. ábra Szárazságtűrő és szárazságra érzékeny bab POD aktivitása.
23. ábra A dimedon és a formaldehid reakciója és a képződő formaldehton keto-enol tautomériája.
24. ábra A relatív tömeg és sűrűség közötti összefüggések kocsányos tölgy egyedfejlődése alatt.
- 25.a. ábra Az endogén formaldehidtartalom változása kocsányos tölgy csemete sziklevelszövetében az egyedfejlődés alatt. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 25.b. ábra Az endogén formaldehidtartalom változása kocsányos tölgy csemete különböző szöveiben az egyedfejlődés alatt. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 26.a. ábra A fenoloidtartalom változása kocsányos tölgy csemete sziklevelszövetében az egyedfejlődés alatt. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 26.b. ábra A fenoloidtartalom változása kocsányos tölgy csemete különböző szöveiben az egyedfejlődés alatt. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 27.a. ábra A kataláz aktivitás változása kocsányos tölgy csemete sziklevelszövetében az egyedfejlődés alatt. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 27.b. ábra A kataláz aktivitás változása kocsányos tölgy csemete különböző szöveiben az egyedfejlődés alatt. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 28.a. ábra A POD és PPO aktivitások változása kocsányos tölgy csemete sziklevelszövetében az egyedfejlődés alatt. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 28.b. ábra A POD és PPO aktivitások változása kocsányos tölgy csemete különböző szöveiben az egyedfejlődés alatt. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 29.a. ábra A POD és PPO enzimaktivitások korrelációja kocsányos tölgy csemete sziklevelszövetében az egyedfejlődés alatt.
- 29.b. ábra A korrelációs tartományok súlypontjának dinamikája az egyedfejlődés alatt.
30. ábra A POD és PPO enzimaktivitások korrelációja kocsányos tölgy csemete különböző szöveiben az egyedfejlődés alatt.
- 31.a. ábra A fehérjetartalom változása kocsányos tölgy csemete sziklevelszövetében az egyedfejlődés alatt. Hibasávok: konfidencia intervallumok.

- 31.b. ábra** A fehérjetartalom változása kocsányos tölgy csemete különböző szöveteiben az egyedfejlődés alatt. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 32. ábra** Makksűrűség a tárolás alatt.
- 33. ábra** Az endogén formaldehidtartalom változása kocsányos tölgy csemete sziklevelszövetében a tárolás alatt. Hibasávok: Konfidencia intervallumok.
- 34. ábra** A fenoloidtartalom változása kocsányos tölgy csemete sziklevelszövetében a tárolás alatt. Hibasávok: Konfidencia intervallumok.
- 35. ábra** A kataláz aktivitás változása kocsányos tölgy csemete sziklevelszövetében a tárolás alatt. Hibasávok: Konfidencia intervallumok.
- 36.a. ábra** A POD és PPO aktivitások változása kocsányos tölgy csemete sziklevelszövetében a tárolás alatt. Hibasávok: Konfidencia intervallumok.
- 36.b. ábra** A POD és PPO enzimaktivitások korrelációja kocsányos tölgy csemete sziklevelszövetében a tárolás folyamán.
- 37. ábra** A korrelációs tartományok súlypontjának dinamikája a tárolás folyamán.
- 38. ábra** A fehérjetartalom változása kocsányos tölgy csemete sziklevelszövetében a tárolás alatt. Hibasávok: Konfidencia intervallumok.
- 39. ábra** A kocsányos tölgy makk endogén formaldehidtartalma a hidegsokk alatt.
- 40. ábra** A kocsányos tölgy makk fenoloidtartalma a hidegsokk alatt.
- 41. ábra** A kocsányos tölgy makk kataláz aktivitása a hidegsokk alatt.
- 42. ábra** A hidegstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek endogén formaldehidtartalmára. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 43. ábra** A hidegstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek fenoloidtartalmára. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 44. ábra** A hidegstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek kataláz aktivitására. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 45. ábra** A hidegstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek peroxidáz aktivitására. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 46. ábra** A hidegstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek polifenol-oxidáz aktivitására. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 47. ábra** A hidegstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek fehérjetartalmára. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 48. ábra** A fényhiánystressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek endogén formaldehidtartalmára. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 49. ábra** A fényhiánystressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek fenoloidtartalmára. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 50. ábra** A fényhiánystressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek kataláz aktivitására. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 51. ábra** A fényhiánystressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek peroxidáz aktivitására. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 52. ábra** A fényhiánystressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek polifenol-oxidáz aktivitására. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 53. ábra** A fényhiánystressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek fehérjetartalmára. Hibasávok: konfidencia intervallumok.
- 54. ábra** A szárazágstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek endogén formaldehidtartalmára.
- 55. ábra** A szárazágstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek fenoloidtartalmára.
- 56. ábra** A szárazágstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek kataláz aktivitására.
- 57. ábra** A szárazágstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek peroxidáz aktivitására.
- 58. ábra** A szárazágstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek polifenol-oxidáz aktivitására.
- 59.a. ábra** A szárazágstressz hatása kocsányos tölgy csemete leveleinek fehérjetartalmára.
- 59.b. ábra** A POD enzim abszorbancia változása az idő függvényében
- 60. ábra** A PPO enzim abszorbancia változása az idő függvényében
- 61. ábra** A kocsányos tölgy csemete enzimkorrelációs egyenesei hideg és fényhiánystressz alatt 2005-ben.
- 62. ábra** A kocsányos tölgy csemete enzimkorrelációs egyenesei fényhiánystressz alatt 2006-ban.
- 63. ábra** A kocsányos tölgy csemete enzimkorrelációs egyenesei hideg és fényhiánystressz alatt 2007-ben.
- 64. ábra** A kocsányos tölgy csemete enzimkorrelációs egyenesei szárazágstressz alatt.
- 65. ábra** A korrelációs tartományok súlypontjának dinamikája a szárazágstressz alatt.

Táblázatok jegyzéke

1. táblázat	<i>Quercus robur</i> L. makk kémiai összetétele (RAKÍĆ <i>et al.</i> , 2006).
2. táblázat	Tölgyfajok makkjainak kémiai összetétele (BONNER és VOZZO, 1987).
3. táblázat	Tölgyfajok összfehérje- és aminosavtartalma (kivonat: ÖZCAN, 2006).
4. táblázat	Csírázó kocsányos tölgy makkok enzim összetétele.
5. táblázat	Kocsányos tölgy makk átlagos nutrienstartalma különböző szövetekben.
6. táblázat	Kocsányos tölgy és csertölgy makk fenoloid- és flavonoidtartalma (RAKÍĆ <i>et al.</i> , 2007).
7. táblázat	Enzimkorreláció tárgykörű publikációk és megállapításaik.
8. táblázat	Növényi fenolos vegyületek legfontosabb csoportjai.
9. táblázat	Az egyedfejlődési állapotok mintavételi időpontjai.
10. táblázat	A tárolási vizsgálatok mintavételi időpontjai.
11. táblázat	Stresszvizsgálatok időpontjai.
12. táblázat	A vizsgálatok ideje és a meghatározott fizikai és kémiai paraméterek.
13. táblázat	Az indikátorok egyesített változási mintázata kocsányos tölgy egyedfejlődése alatt.
14. táblázat	Tárolás alatti csíráképeségi vizsgálat eredményei.
15. táblázat	A makksűrűség átlagértékei a tárolás alatt.
16. táblázat	Az indikátorok egyesített változási mintázata kocsányos tölgy makktétel tárolása alatt.
17. táblázat	A kocsányos tölgy makk endogén formaldehidtartalmának átlagértékei a hidegsokk alatt.
18. táblázat	A kocsányos tölgy makk fenoloidtartalmának átlagértékei a hidegsokk alatt.
19. táblázat	A kocsányos tölgy makk kataláz aktivitásának átlagértékei a hidegsokk alatt.
20. táblázat	Az indikátorok egyesített változási mintázata csemete hidegstressz vizsgálata alatt.
21. táblázat	Az indikátorok egyesített változási mintázata csemete fényhiánystressz vizsgálata alatt.
22. táblázat	Kocsányos tölgy csemete leveleinek endogén formaldehidtartalma szárazságstressz alatt.
23. táblázat	Kocsányos tölgy csemete leveleinek fenoloidtartalma szárazságstressz alatt.
24. táblázat	Kocsányos tölgy csemete leveleinek kataláz aktivitása szárazságstressz alatt.
25. táblázat	Kocsányos tölgy csemete leveleinek POD és PPO aktivitása szárazságstressz alatt.
26. táblázat	Kocsányos tölgy csemete leveleinek fehérjetartalma szárazságstressz alatt.
27. táblázat	Az indikátorok egyesített változási mintázata csemete szárazságstressz vizsgálata alatt.

