AZ ARCTIIN NÖVEKEDÉSSZABÁLYOZÓ HATÁSA AZ ORGANIZÁCIÓ KÜLÖNBÖZŐ SZINTJÉN

Egyetemi doktori értekezés

Irta: Szabó Margit

Készült a József Attila Tudományegyetem
Növénytani Tanszékén
Szeged, 1971.

JATE KÖZPONTI KÖNYVTÁRA
Folyóiratok
Szeged

Diss. B 546

TARTALOMJEGYZÉK

I. BEVEZETÉS 1

II. IRODALMI ÁTTEKINTÉS 3

1. A fenolok élettani jelentősége 3

2. A fenolok és nukleinsavak kölcsönhatásának lehetősége 8

3. Az optikai forgatóképesség alapjai 10

3.1 A nukleinsavak optikai forgatóképessége 14

3.2 Az optikai forgatás függése a hőmérséklettől 16

III. KISÉRLETI ANYAG ÉS MÓDSZER 18

1. A teljes növény organizációs szintjén történt vizsgálatok 18

1.1 Kisérleti anyag 18

1.2 Fenolmeghatározás 18

1.3 IES-oxidáz aktivitásának meghatározása 21

2. Morfológiai és szövettani vizsgálatokhoz felhasznált anyag és módszer 21

3. Az arctiin és nukleinsavak kölcsönhatásának vizsgálata 24

IV. AZ EREDMÉNYEK ISMERTETÉSE ÉS ÉRTÉKELÉSE 26

1. Az arctiin hatása a teljes növény organizációs szintjén 26

2. Az arctiin hatása morfológiai és szövettani szinten 39
2.1 Az arctiin hatása a csiranövények morfológiájára 39
2.2 Arctiin által kiváltott szövettani változások 40
2.2.1 Az arctiin hatása a szár szöveti felépitésére 40
2.2.2 Az arctiin hatása a gyökér szöveti felépitésére 41
2.2.3 Az arctiin hatása a gyökérszőrök kialakulására 42
3. Arctiin és nukleinsavak kölcsönhatása 43
V. ÖSSZEFOGLALÁS 53
VI. IRODALOMJEGYZÉK 55

I. BEVEZETÉS

A növények fenolanyagcseréjével foglalkozó kutatások nagyon széles skálájúak. A fenolok élettani jelentősége ma már vitathatatlan, mégis nagyon sok a fenolhatás területén a bizonytalan, tisztázatlan terület.

Hatásuk ismert különböző növekedési és fejlődéstani folyamatokban. Szerepük fontos a csírázásban, szervképzésben, virágzásban, sőt még a lombhullatásban is.

A növényélettani vizsgálatok azt mutatják, hogy számos ferment működéséhez fenol-tipusú vegyületek jelenléte szükséges, növényi hormonként is felfoghatók.

Sokoldalú hatásuknak egyik magyarázata nagy számuk, hiszen ide sorolják az egy gyürüt tartalmazó fenolkarbonsavakat és ezek laktonjait, a két benzolgyürüs flavonoidokat és a polifenolokat is. Szerkezeti sokrétüségüket még növeli az is, hogy a növényekben szabad állapotban csak ritkán fordulnak elő, leggyakrabban glukozid vagy eszterifikált formában vannak jelen.

Természetesen nem áll módunkban, és nem is lehetséges, hogy a fenolokkal foglalkozzunk általában,

ezért kiválasztottunk egy fenoltipusú vegyületet, az arctiint. Az arctiin hatását, előfordulását és élettani szerepét bemutatva az organizáció különböző szintjén a magasabb szintről az alacsonyabb felé haladva szeretnénk képet adni azok összefüggéséről.

Az ismertebb biokémiai, morfológiai és szövettani módszerek mellett lehetőségünk volt arra, hogy egy Magyarországon még alig alkalmazott módszert /cirkuláris dichroizmus mérését/ is felhasználjunk. Kisérleteinkben ez lehetőséget ad a nukleinsavak és fenolok kölcsönhatásának elemzéséhez. Mivel a mai biológiában még az optikai forgatóképesség alapján végzett kisérletek nem gyakoriak, a későbbiekben ennek fizikai alapjaira is kitérünk.

II. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

1. A fenolok élettani jelentősége

A fenolok növekedésszabályozó hatását már nagyon régen leirták /Czapek, 1902; Czapek és Bertel, 1906/. A kémiai módszerek fejlődésével több régebbi adat bizonytalannak mutatkozott. Amikor most egy rövid regisztrálásra vállalkozunk, akkor elsősorban az újabb idők irodalmi adatait dolgozzuk fel.

Disszertációmnak nem célja, hogy a fenolok /fenolkarbonsavak, ezek glukozidjai és észterei, flavonvázas vegyületek/ növekedésélettani szerepéről áttekintést nyújtson. A teljes irodalmi anyag kimerítő tárgyalására disszertáció keretében vállalkozni nem lehet. Mégis mivel egy fenol - az arctiin hatását vizsgáljuk az organizáció különböző szintjén - röviden meg kell emlékeznünk egyéb fenolok hatásáról annak hangsúlyozásával, hogy tudomásunk szerint az arctiin növekedésszabályozó hatását eddig nem vizsgálták. Előljáróban azt is meg kell jegyeznünk, hogy a különböző fenolok növekedésre gyakorolt hatása a koncentrációtól, a növényi fajtól és fejlődési állapottól igen nagy mértékben függ. Ebben látjuk az egymásnak ellentmondó adatok magyarázatát.

Kiragadva néhány jellemző példát először azt mutatjuk be, hogy a növény valamennyi fejlődési periódusát karakterisztikus fenoltükörváltozások kisérik, és ezek a fejlődési szakaszok kivülről adott fenolokkal a legkülönbözőképpen befolyásolhatók.

Fontos szerepet játszanak a fenolok a nyugalmi szakasz megszüntetésében /naringenin, kumarin/ /Phillips, 1962/. Számos adat ismeretes, mely szerint a fenolok befolyásolják a csirázást. A csirázás során eltünt kumarin mennyisége nagyjából forditva arányos a csirázási százalékkal /Mayer, 1953/. A salátamagvak csirázásakor a kumarin elsősorban a gyökerek megnyúlását gátolja /Khan és Tolbert, 1966/. Leirták a ferulasav csirázásszabályozó hatását is /Bardinszkaja és mtsai, 1962/. A nyúlásos növekedést Avena tesztben számos fenol serkenti, pl. a p-OH-benzoesav /Vieitez és mtsai, 1966/, transzkávésav /Vendrig és Buffel, 1961/. Jó összefoglalást ad Wain és Harper 1967-ben. Sokan viszont azt mutatták ki, hogy egyes fenolok /vanilinsav, sziringasav, kumarin stb. gátolják a hosszanövekedést /Knypl és Aldona, 1967; Gesto és mtsai, 1967/.