Mellékletek jegyzéke

1. melléklet

Csíráztatási és csemetenevelési fényképek.

1. **ábra** Kocsányos tölgy makkok csíráztatási kísérletei.
2. **ábra** Kocsányos tölgy csemeték.
3. **ábra** Kocsányos tölgy csemeték szárazságstressz vizsgálata.
4. **ábra** Kiszáradt kocsányos tölgy csemete és tövében a sarjadó új élet.

2. melléklet

1. **táblázat** Válogatott makkok relatív tömege, sűrűsége, és a lineáris korrelációs adatok.
2. **táblázat** Válogatott makkok relatív tömege, sűrűsége, és a lineáris korrelációs adatok.

3. melléklet

Tömeg és sűrűség lineáris regressziós egyeneseinek kovariancia analízise az egyedfejlődés alatt.

4. melléklet

Az egyedfejlődés alatti paraméterek átlagértékei sziklevelekben, gyökérben, és levélben.

1. **táblázat** Az endogén formaldehidtartalom átlagértékei sziklevelekben az egyedfejlődés alatt.
2. **táblázat** Az endogén formaldehidtartalom átlagértékei különböző szövetekben az egyedfejlődés alatt.
3. **táblázat** A fenoloidtartalom átlagértékei sziklevelekben az egyedfejlődés alatt.
4. **táblázat** A fenoloidtartalom átlagértékei különböző szövetekben az egyedfejlődés alatt.
5. **táblázat** A kataláz aktivitás átlagértékei sziklevelekben az egyedfejlődés alatt.
6. **táblázat** A kataláz aktivitás átlagértékei különböző szövetekben az egyedfejlődés alatt.
7. **táblázat** A POD és PPO aktivitások átlagértékei sziklevelekben az egyedfejlődés alatt.
8. **táblázat** A POD és PPO aktivitások átlagértékei különböző szövetekben az egyedfejlődés alatt.
9. **táblázat** A fehérjetartalom átlagértékei sziklevelekben az egyedfejlődés alatt.
10. **táblázat** A fehérjetartalom átlagértékei különböző szövetekben az egyedfejlődés alatt.

5. melléklet

- a. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise nyugalmi és duzzadási állapotok között a kocsányos tölgy egyedfejlődése alatt.
- b. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise duzzadási és gyököcske állapotok között a kocsányos tölgy egyedfejlődése alatt.
- c. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise gyököcske és rügyecske állapotok között a kocsányos tölgy egyedfejlődése alatt.
- d. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise rügyecske és gyökeres állapotok között a kocsányos tölgy egyedfejlődése alatt.
- e. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise gyökeres és leveles állapotok között a kocsányos tölgy egyedfejlődése alatt.

6. melléklet

A tárolás alatti paraméterek átlagértékei sziklevelekben, gyökérben, és levélben.

1. **táblázat** Az endogén formaldehidtartalom átlagértékei sziklevelekben a kocsányos tölgy makk tárolása alatt.
2. **táblázat** A fenoloidtartalom átlagértékei sziklevelekben a kocsányos tölgy makk tárolása alatt.
3. **táblázat** A kataláz aktivitás átlagértékei sziklevelekben a kocsányos tölgy makk tárolása alatt.
4. **táblázat** A POD és PPO aktivitások átlagértékei sziklevelekben a kocsányos tölgy makk tárolása alatt.
5. **táblázat** A fehérjetartalom átlagértékei sziklevelekben a kocsányos tölgy makk tárolása alatt.

7. melléklet

- a. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise 2005. december és 2006. január között a kocsányos tölgy makk tárolása alatt.
- b. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise 2006. január és 2006. február között a kocsányos tölgy makk tárolása alatt.
- c. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise 2006. február és 2006. április között a kocsányos tölgy makk tárolása alatt.

8. melléklet

A kocsányos tölgy csemetéek hideg-, fényhiánystressz alatti paramétereinek átlagértékei levélszövetekben.

1. táblázat Kocsányos tölgy csemete leveleinek endogén formaldehidtartalma hideg és fényhiány stressz alatt.
2. táblázat Kocsányos tölgy csemete leveleinek fenoloidtartalma hideg és fényhiány stressz alatt.
3. táblázat Kocsányos tölgy csemete leveleinek kataláz aktivitása hideg és fényhiány stressz alatt.
4. táblázat Kocsányos tölgy csemete leveleinek peroxidáz aktivitása hideg és fényhiány stressz alatt.
5. táblázat Kocsányos tölgy csemete leveleinek polifenol-oxidáz aktivitása hideg és fényhiány stressz alatt.
6. táblázat Kocsányos tölgy csemete leveleinek fehérjetartalma hideg és fényhiány stressz alatt.

9. melléklet

- a. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise kocsányos tölgy csemetéek leveleiben a hideg- és fényhiánystressz alatt 2005-ben.
- b. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise kocsányos tölgy csemetéek leveleiben a fényhiánystressz alatt 2006-ban.
- c. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise kocsányos tölgy csemetéek leveleiben a fényhiánystressz alatt 2007-ben.
- d. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise kocsányos tölgy csemetéek leveleiben a hidegstressz alatt 2007-ben.

10. melléklet

- a. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise a kontroll és I. pontok között kocsányos tölgy csemetéek szárazságstressze alatt.
- b. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise a kontroll és II. pontok között kocsányos tölgy csemetéek szárazságstressze alatt.
- c. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise a kontroll és III. pontok között kocsányos tölgy csemetéek szárazságstressze alatt.
- d. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise a kontroll és IV. pontok között kocsányos tölgy csemetéek szárazságstressze alatt.
- e. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise a I. és II. pontok között kocsányos tölgy csemetéek szárazságstressze alatt.
- f. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise a II. és III. pontok között kocsányos tölgy csemetéek szárazságstressze alatt.
- g. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise a III. és IV. pontok között kocsányos tölgy csemetéek szárazságstressze alatt.

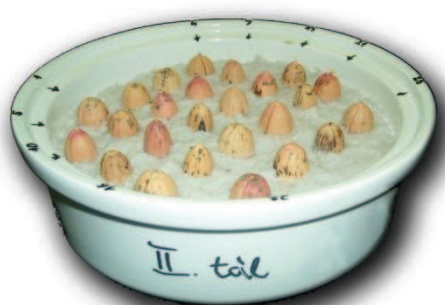
11. melléklet

- a. Paraméterek közötti kapcsolat az egyedfejlődés folyamán.
- b. Paraméterek közötti kapcsolat a tárolás folyamán.
- c. Paraméterek közötti kapcsolat a kocsányos tölgy makk hidegstressz vizsgálata folyamán.
- d. Paraméterek közötti kapcsolat a stresszvizsgálatok folyamán.

VII. MELLÉKLETEK

1. melléklet

Csíráztatási és csemetenevelési fényképek.



1. ábra Kocsányos tölgy makk csíráztatási kísérletei.



2. ábra Kocsányos tölgy magvak csíráztató tölcsérbe ültetve.



3. ábra Kocsányos tölgy csemeték.



4. ábra Kocsányos tölgy csemeték szárazságstressz vizsgálata.



5. ábra Kiszáradt kocsányos tölgy csemete és tövében a sarjadó új élet.

t = 1,888862 (18 df) P = 0,0751
line 1 (duzzadási) vs. line 3 (rügyecske) vertical separation = 0,015852
95% CI = 0,010408 to 0,021295
t = 6,117699 (18 df) P < 0,0001
line 1 (duzzadási) vs. line 4 (gyökeres) vertical separation = 0,007305
95% CI = 0,001676 to 0,012934
t = 2,726294 (18 df) P = 0,0139
line 2 (gyököcske) vs. line 3 (rügyecske) vertical separation = 0,010964
95% CI = 0,005779 to 0,016149
t = 4,442576 (18 df) P = 0,0003
line 2 (gyököcske) vs. line 4 (gyökeres) vertical separation = 0,002418
95% CI = -0,003004 to 0,007839
t = 0,936915 (18 df) P = 0,3612
line 3 (rügyecske) vs. line 4 (gyökeres) vertical separation = -0,008547
95% CI = -0,014027 to -0,003066
t = -3,276457 (18 df) P = 0,0042

4. melléklet

Az egyedfejlődés alatti paraméterek átlagértékei sziklevelekben, gyökérben, és levélben.

A kisbetűk szignifikáns különbségeket jelölnek 95% feltételezési valószínűség mellett. A jobb alsó indexben a vizsgált minták száma látható.

Jelölések:

Gyökeres (szl): gyökeres egyedfejlődési állapotban a sziklevelszövet

Leveles (szl): leveles egyedfejlődési állapotban a sziklevelszövet

Gyökér (gy): gyökeres egyedfejlődési állapotban a gyökérszövet

Gyökér (l): leveles egyedfejlődési állapotban a gyökérszövet

Levél (l): leveles egyedfejlődési állapotban a levélszövet

1. táblázat Az endogén formaldehidtartalom átlagértékei sziklevelekben az egyedfejlődés alatt.

nyugalmi	duzzadási	gyököcske	rügyecske	gyökeres	leveles
25,446 ₆ ^a	22,362 ₆ ^a	4,022 ₆ ^b	11,650 ₆ ^c	4,372 ₅ ^b	25,446 ₆ ^a

2. táblázat Az endogén formaldehidtartalom átlagértékei különböző szövetekben az egyedfejlődés alatt.

gyökeres (szl)	leveles (szl)	gyökér (gy)	gyökér (l)	levél (l)
25,446 ₆ ^a	22,362 ₆ ^a	4,022 ₆ ^b	11,650 ₆ ^c	4,372 ₅ ^b

3. táblázat A fenoloidtartalom átlagértékei sziklevelekben az egyedfejlődés alatt.

nyugalmi	duzzadási	gyököcske	rügyecske	gyökeres	leveles
7,583 ₅ ^a	7,006 ₆ ^a	6,834 ₆ ^a	7,126 ₆ ^a	7,150 ₆ ^a	7,767 ₆ ^a

4. táblázat A fenoloidtartalom átlagértékei különböző szövetekben az egyedfejlődés alatt.

gyökeres (szl)	leveles (szl)	gyökér (gy)	gyökér (l)	levél (l)
7,150 ₆ ^a	7,767 ₆ ^a	5,353 ₆ ^b	3,280 ₆ ^c	4,043 ₆ ^c

5. táblázat A kataláz aktivitás átlagértékei sziklevelekben az egyedfejlődés alatt.

nyugalmi	duzzadási	gyököcske	rügyecske	gyökeres	leveles
5,36 ₆ ^a	5,78 ₆ ^a	4,89 ₅ ^a	6,61 ₆ ^a	6,35 ₆ ^a	7,08 ₆ ^a

6. táblázat A kataláz aktivitás átlagértékei különböző szövetekben az egyedfejlődés alatt.

gyökeres (szl)	leveles (szl)	gyökér (gy)	gyökér (l)	levél (l)
6,35 ₆ ^{ab}	7,08 ₆ ^a	5,51 ₆ ^{ab}	5,37 ₅ ^{ab}	4,65 ₅ ^b

7. táblázat A POD és PPO aktivitások átlagértékei sziklevelekben az egyedfejlődés alatt.

nyugalmi		duzzadási		gyököcske		rügyecske		gyökeres		leveles	
POD	PPO	POD	PPO	POD	PPO	POD	PPO	POD	PPO	POD	PPO
0,189 ₅ ^a	0,061 ₅ ^a	0,077 ₅ ^a	0,018 ₅ ^b	0,100 ₅ ^a	0,009 ₅ ^b	0,103 ₄ ^a	0,012 ₄ ^b	0,142 ₅ ^a	0,015 ₅ ^b	0,147 ₆ ^a	0,018 ₆ ^b

8. táblázat A POD és PPO aktivitások átlagértékei különböző szövetekben az egyedfejlődés alatt.

gyökeres (szl)		leveles (szl)		gyökér (gy)		gyökér (l)		levél (l)	
POD	PPO	POD	PPO	POD	PPO	POD	PPO	POD	PPO
0,142 ₅ ^a	0,015 ₅ ^b	0,147 ₆ ^a	0,018 ₆ ^b	0,244 ₆ ^a	0,179 ₆ ^a	0,524 ₅ ^a	0,305 ₅ ^a	6,022 ₅ ^b	0,648 ₅ ^c

9. táblázat A fehérjetartalom átlagértékei sziklevelekben az egyedfejlődés alatt.

nyugalmi	duzzadási	gyököcske	rügyecske	gyökeres	leveles
192,406 ₆ ^a	183,125 ₆ ^{abc}	191,719 ₆ ^a	120,560 ₆ ^b	169,318 ₅ ^{ab}	138,553 ₆ ^{bc}

10. táblázat A fehérjetartalom átlagértékei különböző szövetekben az egyedfejlődés alatt.

gyökeres (szl)	leveles (szl)	gyökér (gy)	gyökér (l)	levél (l)
192,406 ₆ ^a	183,125 ₆ ^a	117,116 ₅ ^a	78,026 ₅ ^b	77,296 ₆ ^b

5. melléklet

a. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise nyugalmi és duzzadási állapotok között a kocsányos tölgy egyedfejlődése alatt.

Grouped linear regression

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>	
Common slope	0,001477	1	0,001477	137,720586	P < 0,0001
Between slopes	0,000083	1	0,000083	7,747858	P = 0,0318
Separate residuals	0,000064	6	0,000011		
Within groups	0,001624	8			

Common slope is significant

Difference between slopes is significant

Slope comparisons:

slope 1 (POD) vs. slope 2 (POD) = 0,138607 vs. 0,222176

Difference (95% CI) = 0,083569 (0,010105 to 0,157032)

t = -2,783497 P = 0,0318

Covariance analysis

Uncorrected:

<u>Source of variation</u>	<u>YY</u>	<u>XY</u>	<u>XX</u>	<u>DF</u>
Between groups	0,00458	0,012005	0,031472	1
Within	0,001624	0,008826	0,05275	8
Total	0,006204	0,020831	0,084222	9

Corrected:

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>
Between groups	0,000904	1	0,000904	42,930978
Within	0,000147	7	0,000021	
Total	0,001051	8		

P = 0,0003

Corrected Y means $\pm$ SE for baseline mean predictor of 0,1335:

Y' = 0,051814 $\pm$ 0,002338

Y' = 0,027786 $\pm$ 0,002338

Line separations (common slope = 0,167309):

Lines not parallel

line 1 (POD) vs. line 2 (POD) vertical separation = 0,024028

95% CI = 0,015356 to 0,032699

t = 6,552174 (7 df) P = 0,0003

b. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise duzzadási és gyököcske állapotok között a kocsányos tölgy egyedfejlődése alatt.

Grouped linear regression

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>	
Common slope	0,000813	1	0,000813	190,082555	P < 0,0001
Between slopes	0,000212	1	0,000212	49,506598	P = 0,0004
Separate residuals	0,000026	6	0,000004		
Within groups	0,00105	8			

Common slope is significant

Difference between slopes is significant

Slope comparisons:

slope 1 (POD) vs. slope 2 (POD) = 0,222176 vs. 0,076525

Difference (95% CI) = 0,145651 (0,094998 to 0,196303)

t = 7,036093 P = 0,0004

Covariance analysis

Uncorrected:

<u>Source of variation</u>	<u>YY</u>	<u>xy</u>	<u>xx</u>	<u>DF</u>
Between groups	0,00023	-0,000552	0,001322	1
Within	0,00105	0,005725	0,040324	8
Total	0,00128	0,005173	0,041647	9

Corrected:

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>
Between groups	0,000401	1	0,000401	11,817599
Within	0,000237	7	0,000034	
Total	0,000638	8		

P = 0,0109

Corrected Y means $\pm$ SE for baseline mean predictor of 0,0889:

Y' = 0,020033 $\pm$ 0,002625

Y' = 0,007167 $\pm$ 0,002625

Line separations (common slope = 0,141964):

Lines not parallel

line 1 (POD) vs. line 2 (POD) vertical separation = 0,012865

95% CI = 0,004016 to 0,021715

t = 3,437673 (7 df) P = 0,0109

c. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise gyököcske és rügyecske állapotok között a kocsányos tölgy egyedfejlődése alatt.