A szervképződés ugyancsak fenolokkal befolyásolható folyamat. Rutin, klorogénsav és más flavonoidok, pl. hosszúnappalos hatásra jelentékenyen felgyarapod-

nak /Dawson és Wada, 1957/. A sikimisav virágzásserkentő hatását is leirták /Loba, 1964/. A fenolok eloxidálása is a nappalhossz függvénye /Akszenova, 1963/. Szövettenyészetben is igazolták a sikimisav, ferulasav, kumársav virágzásserkentő hatását /Paulet, Mitsch, 1964/. Számos adat ismeretes, mely szerint a fenolok serkentik vagy gátolják a gyökeresedést /különböző fenolok/ /Hess, 1960, 1961/. A körtéből fenolos természetü gyökérserkentő anyagot vontak ki /Fadl és Hartmann, 1967/. A scopoletinről viszont tudjuk, hogy a borsógyökér növekedését gátolja /Andreae, 1952/. Ezzel szemben a Hedera és Hibiscus fajokban gyökeresedést iniciáló fenolokat lehetett kimutatni /Hess, 1962/. A gyökerek morfológiáját is befolyásolják a fenoltermészetü anyagok /Ciasca és mtsai, 1965/. Nemcsak magasabbrendü növényeken, hanem algákon is megfigyelték a kumarin organizációs hatását /Boney, 1967/.

Egyértelmüen az a vélemény, hogy a fotomorfogenetikai jelenségeket karakterisztikus fenolváltozások kisérik. Ennek minden bizonnyal az a magyarázata, hogy a fény hat a flavonoidok és fenolok szintézisére /Scherf és Zenk, 1967b, Rusell és Galston, 1967/, és pedig oly módon, hogy a fenilalaninammonialiáz /fenilalanindeaminász/ indukciója a vörös-infravörös pigmentrendszertől függ /Durst és Mohr, 1966a, 1966b;

Engelsma, 1966, 1967; Mumford és mtsai, 1964; Rusell, 1967; Scherf és Zenk, 1967a/.

A geotropos görbüléseket és a geomorfogén hatásokat is fenoltükörbeli változások kisérik /Rufelt, 1959; Garay és mtsai, 1968/.

Végül azt kell megemlitenünk, hogy a dezorganizált növekedés és a fenolanyagcsere között kapcsolat van. A gubacsképződés és a fenolok lignifikációja közötti összefüggés közismert /Lipetz, 1962/. Azt azonban túlzott véleménynek tartjuk, hogy a tumorképződés és a ferulasavtartalom között okozati összefüggés volna, mint Emsweller és mtsai állitják /1962/.

Kérdés persze, hogy a fenoloknak e sokoldalú hatása mire vezethető vissza. Annyi mindenesetre bizonyos, hogy az egyes növényi hormonok növekedésserkentő hatását a fenolok befolyásolják. Pl. a fahéjsav, a p-kumársav, dehidroxilizokumarin serkenti a gibberellin-indukált növekedést /Cathey és mtsai, 1961/. Leirták a fenolok és a kinetin kölcsönhatását is /Lee, 1962/. Az auxin és a fenol-fenoláz rendszerek közötti összefüggésre vonatkozóan igen sok adat ismeretes. Reprezentációnak tartjuk Tomaszewski munkásságát, amely számos mono- és polifenol auxin-szinergizmusát és autogonizmusát irja le /1961, 1966/. Lehet, hogy a fenol- és auxinanyagcsere között a trip-

tofánszintézisen keresztül összefüggés is van, ugyanis a triptofán a sikimisav úton keletkezik /Weinstein és mtsai, 1962/. Semmiképpen nem térhetünk ki részletesen a fenolhatás és az IES-oxidáz közötti összefüggésre. Garay disszertációjában az idevonatkozó adatokat több mint ezerre becsülte /1968/. Annyi bizonyos, hogy a fenolok rendkivül sokoldalúan serkenthetik vagy gátolhatják a különböző IES-oxidáz rendszereket /Garay, dissz. 1968/.

Viszonylag kevés és csak közvetett adat van a fenolok és a nukleinsavak közötti kapcsolatról. D'Amato és Hoffmann-Ostenhof szerint orto- és parafenolok mutagén hatásúak a növényekben /1956/. Csajlahján megjegyzi, hogy a gibberellinek feltételezett nukleinsavakra gyakorolt hatásában szerepel a fahéjsav /1961/. A kumarin által indukált növekedésserkentés RNS szinten is megnyilvánul /Knypl, 1966/.

Mindezek az adatok csak távolról érintik a fenolok nukleinsavra gyakorolt hatásának kérdését, amely a mi kisérleti vizsgálatainkban jelentékeny helyet foglal el. Ismét hangsúlyozzuk, hogy nem célunk a fenolanyagcsere és növekedés közötti összefüggés részletes bemutatása, csupán néhány kiragadott példával akartuk illusztrálni az idevonatkozó ismeretanyag sokoldalúságát.

2. A fenolok és nukleinsavak kölcsönhatásának lehetősége

Az a hipotézis, hogy a hormonhatás közvetlenül a fehérje- és nukleinsav-metabolizmussal kapcsolatos, egy sor kisérlettel már igazolt. Látjuk, hogy egyes növényi hormonok stimulálják a fehérje- ill. RNS szintézist /Kulajeva, 1967/. Ezt a hatást specifikus inhibitorokkal pl. aktinomicin D-vel blokkolni lehet. Egyes szteroid hormonoknak magas az affinitási képessége csavart formájú DNS-re. Az aktinomicin D és más festékek megváltoztatják a nukleinsavak konformációját. DNS és gibberellin A_7 kölcsönhatás következtében a DNS olvadási hőmérséklete növekszik - ezt a kettős spirál nagyobb fokú stabilitásával lehet magyarázni /Kessler, 1969/. Az aktinomicin D komplexet képez a DNS-sel. Az aktinomicin D, amely nem mutat optikai aktivitást a 440 nm abszorpciós tartományban, a DNS-hez kapcsolódva optikailag aktivvá válik /Yamaoka, 1968/. Ez az eredmény arra enged következtetni, hogy az aktinomicin D a komplexképzés következtében felveszi a DNS helikális struktúráját. Permagorov és Lazurkin /1965/ további lépést tesznek ebben az irányban. Vizsgálva az acridin festékek és az aktinomicin D kötésre kiváltott fizikai

változásokat, feltételezik, hogy a festék és a DNS koncentrációjának viszonyától függően változik a kötés módja is. Ha a P/D arány 10, akkor a festékmolekulák a kettős spirálon belül helyezkednek el a bázispárok között úgy, hogy a festékek síkja párhuzamos a bázisok síkjával. Ez esetben a festékmolekulák beékelődése következtében a spirál széthúzódik, hosszabb lesz. P/D 1 arány esetében kisebb energiájú kötéssel a festékmolekulák a spirálon kívül helyezkednek el.