Grouped linear regression

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>	
Common slope	0,000197	1	0,000197	31,584704	P = 0,0025
Between slopes	0,000011	1	0,000011	1,768824	P = 0,241
Separate residuals	0,000031	5	0,000006		
Within groups	0,00024	7			

Common slope is significant

Difference between slopes is **NOT** significant

Slope comparisons:

slope 1 (POD) vs. slope 2 (POD) = 0,076525 vs. 0,130277

Difference (95% CI) = 0,053753 (-0,050141 to 0,157646)

t = -1,329971 P = 0,241

Covariance analysis

Uncorrected:

<u>Source of variation</u>	<u>YY</u>	<u>XY</u>	<u>XX</u>	<u>DF</u>
Between groups	0,00003	0,000023	0,000018	1
Within	0,00024	0,002302	0,026832	7
Total	0,00027	0,002325	0,02685	8

Corrected:

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>
Between groups	0,000027	1	0,000027	3,759338
Within	0,000042	6	0,000007	
Total	0,000069	7		

P = 0,1006

Corrected Y means $\pm$ SE for baseline mean predictor of 0,101667:

Y' = 0,008909 $\pm$ 0,001188

Y' = 0,012364 $\pm$ 0,001328

Line separations (common slope = 0,08579):

line 1 (POD) vs. line 2 (POD) vertical separation = -0,003455

95% CI = -0,007816 to 0,000905

t = -1,938901 (6 df) P = 0,1006

d. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise rügyecske és gyökeres állapotok között a kocsányos tölgy egyedfejlődése alatt.

Grouped linear regression

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>	
Common slope	0,000217	1	0,000217	36,649831	P = 0,0018
Between slopes	0,000022	1	0,000022	3,655835	P = 0,1141
Separate residuals	0,00003	5	0,000006		
Within groups	0,000268	7			

Common slope is significant

Difference between slopes is **NOT** significant

Slope comparisons:

slope 1 (POD) vs. slope 2 (POD) = 0,130277 vs. 0,058603

Difference (95% CI) = 0,071674 (-0,024687 to 0,168034)

t = 1,912024 P = 0,1141

Covariance analysis

Uncorrected:

<u>Source of variation</u>	<u>YY</u>	<u>xy</u>	<u>xx</u>	<u>DF</u>
Between groups	0,000012	0,000198	0,003337	1
Within	0,000268	0,003328	0,051141	7
Total	0,00028	0,003527	0,054478	8

Corrected:

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>
Between groups	1,03E-07	1	1,03E-07	0,012062
Within	0,000051	6	0,000009	
Total	0,000051	7		

P = 0,9161

Corrected Y means $\pm$ SE for baseline mean predictor of 0,124778:

Y' = 0,013901 $\pm$ 0,001486

Y' = 0,013679 $\pm$ 0,001325

Line separations (common slope = 0,065085):

line 1 (POD) vs. line 2 (POD) vertical separation = 0,000222

95% CI = -0,004725 to 0,005169

t = 0,109826 (6 df) P = 0,9161

e. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise gyökeres és leveles állapotok között a kocsányos tölgy egyedfejlődése alatt.

Grouped linear regression

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>	
Common slope	0,000551	1	0,000551	84,271854	P < 0,0001
Between slopes	0,000235	1	0,000235	36,025036	P = 0,0005
Separate residuals	0,000046	7	0,000007		
Within groups	0,000832	9			

Common slope is significant

Difference between slopes is significant

Slope comparisons:

slope 1 (POD) vs. slope 2 (POD) = 0,058603 vs. 0,200764

Difference (95% CI) = 0,14216 (0,086154 to 0,198167)

t = -6,002086 P = 0,0005

Covariance analysis

Uncorrected:

<u>Source of variation</u>	<u>YY</u>	<u>xy</u>	<u>xx</u>	<u>DF</u>
Between groups	0,000031	0,000047	0,000073	1
Within	0,000832	0,005845	0,062051	9
Total	0,000863	0,005892	0,062124	10

Corrected:

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>
Between groups	0,000023	1	0,000023	0,643069
Within	0,000281	8	0,000035	
Total	0,000304	9		

P = 0,4458

Corrected Y means $\pm$ SE for baseline mean predictor of 0,144818:

Y' = 0,015065 $\pm$ 0,002652

Y' = 0,017945 $\pm$ 0,002421

Line separations (common slope = 0,094194):

Lines not parallel

line 1 (POD) vs. line 2 (POD) vertical separation = -0,00288

95% CI = -0,011162 to 0,005402

t = -0,801916 (8 df) P = 0,4458

6. melléklet

A tárolás alatti paraméterek átlagértékei sziklevelekben, gyökérben, és levélben.

A kisbetűk szignifikáns különbségeket jelölnek 95% feltételezési valószínűség mellett. A jobb alsó indexben a vizsgált minták száma látható.

1. táblázat Az endogén formaldehidtartalom átlagértékei sziklevelekben a tárolás alatt.

2004. december		2005. január	2005. február	2005. április
27,585 ₆ ^a		23,423 ₆ ^a	34,537 ₆ ^b	14,312 ₆ ^c

2. táblázat A fenoloidtartalom átlagértékei sziklevelekben a tárolás alatt.

2004. december		2005. január	2005. február	2005. április
7,583 ₆ ^a		7,448 ₆ ^a	7,532 ₅ ^a	9,452 ₆ ^a

3. táblázat A kataláz aktivitás átlagértékei sziklevelekben a tárolás alatt.

2004. december		2005. január	2005. február	2005. április
5,36 ₆ ^a		4,55 ₆ ^a	4,63 ₆ ^a	4,14 ₅ ^a

4. táblázat A POD és PPO aktivitások átlagértékei sziklevelekben a tárolás alatt.

2004. december		2005. január		2005. február		2005. április	
POD	PPO	POD	PPO	POD	PPO	POD	PPO
0,189 ₅ ^a	0,061 ₅ ^a	0,071 ₅ ^a	0,006 ₅ ^b	0,084 ₅ ^a	0,030 ₅ ^c	0,064 ₅ ^a	0,006 ₅ ^b

5. táblázat A fehérjetartalom átlagértékei sziklevelekben a tárolás alatt.

2004. december		2005. január	2005. február	2005. április
192,407 ₆ ^a		169,777 ₆ ^a	152,417 ₆ ^a	155,855 ₆ ^a

7. melléklet

a. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise 2005. december és 2006. január között a kocsányos tölgy makk tárolása alatt.

Grouped linear regression

Source of variation	SSq	DF	MSq	VR	
Common slope	0,000703	1	0,000703	77,554349	P = 0,0001
Between slopes	0,000007	1	0,000007	0,77918	P = 0,4114
Separate residuals	0,000054	6	0,000009		
Within groups	0,000765	8			

Common slope is significant

Difference between slopes is **NOT** significant

Slope comparisons:

slope 1 (POD) vs. slope 2 (POD) = 0,138607 vs. 0,097444

Difference (95% CI) = 0,041163 (-0,072943 to 0,155269)

t = 0,882712 P = 0,4114

Covariance analysis

Uncorrected:

Source of variation	YY	XY	XX	DF
Between groups	0,007618	0,016312	0,034928	1
Within	0,000765	0,005262	0,039374	8
Total	0,008382	0,021574	0,074303	9

Corrected:

Source of variation	SSq	DF	MSq	VR
Between groups	0,002057	1	0,002057	234,192056
Within	0,000061	7	0,000009	
Total	0,002118	8		

P < 0,0001

Corrected Y means $\pm$ SE for baseline mean predictor of 0,1305:

Y' = 0,053301 $\pm$ 0,001592

Y' = 0,013899 $\pm$ 0,001592

Line separations (common slope = 0,13365):

line 1 (POD) vs. line 2 (POD) vertical separation = 0,039403

95% CI = 0,033314 to 0,045491

t = 15,303335 (7 df) P < 0,0001

b. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise 2006. január és 2006. február között a kocsányos tölgy makk tárolása alatt.

Grouped linear regression

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>	
Common slope	0,001197	1	0,001197	34,393377	P = 0,0011
Between slopes	0,000268	1	0,000268	7,699847	P = 0,0322
Separate residuals	0,000209	6	0,000035		
Within groups	0,001674	8			

Common slope is significant

Difference between slopes is significant

Slope comparisons:

slope 1 (POD) vs. slope 2 (POD) = 0,097444 vs. 0,389185

Difference (95% CI) = 0,291741 (0,03448 to 0,549003)

t = -2,77486 P = 0,0322

Covariance analysis

Uncorrected:

<u>Source of variation</u>	<u>YY</u>	<u>XY</u>	<u>XX</u>	<u>DF</u>
Between groups	0,00144	0,000756	0,000397	1
Within	0,001674	0,004111	0,014117	8
Total	0,003114	0,004867	0,014514	9

Corrected:

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>
Between groups	0,001005	1	0,001005	14,754309
Within	0,000477	7	0,000068	
Total	0,001482	8		

P = 0,0064

Corrected Y means $\pm$ SE for baseline mean predictor of 0,0777:

Y' = 0,007835 $\pm$ 0,003717

Y' = 0,028165 $\pm$ 0,003717

Line separations (common slope = 0,291205):

Lines not parallel

line 1 (POD) vs. line 2 (POD) vertical separation = -0,020331

95% CI = -0,032847 to -0,007815

t = -3,841134 (7 df) P = 0,0064

c. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise 2006. február és 2006. április között a kocsányos tölgy makk tárolása alatt.

Grouped linear regression

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>	
Common slope	0,000822	1	0,000822	24,471563	P = 0,0026
Between slopes	0,000615	1	0,000615	18,305713	P = 0,0052
Separate residuals	0,000202	6	0,000034		
Within groups	0,001639	8			

Common slope is significant

Difference between slopes is significant

Slope comparisons:

slope 1 (POD) vs. slope 2 (POD) = 0,389185 vs. 0,039955

Difference (95% CI) = 0,34923 (0,149503 to 0,548957)

t = 4,278518 P = 0,0052

Covariance analysis

Uncorrected:

<u>Source of variation</u>	<u>YY</u>	<u>xy</u>	<u>xx</u>	<u>DF</u>
Between groups	0,001392	0,001156	0,00096	1
Within	0,001639	0,004085	0,020293	8
Total	0,003032	0,005242	0,021254	9

Corrected:

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>
Between groups	0,000922	1	0,000922	7,902246
Within	0,000817	7	0,000117	
Total	0,001739	8		

P = 0,0261

Corrected Y means $\pm$ SE for baseline mean predictor of 0,0742:

Y' = 0,028027 $\pm$ 0,004888

Y' = 0,008373 $\pm$ 0,004888

Line separations (common slope = 0,201309):

Lines not parallel

line 1 (POD) vs. line 2 (POD) vertical separation = 0,019654

95% CI = 0,003122 to 0,036187

t = 2,811093 (7 df) P = 0,0261

8. melléklet

A kocsányos tölgy csemeték hideg-, fényhiánystressz alatti paramétereinek átlagértékei levélszövetekben.

A kisbetűk soron belüli, a nagybetűk oszlopon belüli szignifikáns különbségeket jelölnek 95% feltételezési valószínűség mellett. A jobb alsó indexben a vizsgált minták száma látható.

1. táblázat Kocsányos tölgy csemete leveleinek endogén formaldehidtartalma hideg és fényhiány stressz alatt.

formaldehid	2005	2006	2007
kontroll	6,500 ₅ ^{aA}	0,557 ₄ ^{bA}	0,462 ₆ ^{bA}
hideg	9,351 ₅ ^{aB}	1,254 ₄ ^{bA}	2,146 ₆ ^{bB}
fényhiány	8,512 ₄ ^{aB}	3,652 ₄ ^{bB}	2,903 ₆ ^{bB}

2. táblázat Kocsányos tölgy csemete leveleinek fenoloidtartalma hideg és fényhiány stressz alatt.

fenoloid	2005	2006	2007
kontroll	5,763 ₅ ^{aA}	1,783 ₅ ^{bA}	2,226 ₅ ^{bA}
hideg	4,946 ₅ ^{aA}	2,520 ₅ ^{bA}	3,282 ₆ ^{bA}
fényhiány	4,463 ₄ ^{aA}	3,050 ₅ ^{bA}	2,827 ₆ ^{bA}

3. táblázat Kocsányos tölgy csemete leveleinek kataláz aktivitása hideg és fényhiány stressz alatt.

kataláz	2005	2006	2007
kontroll	6,994 ₅ ^{aA}	20,611 ₅ ^{bA}	24,270 ₅ ^{bA}
hideg	4,063 ₄ ^{aB}	14,721 ₅ ^{bB}	20,193 ₅ ^{cB}
fényhiány	7,167 ₄ ^{aB}	19,490 ₅ ^{bB}	27,225 ₆ ^{bA}

4. táblázat Kocsányos tölgy csemete leveleinek peroxidáz aktivitása hideg és fényhiány stressz alatt.

POD	2005	2006	2007
kontroll	5,598 ₅ ^{aA}	8,800 ₄ ^{aA}	5,905 ₆ ^{aA}
hideg	4,229 ₅ ^{aA}	8,820 ₅ ^{aA}	7,760 ₄ ^{aA}
fényhiány	5,911 ₅ ^{aA}	10,459 ₅ ^{aA}	6,620 ₆ ^{aA}

5. táblázat Kocsányos tölgy csemete leveleinek polifenol-oxidáz aktivitása hideg és fényhiány stressz alatt.

PPO	2005	2006	2007
kontroll	0,602 ₅ ^{aA}	1,388 ₄ ^{bA}	1,666 ₆ ^{bA}
hideg	0,704 ₅ ^{aA}	1,413 ₅ ^{bA}	2,270 ₄ ^{bA}
fényhiány	0,231 ₅ ^{aB}	0,809 ₅ ^{bA}	1,086 ₆ ^{bB}

6. táblázat Kocsányos tölgy csemete leveleinek fehérjetartalma hideg és fényhiány stressz alatt.

fehérje	2005	2006	2007
kontroll	89,649 ₅ ^{aA}	128,197 ₅ ^{bA}	110,684 ₆ ^{bA}
hideg	70,473 ₅ ^{aB}	122,766 ₅ ^{bA}	118,162 ₆ ^{bA}
fényhiány	74,236 ₅ ^{aB}	106,475 ₅ ^{bA}	141,294 ₆ ^{cA}

9. melléklet

a. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise kocsányos tölgy csemeték leveleiben a hideg- és fényhiánystressz alatt 2005-ben.

Grouped linear regression

Source of variation	SSq	DF	MSq	VR	
Common slope	0,228771	1	0,228771	51,578816	$P < 0,0001$
Between slopes	0,093076	2	0,046538	10,492457	$P = 0,0044$
Separate residuals	0,039918	9	0,004435		
Within groups	0,361765	12			

Common slope is significant

Difference between slopes is significant

Slope comparisons:

slope 1 (C) vs. slope 2 (D) = 0,038076 vs. 0,07553

Difference (95% CI) = 0,037453 (0,004927 to 0,069979)

t = -2,604861 $P = 0,0285$

slope 1 (C) vs. slope 3 (E) = 0,038076 vs. 0,013938

Difference (95% CI) = 0,024139 (-0,006698 to 0,054975)

t = 1,770827 $P = 0,1104$

slope 2 (D) vs. slope 3 (E) = 0,07553 vs. 0,013938

Difference (95% CI) = 0,061592 (0,03113 to 0,092054)

t = 4,573925 $P = 0,0013$

Covariance analysis

Uncorrected:

Source of variation	YY	xy	xx	DF
Between groups	0,618778	-1,754136	8,00758	2
Within	0,361765	5,682682	141,158138	12
Total	0,980543	3,928546	149,165718	14

Corrected:

Source of variation	SSq	DF	MSq	VR
Between groups	0,744084	2	0,372042	30,77175
Within	0,132994	11	0,01209	
Total	0,877078	13		

$P < 0,0001$

Corrected Y means $\pm$ SE for baseline mean predictor of 5,24599:

$Y' = 0,587327 \pm 0,049282$

$Y' = 0,745265 \pm 0,050067$

$Y' = 0,204572 \pm 0,049558$

Line separations (common slope = 0,040258):

Lines not parallel

line 1 (C) vs. line 2 (D) vertical separation = -0,157938

95% CI = -0,313521 to -0,002355

t = -2,234304 (11 df) $P = 0,0472$

line 1 (C) vs. line 3 (E) vertical separation = 0,382754

95% CI = 0,22956 to 0,535949

t = 5,499126 (11 df) $P = 0,0002$

line 2 (D) vs. line 3 (E) vertical separation = 0,540693

95% CI = 0,383841 to 0,697545

t = 7,587122 (11 df) $P < 0,0001$

b. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise a kocsányos tölgy csemeték fényhiánystressze alatt 2006-ban.