Ezekből az adatokból kiindulva feltételeztük annak lehetőségét, hogy a fenolok ill. az általunk vizsgált arctiin szintén kölcsönhatásba léphet a DNS-sel, esetleg néhány RNS-sel is.

Abszorbciós mérésekkel nagyon nehézkes a beálló struktúraváltozásokat kimutatni, bár az abszorbciós max. elcsúszásából ill. intenzitásváltozásból - hyprochromicitásból is - lehet következtetni a kölcsönhatásra, de sokkal biztosabban demonstrálható a chirális molekulák térbeli struktúraváltozása az optikai forgatóképesség alapján.

3. Az optikai aktivitás alapjai

A biológiában az optikai forgatóképesség alapján végzett kisérletek nem gyakoriak, ezért, hogy az eredmények érthetőbbek legyenek, röviden ismertetjük az optikai forgatás és cirkuláris dichroizmus fizikai alapjait.

A sikban poláros fény rezgési sikja elfordul, ha optikailag aktiv anyagon keresztülhalad. A jelenséget azzal magyarázzák, hogy a sikban polarizált fény felfogható két cirkulárisan polarizált fény eredőjeként. Ezt a tényt kisérletileg is igazolták. A kétféle cirkulárisan polarizált fény közül az egyikben az elektromos vektor forgása az óramutató járásával megegyezően jobbra, a másikban az óramutató járásával ellenkező irányban, balra forog. Amplitudojuk és frekvenciájuk megegyezik. Az optikailag aktiv anyag törésmutatója a kétféle cirkulárisan poláros komponensre vonatkozóan különböző, ezért optikailag aktiv közegben a jobbos és balos fény különböző sebességgel terjed, a két fény között fáziskülönbség keletkezik. Ennek következtében megváltozik a kijövő fény polarizációs sikja - ezt a jelenséget nevezzük optikai rotációnak /α/.

$$\alpha = \pi \ell (n_L - n_R) \lambda$$

α - forgatás szöge radiánban

ℓ - a fény által megtett út

λ - hullámhossz

n - törésmutató a balra ill. jobbra cirkulárisan polarizált fényre vonatkozóan.

Fajlagos forgatóképességről /$[\alpha]$/ beszélünk akkor, ha a fény 1 dm 1g/ml koncentrációjú anyagon halad keresztül.

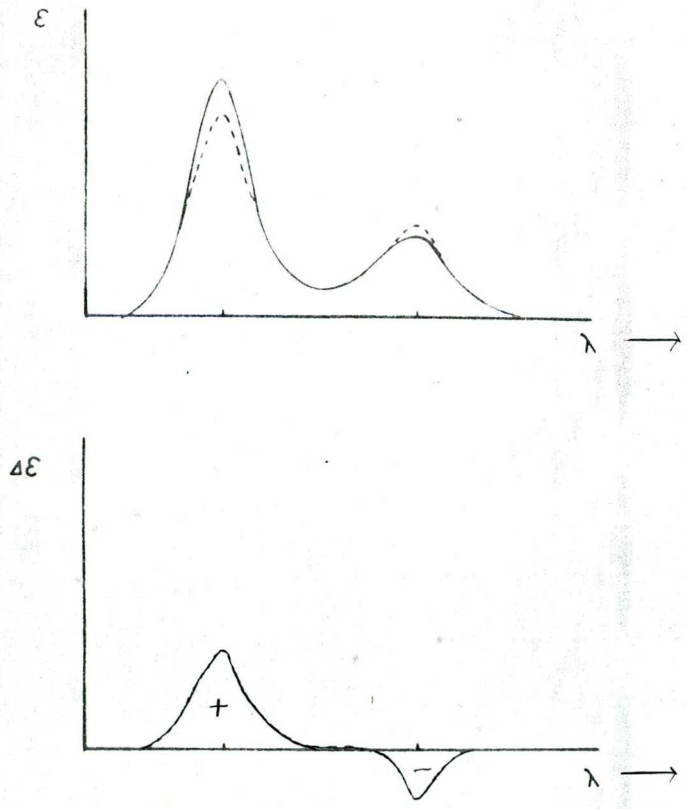
Moláris az anyag forgatóképessége akkor, ha 1 dm 1mol/100ml koncentrációjú rétegen bocsátunk keresztül fényt:

$$[M] = [\alpha] \frac{M}{100}$$

Ha a síkban polarizált fény hullámhossza megegyezik az abszorpciós maximum hullámhosszával, akkor a két cirkulárisan polarizált komponens különböző mértékben abszorbeálódik. A két cirkulárisan polarizált fény abszorpciókülönbsége adja a cirkuláris dichroizmust.

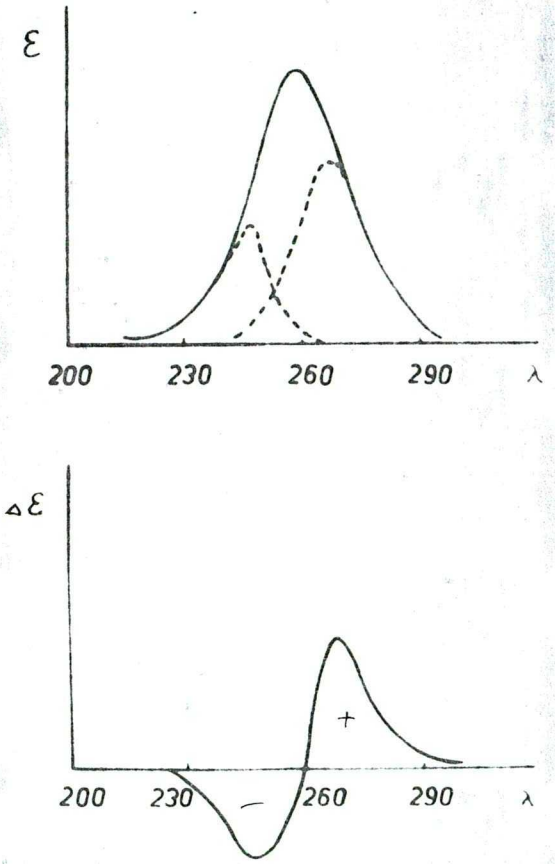
Az 1. ábrán bemutatjuk az abszorpció és cirkuláris dichroizmus viszonyát. Pontozott vonallal a jobbra cirkulárisan polarizált fény abszorpcióját,

kihúzott vonallal a balra cirkulárisan polarizált fény abszorpcióját jelöltük. A rajz alsó részén az ennek megfelelő cirkuláris dichroizmust láthatjuk. A hosszú hullámhosszú elnyelési sávon az anyag a jobbra cirkulárisan polarizált fényből abszorbeál többet, negativ CD görbét kapunk, a rövid hullámhosszú részen a balos fény abszorpciója intenzivebb, a cirkuláris dichroizmus pozitiv.



1. ábra. Fent: jobbra --- és balra —— cirkulárisan polarizált fény abszorpciója
Lent: /+/ és /-/ cirkuláris dichroizmus

Mint már említettük, az optikai forgatóképesség alapján ki lehet mutatni olyan struktúrabeli változásokat, amelyek abszorpciós görbék felvételével nem lehetségesek. Ezt szeretnénk érzékeltetni a 2. ábrán.



2. ábra. Fent: DNS abszorpciója ——, --- a feltételezett két átmenet

Lent: A DNS CD-je, a két átmenetnek megfelelő /-/ és /+/

Az egyszerüség kedvéért ideális abszorpciós és CD görbét mutatunk be. Az abszorpciós maximum

260nm van, ha ugyanennek a DNS-nek megmérjük a cirkuláris dichroizmusát a 300-220nm régióban, két maximumot kapunk - egy pozitivat és egy negativat. A "cross over" pont, vagyis a tengely metszéspontja kb. az abszorpciós maximumnak felel meg. Mire lehet ebből következtetni? Arra, hogy az általunk mért abszorpciós maximum tulajdonképpen két tranzicionak felel meg, amelyek részben fedik egymást, ezért nem lehet kimutatni abszorpció-méréssel. Viszont a CD érzékenysége miatt, és azért, mert a két hullámhosszon a balra, ill. jobbra cirkulárisan poláros fény abszorpciója különböző, CD spektrum segitségével a két tranzició csaknem tökéletesen elkülönithető.

3.1 A nukleinsavak optikai forgatóképessége

Az idevonatkozó adatok Yang és Samejina /1969/ cikkében nagy részletességgel megtalálhatók.

A nukleinsavak forgatásának mérésével 6-7 évvel ezelőtt kezdtek el foglalkozni, igy a molekuláris biológia arányiag fiatal ága. Ennek ellenére nagy mennyiségü adat gyülemlett fel, melyek óriási lehetőséget adnak a nukleinsavak szerkezetének és más anyagokkal való kölcsönhatásuknak elemzéséhez.

Függetlenül a nukleinsavak eredetétől, a DNS

és RNS lényegében ugyanazt a CD képet adja. Ha megvizsgáljuk a DNS és RNS CD görbéket, a legfeltünőbb különbség a két maximum nagyságának arányában van. A pozitiv és negativ maximum a DNS esetében kb. egyforma, míg a negativ maximum az RNS esetében kisebb a pozitivnél. Természetesen hullámhosszbeli különbséget is találunk. Bár nem lehet tökéletesen megmagyarázni a forgatásbeli különbségeket, de nyilvánvaló, hogy elsősorban a két nukleinsav struktúrabeli különbözőségét kell figyelembe venni. Az egyes purin és pirimidin bázisok cirkuláris dichroizmusa nagyon hasonló ha ribózzal vagy dezoxiribózzal kapcsolódik. Azt a lehetőséget, hogy esetleg az egyes és kettős spirál okozza a köztük levő különbséget, elvetették. Kettős spirálú RNS /reovirus/ CD görbéje lényegében ugyanazt mutatja mint bármely más egyes spirálú RNS. Természetesen a kettős hélix képződése okoz struktúrális változást, ami tükröződik a polimér optikai forgatásában is. Kettős hélix képződésekor mind a pozitiv, mind a negativ maximum eltolódik a rövidebb hullámhossz irányába. Ugyanakkor a bázispárok közötti H hidak felszakitása a CD spektrum vörös felé való eltolódását okozza.

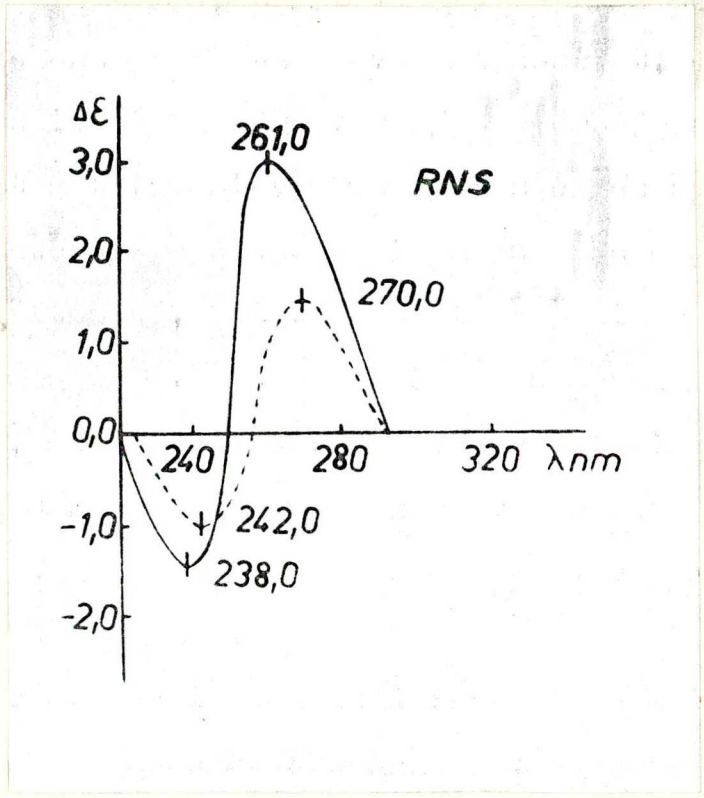
Marad a másik lehetőség: a két nukleinsavtipus alapvető különbségét a bennük levő cukrok okozzák.

Nagyon valószinü, hogy a dezoxiribozil polimerek "tapadt" bázisai más szögben vagy éppen merőlegesen állnak a helix tengelyére, mint a ribozil származékok. Ez nagymértékben változtathatja a molekula optikai forgatóképességét. Csak a két lánc szerkezetét kell elképzelnünk és figyelembe venni az optikai forgatóképesség lényegét, világos, hogy teljesen eltérő átmenetek keletkeznek attól függően, milyen szög alatt helyezkednek el a láncok tapadt bázisai.

3.2. Az optikai forgatás függése a hőmérséklettől

Az előzőekből kitünik, hogy a nukleinsavak cirkuláris dichroizmusa a polimér konformációjától függ. Összevetve a nukleinsavak olvadási görbéjével CD effektusukat, szintén mutatják helix-rendezettségüket. Az RNS széles olvadási görbét ad és valóban cirkuláris dichroizmusa a hőmérséklet emelésével fokozatosan csökken. A DNS esetében a 260nm-es abszorpciós maximum hiperkromicitása megegyezik a hőmérséklet növelésekor a rotációs görbe változásával. Hasonló méréseket laboratóriumunkban is végeztünk. Mértük az RNS és DNS abszorpcióját és cirkuláris dichroizmusát két különböző hőmérsékleten 20 és 40°C-on. A kapott eredmények a 3. ábrán láthatók. A képen az

RNS cirkuláris dichroizmusát tüntettük fel. Világosan látszik az RNS konformáció változása, "helix kicsavarodása", a hullámhosszeltolódás és CD csökkenés. A hőmérséklet emelésekor a DNS-nél ilyen határozott változás 40°C-on nem észlelhető.