Grouped linear regression

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>	
Common slope	5,344985	1	5,344985	297,38693	$P < 0,0001$
Between slopes	1,107473	1	1,107473	61,618142	$P = 0,0005$
Separate residuals	0,089866	5	0,017973		
Within groups	6,542323	7			

Common slope is significant

Difference between slopes is significant

Slope comparisons:

slope 1 (D) vs. slope 2 (E) = 0,349408 vs. 0,10706

Difference (95% CI) = 0,242348 (0,162985 to 0,321711)

$t = 7,849722$ $P = 0,0005$

Covariance analysis

Uncorrected:

<u>Source of variation</u>	<u>YY</u>	<u>xY</u>	<u>xx</u>	<u>DF</u>
Between groups	0,743004	-2,132139	6,118423	1
Within	6,542323	20,714494	80,279045	7
Total	7,285328	18,582355	86,397468	8

Corrected:

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>
Between groups	2,091299	1	2,091299	10,479732
Within	1,197339	6	0,199556	
Total	3,288637	7		

$P = 0,0177$

Corrected Y means $\pm$ SE for baseline mean predictor of 9,721406:

$Y' = 1,625502 \pm 0,228038$

$Y' = 0,619118 \pm 0,203133$

Line separations (common slope = 0,258031):

Lines not parallel

line 1 (D) vs. line 2 (E) vertical separation = 1,006384

95% CI = 0,245695 to 1,767073

$t = 3,237241$ (6 df) $P = 0,0177$

c. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise a kocsányos tölgy csemeték fényhiánystressze alatt 2007-ben.

Grouped linear regression

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>	
Common slope	0,668253	1	0,668253	215,42087	$P < 0,0001$
Between slopes	0,150771	1	0,150771	48,603035	$P = 0,0002$
Separate residuals	0,021715	7	0,003102		
Within groups	0,840739	9			

Common slope is significant

Difference between slopes is significant

Slope comparisons:

slope 1 (U) vs. slope 2 (V) = 0,192499 vs. 0,0722

Difference (95% CI) = 0,120299 (0,079496 to 0,161102)

t = 6,971588 $P = 0,0002$

Covariance analysis

Uncorrected:

<u>Source of variation</u>	<u>YY</u>	<u>xy</u>	<u>xx</u>	<u>DF</u>
Between groups	0,91587	-1,12971	1,393478	1
Within	0,840739	5,307695	42,157092	9
Total	1,756609	4,177985	43,55057	10

Corrected:

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>
Between groups	1,183312	1	1,183312	54,882942
Within	0,172485	8	0,021561	
Total	1,355797	9		

$P < 0,0001$

Corrected Y means $\pm$ SE for baseline mean predictor of 6,295292:

$Y' = 1,714803 \pm 0,066256$

$Y' = 1,045308 \pm 0,060394$

Line separations (common slope = 0,125903):

Lines not parallel

line 1 (U) vs. line 2 (V) vertical separation = 0,669494

95% CI = 0,461099 to 0,87789

t = 7,408302 (8 df) $P < 0,0001$

d. A POD és PPO enzimek korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise a kocsányos tölgy csemeték hidegstressze alatt 2007-ben.

Grouped linear regression

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>	
Common slope	1,294918	1	1,294918	12,245585	P = 0,0173
Between slopes	0,013504	1	0,013504	0,127698	P = 0,7354
Separate residuals	0,528728	5	0,105746		
Within groups	1,837149	7			

Common slope is significant

Difference between slopes is **NOT** significant

Slope comparisons:

slope 1 (Y) vs. slope 2 (Z) = 0,192499 vs. 0,236724

Difference (**95% CI**) = 0,044226 (**-0,273911 to 0,362363**)

t = -0,357349 **P = 0,7354**

Covariance analysis

Uncorrected:

<u>Source of variation</u>	<u>YY</u>	<u>XY</u>	<u>XX</u>	<u>DF</u>
Between groups	0,42701	1,025362	2,462157	1
Within	1,837149	6,204005	29,723652	7
Total	2,26416	7,229367	32,185809	8

Corrected:

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>
Between groups	0,098115	1	0,098115	1,085676
Within	0,542232	6	0,090372	
Total	0,640347	7		

P = 0,3376

Corrected Y means $\pm$ SE for baseline mean predictor of 6,373223:

$Y' = 1,76336 \pm 0,136893$

$Y' = 1,982012 \pm 0,153729$

Line separations (common slope = 0,208723):

line 1 (Y) vs. line 2 (Z) vertical separation = -0,218652

95% CI = -0,732131 to 0,294826

t = -1,041958 (6 df) **P = 0,3376**

10. melléklet

a. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise a kontroll és I. pontok között kocsányos tölgy csemeték szárazságstressze alatt.

Grouped linear regression

Source of variation	SSq	DF	MSq	VR	
Common slope	22,660067	1	22,660067	166,987702	P < 0,0001
Between slopes	0,058145	1	0,058145	0,428487	P = 0,537
Separate residuals	0,814194	6	0,135699		
Within groups	23,532407	8			

Common slope is significant

Difference between slopes is **NOT** significant

Slope comparisons:

slope 1 (POD) vs. slope 2 (POD) = 0,28237 vs. 0,231945

Difference (95% CI) = 0,050425 (-0,138067 to 0,238917)

t = 0,654589 P = 0,537

Covariance analysis

Uncorrected:

Source of variation	YY	XY	XX	DF
Between groups	24,239376	51,601894	109,852474	1
Within	23,532407	81,4911	293,061765	8
Total	47,771783	133,092993	402,914238	9

Corrected:

Source of variation	SSq	DF	MSq	VR
Between groups	2,935386	1	2,935386	23,554708
Within	0,872339	7	0,12462	
Total	3,807725	8		

P = 0,0018

Corrected Y means $\pm$ SE for baseline mean predictor of 25,5374:

Y' = 7,445171 $\pm$ 0,172033

Y' = 6,174629 $\pm$ 0,172033

Line separations (common slope = 0,278068):

line 1 (POD) vs. line 2 (POD) vertical separation = 1,270543

95% CI = 0,651512 to 1,889574

t = 4,853319 (7 df) P = 0,0018

b. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise a kontroll és II. pontok között kocsányos tölgy csemeték szárazságstressze alatt.

Grouped linear regression

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>	
Common slope	3,48203	1	3,48203	28,979082	P = 0,0017
Between slopes	18,364781	1	18,364781	152,840304	P < 0,0001
Separate residuals	0,72094	6	0,120157		
Within groups	22,567751	8			

Common slope is significant

Difference between slopes is significant

Slope comparisons:

slope 1 (POD) vs. slope 2 (POD) = 0,28237 vs. 0,011312

Difference (95% CI) = 0,271057 (0,217408 to 0,324706)

t = 12,36286 P < 0,0001

Covariance analysis

Uncorrected:

<u>Source of variation</u>	<u>YY</u>	<u>xY</u>	<u>xx</u>	<u>DF</u>
Between groups	134,534904	-151,018447	169,521593	1
Within	22,567751	117,557748	3968,898888	8
Total	157,102655	-33,460699	4138,420481	9

Corrected:

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>
Between groups	137,746391	1	137,746391	50,520739
Within	19,085721	7	2,726532	
Total	156,832112	8		

P = 0,0002

Corrected Y means $\pm$ SE for baseline mean predictor of 32,9691:

Y' = 8,488753 $\pm$ 0,746292

Y' = 0,909047 $\pm$ 0,746292

Line separations (common slope = 0,02962):

Lines not parallel

line 1 (POD) vs. line 2 (POD) vertical separation = 7,579707

95% CI = 5,058086 to 10,101327

t = 7,107794 (7 df) P = 0,0002

c. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise a kontroll és III. pontok között kocsányos tölgy csemeték szárazságstressze alatt.