3. ábra. Az RNS cirkuláris dichroizmusa
—— 40°C-on és —— 20°C-on

III. KISÉRLETI ANYAG ÉS MÓDSZER

1. A teljes növény organizációs szintjén történt vizsgálatok

1.1 Kisérleti anyag

Az Arctium lappa magvakat Szeged környékén vad példányokról gyüjtöttük 1968 őszén. A kisérletekben felhasznált többi magot a JATE Füvészkertjéből szereztük be.

Szobahőmérsékleten tároltuk, a csiráztatás 25°C-on termosztátban történt Petri-csészében, nedves szürőpapiron, fényen és sötétben. A megvilágitást F7 fénycsövekkel biztositottuk, a fényerősség 8000 lux, kb. 30000 erg/cm² sec.

1.2 Fenolmeghatározás

Alapul az Ibrahim-Towers módszert vettük /1960/. Mivel az Arctium lappa magok olajtartalma nagyon magas, ezért előzetes éteres extrahálásra volt szükség. Az eredeti Towers-féle szolvens használatakor az arctigenin majdnem pontosan együtt futott a vanilinsavval,

szinre is hasonlóak voltak, ezért a fenol-kromatografálás nagy többségében meg kellett változtatnunk a szolvenst. Módszerünk tehát a következőképpen alakult.

1 g meghámozott és szétzúzott magot, illetve csiranövényt 2 órán át éterrel zsirtalanitottunk. Utána forró etanolban homogenizáltuk, majd papirszürőn enyhe szivással megszürtük. A szürlet az etanolban oldódó, a maradék az etanolban oldhatatlan frakciót tartalmazta. A két frakciót külön dolgoztuk fel. A szürletet 50-55°C-on csaknem szárazra pároltuk, forró vizzel felvettük és késhegynyi celittel digeráltuk, hogy a klorofilltól megszabaduljunk, majd üvegszürőn, celit ágyon megszürtük. A szürlethez annyi 10n NaOH-t adtunk, hogy a végső koncentráció 2n legyen. Ezután egy éjszakán át jégszekrényben állni hagytuk. Ezalatt az észterek és glukozidok elhidrolizáltak és felszabadultak a fenolkarbonsavak. A pH-t 5n HCl-val 3-4-re állitottuk, és ebből a savanyú közegből a szabad fenolkarbonsavakat és fenolokat átmostuk éterbe. A kvantitativ átmosást likvid-likvid extraktorba végeztük 3 órás éteres főzéssel. Ennek befejeztével az étert bepároltuk és a maradékot 4 ml 80%-os etanolba felvéve kromatografáltuk.

A szürőpapiron maradt maradékot /etanol-oldhatatlan frakció/ megszáritottuk, 2n NaOH-t adtunk hoz-

zá, s egy éjjelen át hütőszekrényben tartva hidrolizáltuk. Az oldhatatlan formában levő fenolkarbonsavak igy felszabadultak. A továbbiakban ugyanúgy jártunk el, mint az oldható frakció esetében.

Kromatografálás

A kromatografálás szilikagéllel kevert MN 300-as cellulóz vékonyrétegen történt /30% szilikagél, 70% cellulóz/. Többnyire az Ibrahim-Towers-féle kétdimenziós eljárást használtuk, de az arctigenint ily módon nem tudtuk elkülöniteni. Jó eredményt kaptunk viszont egy dimenzióban is, butanol:ammónia:viz /6:3:1/ szolvenssel. A kromatogramokat minden esetben diazotált p-nitroanilinnel és lúggal hivtuk elő. Az arctigenin rózsaszin-lilás szinben jelentkezett 0,80-0,82 Rf értéknél. Az identifikálás nemcsak Rf érték és szin alapján, hanem autentikus anyagokkal való összehasonlitással történt. Az arctigenin azonositását UV abszorpcióval is elvégeztük. A kromatogramokról 80%-os etanollal eluált folt abszorpciós görbéje megegyezett az autentikus kristályos arctigenin elnyelési görbéjével. A fenolok kvantitativ meghatározását megfelelő eszközök hiányában nem tudtuk elvégezni, csak megközelitő mennyiségeket tudunk megadni.

A kristályos arctiint és arctigenint dr. Földeák Sándor bocsátotta rendelkezésünkre.

Először Shinoda és Kawagaye vonta ki 1929-ben az Arctium lappából. Bár elég régen ismert anyag, fiziológiai hatásáról keveset tudunk. Antitumor hatása bizonyitott /Földeák, 1966/. Az aglukon forma szerkezeti képlete a 4. ábrán, az arctigenin és arctiin abszorpciós görbéje pedig az 5. ábrán található.

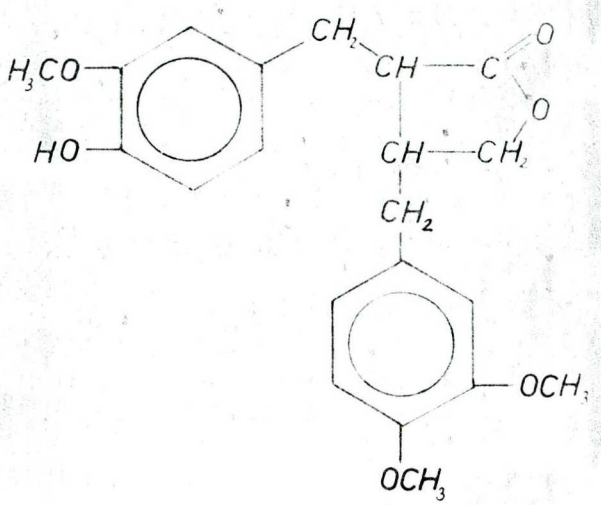
Az arctigenin - az aglukon - vizben nem oldódik, ezért gátlási kisérleteinkben és a későbbi nukleinsav-arctigenin kölcsönhatásának vizsgálatakor a vizoldékony glukozidot, az arctiint használtuk.

1.3 IES-oxidáz aktivitásának meghatározása

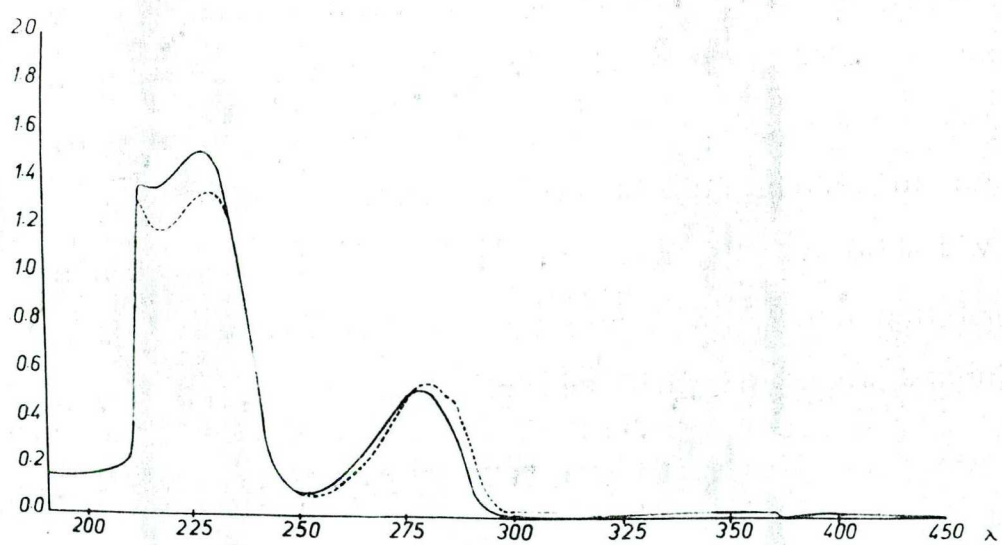
Kéthetes Lupinus albus enzimkivonaton, Warburg készüléken, Stutz /1957/ módszere szerint határoztuk meg.

2. Morfológiai és szövettani vizsgálatokhoz felhasznált anyag és módszer

A morfológiai és szövettani vizsgálatok keretében négy fajt vizsgáltunk meg. Az Arctium lappán kivül /Cucumis, Lactuca, Phaseolus/ kereskedelemben



4. ábra. Az arctigenin szerkezeti képlete



5. ábra. Az arctigenin --- és az arctiin —— abszorpciós görbéje /5.10^{-4}M/

kapható magokat használtunk fel. Az Arctium lappa magokat - ugyanúgy mint a fenolvizsgálatokhoz -, vad példányokról gyüjtöttük be. A magokat Petri csészében csiráztattuk desztillált vizes /kontroll/ és 5 mg/ml arctiin oldatos szürőpapiron. A csiráztatás termosztátban, 4000 lux, kb. 16000 erg/cm² sec megvilágitással, 24°C hőmérsékleten történt.

A csiranövényeket 3-4 napos korban 50%-os alkoholban fixáltuk és tartósitottuk.

A nagyon kisméretü gyökér- és hipokotilszár-darabokat celloidinbe ágyaztuk be. A celloidinbe ágyazott néhány tized mm vastagságú növényi részek nagyon jól láthatóak, igy azok metszési sikjainak beállitását gyorsan és pontosan el lehetett végezni. Ezzel a parafinos módszerhez viszonyitva a celloidines beágyazás ideje kb. a felére csökkent..A vizsgált növényi részek celloidinnel való átitatása 2, 4, 8%-os celloidin oldat segitségével 3, 2, 1 napig tartott. A metszésig a blokkokat 70%-os alkoholban tartósitottuk. A metszés szánkamikrotom segitségével történt. Az elkészült metszetek egy részéből kivontuk a celloidint, a finomabb, érzékenyebbekben /Lactuca, Cucumis/ benne maradt.

A celloidin kivonása után a metszeteket a szövettani vizsgálatokhoz a sejttartalomtól meg kellett

tisztitani. A tisztitáshoz a preparátum vastagságától függően 5-10%-os nátriumhipokloritot, ezután 2%-os ecetsavat használtunk. Az ecetsav kimosása után azokat a metszeteket, amelyek sejtjei nagy mennyiségü keményitőt tartalmaztak, a keményitő elhidrolizálása céljából 2%-os kénsavas oldatban kb. 1 percig főztük.

A tisztitás után a metszeteket Ehrlich-féle savanyú haematoxylinnel, azokat pedig, amelyekből nem vontuk ki a celloidint, gentiana ibolyával festettük. A festett metszetek tartósitása kanadabalzsamban történt.

A szövettájak kiértékelését kb. 750 metszetből végeztük el. A szerkezeti eltérésekről NFPK tipusú mikroszkópból EXAKTA-Warex fényképezőgéppel készitettünk felvételeket.

3. Az arctiin és nukleinsavak kölcsönhatásának vizsgálata

Vizsgálatainkhoz négy különböző eredetü nukleinsavat használtunk fel, élesztő RNS-t /yeast RNS, /MERCK/, t-RNS-t /CALBIOCHEM/ és erősen polmerizált RNS-t /highly polymerised RNS, CALBIOCHEM/. A vizsgált DNS csirkeembrió véréből származik. Sajnos nem volt lehetőségünk növényi nukleinsavak és arctiin

kölcsönhatásának vizsgálatára.

A nukleinsavakat 0,01M NaCl-t tartalmazó ioncserélt vizben /pH 6-6,5/, az arctiint pedig ioncserélt vizben oldottuk.

Jasco ORD/UV-5 spektrofotométerrel felvettük külön-külön a nukleinsavak /I/, az arctiin /II/ és az arctiin + nukleinsav /III/ abszorpcióját és cirkuláris dichroizmusát. A mérések szobahőmérsékleten történtek. A nukleinsavak moláris dekádikus extinkciója E_{260}= 1,1, az arctiiné E_{277}=0,47. Ennek megfelelően átszámitottuk a görbéket, igy a moláris oldatok abszorpcióját ill. cirkuláris dichroizmusát kaptuk. Az esetleges abszorpció és cirkuláris dichroizmusban történő változások bemutatása céljából a nukleinsavak és arctiin külön-külön felvett abszorpcióját és cirkuláris dichroizmusát matematikailag összeadtuk /IV/. Annak bemutatására, hogy melyik anyagnak változott meg a CD görbéje, a mért arctiin + nukleinsav görbékből kivontuk az arctiint ill. a nukleinsavat /V, VI/.

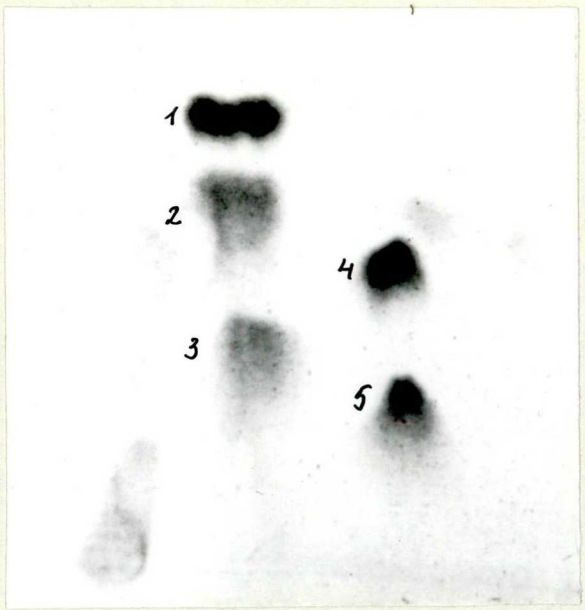
Az eredmények értékelésekor a technikai kivitelezés egyszerüsitése érdekében a 16-19.ábrák grafikonjain a különböző tipusú nukleinsavakat és arctiint rövidítve jelöltük.