Grouped linear regression

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>	
Common slope	21,201372	1	21,201372	1617,12255	P < 0,0001
Between slopes	0,186773	1	0,186773	14,245997	P = 0,0092
Separate residuals	0,078663	6	0,013111		
Within groups	21,466808	8			

Common slope is significant

Difference between slopes is significant

Slope comparisons:

slope 1 (POD) vs. slope 2 (POD) = 0,28237 vs. 0,061894

Difference (95% CI) = 0,220476 (0,077543 to 0,363409)

t = 3,774387 P = 0,0092

Covariance analysis

Uncorrected:

<u>Source of variation</u>	<u>YY</u>	<u>xY</u>	<u>xx</u>	<u>DF</u>
Between groups	163,466576	547,686412	1834,995344	1
Within	21,466808	75,933579	271,959212	8
Total	184,933384	623,619991	2106,954556	9

Corrected:

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>
Between groups	0,087843	1	0,087843	2,316568
Within	0,265436	7	0,037919	
Total	0,353279	8		

P = 0,1718

Corrected Y means $\pm$ SE for baseline mean predictor of 15,3056:

Y' = 4,584573 $\pm$ 0,182125

Y' = 4,062827 $\pm$ 0,182125

Line separations (common slope = 0,279209):

Lines not parallel

line 1 (POD) vs. line 2 (POD) vertical separation = 0,521746

95% CI = -0,288839 to 1,332332

t = 1,522028 (7 df) P = 0,1718

d. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise a kontroll és IV. pontok között kocsányos tölgy csemeték szárazságstressze alatt.

Grouped linear regression

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>
Common slope	21,337558	1	21,337558	1542,953084 P < 0,0001
Between slopes	0,040115	1	0,040115	2,900752 P = 0,1394
Separate residuals	0,082974	6	0,013829	
Within groups	21,460647	8		

Common slope is significant

Difference between slopes is **NOT** significant

Slope comparisons:

slope 1 (POD) vs. slope 2 (POD) = 0,28237 vs. -0,141196

Difference (95% CI) = 0,423566 (-0,184967 to 1,032098)

t = 1,703159 **P = 0,1394**

Covariance analysis

Uncorrected:

<u>Source of variation</u>	<u>YY</u>	<u>xY</u>	<u>xx</u>	<u>DF</u>
Between groups	163,531272	570,477017	1990,102704	1
Within	21,460647	75,660707	268,284804	8
Total	184,991919	646,137724	2258,387508	9

Corrected:

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>
Between groups	0,005091	1	0,005091	0,289548
Within	0,123089	7	0,017584	
Total	0,12818	8		

P = 0,6072

Corrected Y means $\pm$ SE for baseline mean predictor of 14,7447:

Y' = 4,388367 $\pm$ 0,128688

Y' = 4,257433 $\pm$ 0,128688

Line separations (common slope = 0,282016):

line 1 (POD) vs. line 2 (POD) vertical separation = 0,130934

95% CI = -0,444445 to 0,706312

t = 0,538096 (7 df) **P = 0,6072**

e. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise a I. és II. pontok között kocsányos tölgy csemeték szárazságstressze alatt.

Grouped linear regression

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>	
Common slope	0,609763	1	0,609763	2,549933	P = 0,1614
Between slopes	1,208838	1	1,208838	5,055167	P = 0,0656
Separate residuals	1,434775	6	0,239129		
Within groups	3,253376	8			

Common slope is **NOT** significant
 Difference between slopes is **NOT** significant

Slope comparisons:

slope 1 (POD) vs. slope 2 (POD) = 0,231945 vs. 0,011312
 Difference (95% CI) = 0,220633 (-0,019483 to 0,460748)
 t = 2,24837 P = 0,0656

Covariance analysis

Uncorrected:

<u>Source of variation</u>	<u>YY</u>	<u>xy</u>	<u>xx</u>	<u>DF</u>
Between groups	44,56321	-156,883187	552,301649	1
Within	3,253376	47,66424	3725,838607	8
Total	47,816586	-109,218947	4278,140256	9

Corrected:

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>
Between groups	42,384664	1	42,384664	112,229999
Within	2,643613	7	0,377659	
Total	45,028277	8		

P < 0,0001

Corrected Y means $\pm$ SE for baseline mean predictor of 29,6547:

Y' = 5,348073 $\pm$ 0,284833
 Y' = 0,935927 $\pm$ 0,284833

Line separations (common slope = 0,012793):

line 1 (POD) vs. line 2 (POD) vertical separation = 4,412146
 95% CI = 3,427324 to 5,396967
 t = 10,593866 (7 df) P < 0,0001

f. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise a II. és III. pontok között kocsányos tölgy csemeték szárazságstressze alatt.

Grouped linear regression

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>	
Common slope	0,47857	1	0,47857	4,106463	P = 0,0891
Between slopes	0,009963	1	0,009963	0,08549	P = 0,7798
Separate residuals	0,699244	6	0,116541		
Within groups	1,187777	8			

Common slope is **NOT** significant

Difference between slopes is **NOT** significant

Slope comparisons:

slope 1 (POD) vs. slope 2 (POD) = 0,011312 vs. 0,061894

Difference (95% CI) = 0,050582 (-0,372724 to 0,473887)

t = -0,292386 P = 0,7798

Covariance analysis

Uncorrected:

<u>Source of variation</u>	<u>YY</u>	<u>XY</u>	<u>XX</u>	<u>DF</u>
Between groups	1,40775	66,273452	3119,992323	1
Within	1,187777	42,106719	3704,736054	8
Total	2,595528	108,380171	6824,728377	9

Corrected:

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>
Between groups	0,165188	1	0,165188	1,630435
Within	0,709207	7	0,101315	
Total	0,874395	8		

P = 0,2424

Corrected Y means $\pm$ SE for baseline mean predictor of 19,4229:

Y' = 0,830243 $\pm$ 0,169692

Y' = 0,481357 $\pm$ 0,169692

Line separations (common slope = 0,011366):

line 1 (POD) vs. line 2 (POD) vertical separation = 0,348886

95% CI = -0,297205 to 0,994977

t = 1,276885 (7 df) P = 0,2424

g. A POD és PPO enzimaktivitások korrelációs egyeneseinek kovariancia analízise a III. és IV. pontok között kocsányos tölgy csemeték szárazságstressze alatt.

Grouped linear regression

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>	
Common slope	0,010666	1	0,010666	1,044346	P = 0,3462
Between slopes	0,008729	1	0,008729	0,854679	P = 0,3909
Separate residuals	0,061278	6	0,010213		
Within groups	0,080673	8			

Common slope is **NOT** significant
 Difference between slopes is **NOT** significant

Slope comparisons:

slope 1 (POD) vs. *slope* 2 (POD) = 0,061894 vs. -0,141196
 Difference (95% CI) = 0,20309 (-0,334443 to 0,740623)
 t = 0,924488 P = 0,3909

Covariance analysis

Uncorrected:

<u>Source of variation</u>	<u>YY</u>	<u>xY</u>	<u>xx</u>	<u>DF</u>
Between groups	0,000006	0,004487	3,146088	1
Within	0,080673	0,209678	4,12197	8
Total	0,08068	0,214165	7,268058	9

Corrected:

<u>Source of variation</u>	<u>SSq</u>	<u>DF</u>	<u>MSq</u>	<u>VR</u>
Between groups	0,004362	1	0,004362	0,43612
Within	0,070007	7	0,010001	
Total	0,074369	8		

P = 0,5301

Corrected Y means $\pm$ SE for baseline mean predictor of 1,1985:

Y' = 0,252068 $\pm$ 0,052569
 Y' = 0,307532 $\pm$ 0,052569

Line separations (common slope = 0,050868):

line 1 (POD) vs. *line* 2 (POD) vertical separation = -0,055464
 95% CI = -0,254061 to 0,143132
 t = -0,660394 (7 df) P = 0,5301