élesztő RNS	y RNS	transzfer RNS	t RNS
polmerizált RNS	p RNS	csirkeembrió DNS	DNS
arctiin	A		

IV. AZ EREDMÉNYEK ISMERTETÉSE ÉS ÉRTÉKELÉSE

1. Az arctiin hatása a teljes növény organizációs szintjén

Az 1968 őszén begyüjtött magok fenolvizsgálatakor azt tapasztaltuk, hogy a nagyszámu fenolok között az egyik domináns anyag az arctigenin /6. ábra/. Az irodalom idevonatkozó adataiból arra következtethettünk, hogy valamilyen csirázásszabályozó anyaggal állunk szemben.



6. ábra. Az Arctium lappa magból készült kromatogram . 1.arctigenin; 2., 3. kávésav 4., 5.p-kumársav.

FENOLOK	ETANOL OLDÉKONY			ETANOL OLDHATATLAN		
	1	2	3	1	2	3
ARCTIGENIN	x x x x x	x x x x	x x x	–	–	x
p-KUMÁRSAV	x x x	x	–	x x	x x x	x x x x
p-OH-BEZOESAV	x x	–	–	–	x	x x
KÁVÉSAV	x x x	x	–	x x x	x	–
VANILINSAV	x x x	x	–	–	x	x
ISMERETLEN I	x x x	–	–	x x x	x x x	–
ISMERETLEN II	–	–	–	x	–	–

7. ábra. Fenolváltozások az Arctium lappa csirázása folyamán
1. száraz mag; 2. gyököcske megjelenik;
3. sziklevél megzöldül

Ha a csirázás különböző stádiumában levő csiranövénykék és magvak fenoltartalmát összehasonlitjuk, akkor elsősorban az etanololdható frakcióban vannak karakterisztikus változások. Mint a 7. ábrán látható, az arctigenin mennyisége a csirázás során jelentősen csökken, a p-kumársav, p-OH-benzoesav, vanilinsav és egy ismeretlen fenol mennyisége pedig a kimutathatóság határa alá esik. Ezzel szemben az etanol-oldhatatlan frakció nem viselkedik egysége-

sen. Az autotrof táplálkozásra való áttéréskor ebben a frakcióban a fenolok mennyisége valamelyest emelkedik, kivéve a kávésavat és a két ismeretlen fenolt.

Ez az adat nem meglepő, tekintve, hogy a fenolkarbonsavak bioszintézisük folyamán először az etanol-oldhatatlan frakcióban jelennek meg /Basyouni és mtsai, 1964/. Az a tény, hogy az etanol-oldható frakcióban a fenolok csökkenő tendenciát mutatnak, arra a következtetésre ad lehetőséget, hogy a fenolok - köztük elsősorban az arctigenin - részt vesznek a csirázás szabályozásában. A továbbiakban éppen ezért csak az arctigeninre voltunk tekintettel, annak előfordulását, mennyiségi változását és hatását vizsgáltuk.

Kíváncsiak voltunk arra, hogy vajon az Arctium lappa mely szervei tartalmazzák ezt a fenolt. Egydimenziós kromatográfiás módszerrel ennek a növénynek a levelében, szárában, gyökerében, különböző fejlődési stádiumban levő virágzatában és magvaiban vizsgáltuk az arctigenin tartalmat. A vegetativ szervekben /levél, szár, gyökér/ egy esetben sem találtunk - még nyomokban sem - arctigenint /8. ábra/, míg a teljes virágzat etanol-oldható frakció kromatogramján mindig jelen volt az arctigenin folt. Meg kell

jegyezni még azt is, hogy az idősebb virágzatokban az arctigenintartalom magasabb, mint a fiatalokban.

Az előző fejezetben már utaltunk arra, hogy bizonyos technikai okok miatt, pontos mennyiségi adatokat nem tudunk közölni. A táblázaton és a továbbiakban csillagokkal jelöljük a relativ mennyiséget. Egy csillag kb. 50 γ/mg anyagnak felel meg.

Az arctigeninnen csirázásszabályozó szerepét bizonyitaná az a tény is, ha korrelációt lehetne ki-

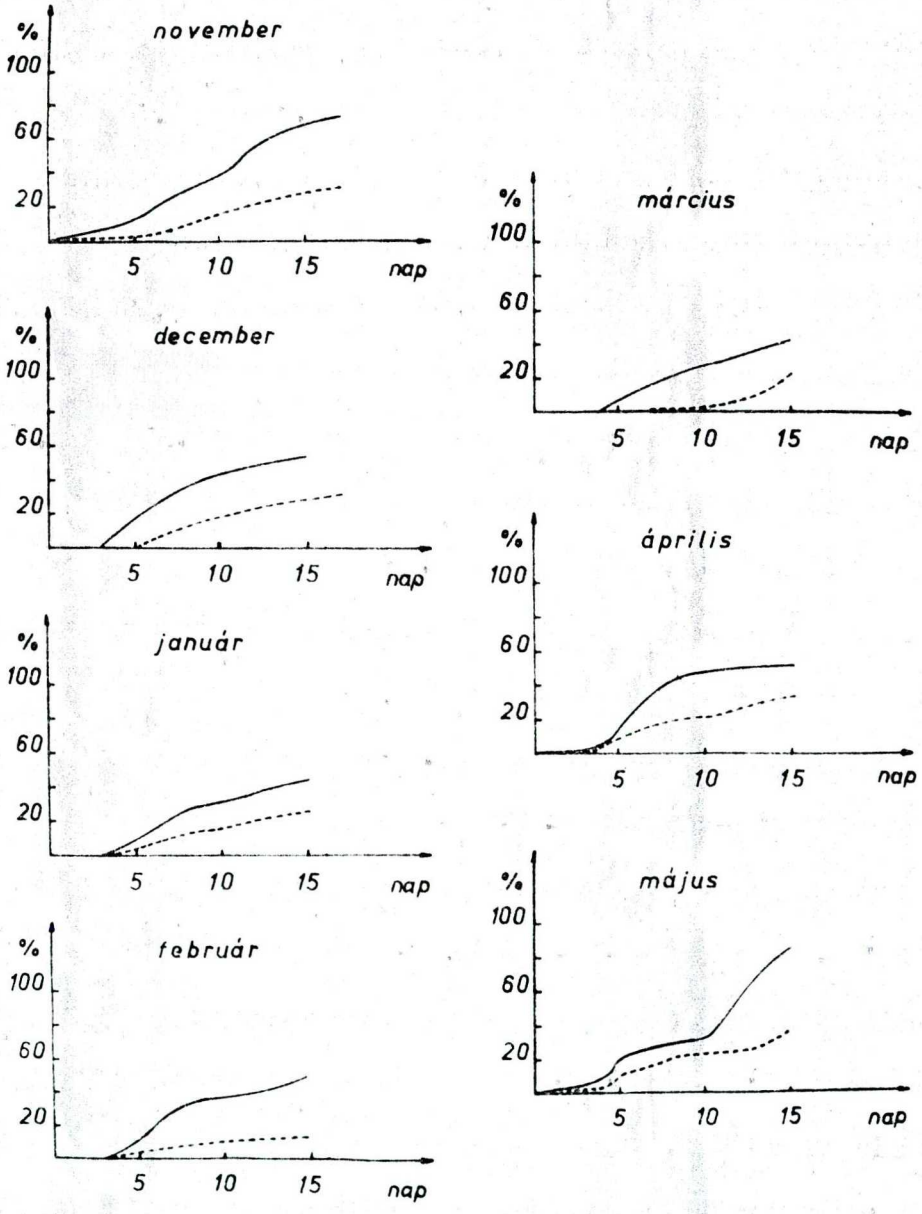
SZERVEK		ETOH oldható	ETOH oldhatatlan
LEVÉL		—	—
SZÁR		—	—
GYÖKÉR		—	—
MAG		xxx	x
TELJES VIRÁGZAT	fiatal	x	—
	idősebb	xxx	—