11. melléklet

a. Paraméterek közötti kapcsolat az egyedfejlődés folyamán.

egyedfejlődés	nyugalmi		duzzadási		gyököcske		rügyecske		gyökeres		leveles	
	R	R ²	R	R ²	R	R ²	R	R ²	R	R ²	R	R ²
HCHO-fenoloid	0,179	0,032	-0,299	0,089	-0,037	0,001	-0,114	0,013	0,280	0,078	-0,436	0,190
HCHO-KAT	-0,345	0,119	0,542	0,294	0,333	0,111	0,077	0,006	0,190	0,036	0,270	0,073
HCHO-POD	-0,953	0,908	0,737	0,543	-0,884	0,782	0,627	0,393	-0,199	0,040	-0,536	0,288
HCHO-PPO	-0,874	0,764	0,622	0,386	-0,815	0,664	0,797	0,635	-0,084	0,007	-0,647	0,419
fenoloid-KAT	-0,603	0,364	-0,689	0,475	-0,082	0,007	-0,449	0,202	-0,473	0,224	0,171	0,029
fenoloid-POD	-0,178	0,032	-0,782	0,612	-0,311	0,097	0,988	0,977	-0,412	0,170	0,014	0,000
fenoloid-PPO	-0,109	0,012	-0,825	0,681	-0,218	0,048	0,927	0,860	-0,300	0,090	-0,075	0,006
KAT-POD	0,333	0,111	0,647	0,419	0,004	0,000	-0,532	0,283	0,946	0,896	0,032	0,001
KAT-PPO	0,430	0,185	0,640	0,410	-0,076	0,006	-0,118	0,014	0,920	0,846	-0,052	0,003
POD-PPO	0,965	0,931	0,985	0,971	0,976	0,952	0,861	0,742	0,990	0,980	0,966	0,933

b. Paraméterek közötti kapcsolat a tárolás folyamán.

tárolás	2004. december		2005. január		2005. február		2005. április	
	R	R ²	R	R ²	R	R ²	R	R ²
HCHO-fenoloid	0,229	0,052	-0,005	0,000	-0,296	0,087	-0,618	0,383
HCHO-KAT	-0,345	0,119	0,123	0,015	0,346	0,120	0,753	0,567
HCHO-POD	-0,953	0,908	-0,759	0,577	0,170	0,029	0,402	0,161
HCHO-PPO	-0,874	0,764	-0,784	0,614	0,505	0,255	0,107	0,011
fenoloid-KAT	-0,620	0,385	-0,219	0,048	-0,087	0,007	-0,789	0,622
fenoloid-POD	-0,414	0,171	0,283	0,080	-0,965	0,932	-0,916	0,838
fenoloid-PPO	-0,385	0,148	0,033	0,001	-0,941	0,885	-0,674	0,455
KAT-POD	0,333	0,111	-0,062	0,004	-0,151	0,023	0,431	0,186
KAT-PPO	0,430	0,185	-0,501	0,251	-0,153	0,023	-0,616	0,379
POD-PPO	0,965	0,931	0,885	0,783	0,935	0,874	0,901	0,811

c. Paraméterek közötti kapcsolat a kocsányos tölgy makk hidegstressz vizsgálata folyamán.

makk-stressz		kontroll	16	26	36	46	56	66	76	86	96	106
HCHO-fenoloid	R	-0,273	-0,178	-0,094	-0,787	-0,616	0,100	-0,981	0,640	0,878	-0,330	0,214
HCHO-KAT		-0,145	0,915	0,098	0,837	0,473	0,453	0,745	-0,730	0,941	-0,118	0,757
fenoloid-KAT		0,991	-0,559	-1,000	-0,321	-0,985	0,932	-0,599	0,058	0,664	0,976	0,800
HCHO-fenoloid	R ²	0,075	0,032	0,009	0,620	0,380	0,010	0,961	0,410	0,771	0,109	0,046
HCHO-KAT		0,021	0,838	0,010	0,700	0,224	0,205	0,555	0,532	0,885	0,014	0,572
fenoloid-KAT		0,983	0,313	1,000	0,103	0,971	0,869	0,359	0,003	0,441	0,953	0,641

d. Paraméterek közötti kapcsolat a stresszvizsgálatok folyamán.

2005	kontroll		hidegstressz		fényhiány stressz			
	R	R ²	R	R ²	R	R ²		
HCHO-fenoloid	0,259	0,067	-0,702	0,493	0,951	0,905		
HCHO-KAT	-0,236	0,056	0,184	0,034	-0,593	0,352		
HCHO-POD	-0,676	0,457	0,116	0,014	0,119	0,014		
HCHO-PPO	-0,619	0,383	-0,104	0,011	-0,032	0,001		
fenoloid-KAT	0,148	0,022	-0,593	0,352	-0,593	0,351		
fenoloid-POD	-0,342	0,117	-0,610	0,372	0,215	0,046		
fenoloid-PPO	-0,287	0,082	-0,557	0,310	0,019	0,000		
KAT-POD	0,247	0,061	0,511	0,261	-0,593	0,352		
KAT-PPO	0,092	0,008	0,650	0,423	-0,383	0,147		
POD-PPO	0,982	0,965	0,934	0,872	0,954	0,910		
2006	kontroll		hidegstressz		fényhiány stressz			
	R	R ²	R	R ²	R	R ²		
HCHO-fenoloid	-0,903	0,815	-0,617	0,381	-0,292	0,085		
HCHO-KAT	0,176	0,031	-0,221	0,049	-0,632	0,399		
HCHO-POD	0,826	0,683	0,774	0,599	-0,375	0,140		
HCHO-PPO	0,262	0,069	-0,591	0,349	-0,455	0,207		
fenoloid-KAT	-0,147	0,022	-0,021	0,000	-0,272	0,074		
fenoloid-POD	-0,700	0,490	-0,787	0,619	-0,835	0,698		
fenoloid-PPO	-0,733	0,538	0,078	0,006	-0,721	0,520		
KAT-POD	-0,366	0,134	0,588	0,346	0,647	0,419		
KAT-PPO	-0,296	0,087	-0,054	0,003	0,577	0,333		
POD-PPO	0,995	0,990	-0,323	0,105	0,959	0,920		
2007	kontroll		hidegstressz		fényhiány stressz			
	R	R ²	R	R ²	R	R ²		
HCHO-fenoloid	-0,427	0,182	-0,497	0,247	0,135	0,018		
HCHO-KAT	0,641	0,411	0,329	0,108	0,344	0,118		
HCHO-POD	0,245	0,060	0,963	0,927	0,200	0,040		
HCHO-PPO	0,259	0,067	0,827	0,684	0,435	0,189		
fenoloid-KAT	-0,612	0,375	-0,264	0,070	-0,633	0,400		
fenoloid-POD	-0,610	0,373	-0,380	0,145	-0,592	0,351		
fenoloid-PPO	-0,653	0,426	-0,654	0,428	-0,639	0,408		
KAT-POD	0,440	0,194	0,513	0,263	0,074	0,005		
KAT-PPO	0,484	0,234	-0,118	0,014	0,305	0,093		
POD-PPO	0,992	0,983	0,735	0,540	0,949	0,901		
szárazság	kontroll		I.		II.		III.	
	R	R ²	R	R ²	R	R ²	R	R ²
HCHO-fenoloid	0,957	0,915	0,964	0,928	0,886	0,785	0,207	0,043
HCHO-KAT	-0,139	0,019	0,991	0,983	0,932	0,869	0,393	0,154
HCHO-POD	-0,693	0,480	-0,509	0,259	-0,168	0,028	0,273	0,074
HCHO-PPO	-0,704	0,496	-0,177	0,031	0,484	0,234	0,727	0,529
fenoloid-KAT	0,040	0,002	0,985	0,970	0,916	0,839	0,827	0,684
fenoloid-POD	-0,509	0,259	-0,332	0,110	-0,428	0,183	-0,474	0,225
fenoloid-PPO	-0,517	0,267	-0,140	0,020	0,064	0,004	0,775	0,601
KAT-POD	0,334	0,111	-0,436	0,190	-0,507	0,257	-0,472	0,223
KAT-PPO	0,373	0,139	-0,117	0,014	0,241	0,058	0,810	0,656
POD-PPO	0,999	0,998	0,643	0,413	0,586	0,343	-0,347	0,120