8. ábra. Az Arctium lappa szerveinek arctigenintartalma

mutatni az arctigenin mennyiségi változása és a magvak csirázása között. Ezért Arctium lappa magvakat csiráztattunk novembertől májusig. Ezzel párhuzamosan minden hónap első napjaiban meghatároztuk

arctigenintartalmukat. A magvak sötétben minden esetben gyengébben csíráztak mint fényben. Az őszi és téli hónapokban alacsonyabb /november, december, január, február, március/, a tavaszi hónapokban viszont magas csírázási aktivitást mutattak /április, május/ /9. ábra/.

Ha összevetjük a magvak csírázási intenzitását az egyes hónapoknak megfelelően arctigenintartalmukkal, azonnal összefüggés figyelhető meg a csírázási képesség és az arctigenintartalom között /10. ábra/. Az ábrán a fent említett hónapokon kívül feltüntettük az előző évben végzett arctigeninmérési eredményeket is. Mint látható, ebben az időszakban az arctigeninváltozás nem olyan egységes, mint a második évben, bár bizonyos törvényszerűségeket itt is láthatunk. Valószínű ez összefügg a magvak utóérési folyamatával. Az etanol-oldhatatlan frakció legmagasabb arctigenintartalmat éppen a téli hónapokban /december, január, február/ ad. A csírázás és az arctigenintartalom közötti összefüggést szemléletesen is bemutatjuk /11. ábra/. A diagram felső része a 15 nap alatt fényen és sötétben kicsírázott magvak százalékos mennyiségét mutatja, a diagram alsó részén pedig az alkoholban oldhatatlan és alkoholban oldható frakció arctigenintartalma szerepel γ/mg-ban.

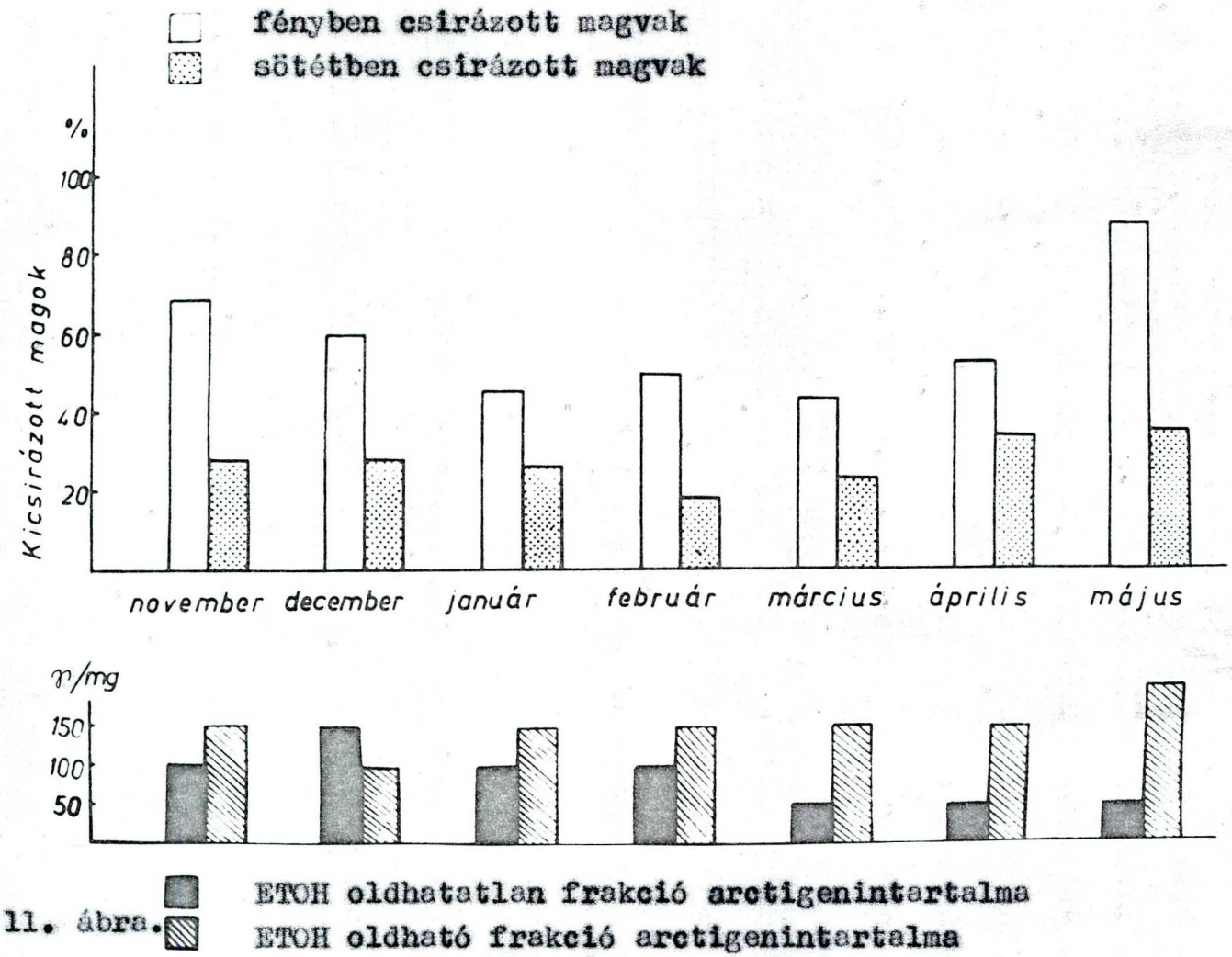


9. ábra. Az Arctium lappa magvak csirázása 1969. novembertől 1970. májusáig fényben ——, és sötétben ----

A diagramból kitünik, hogy a magvak begyüjtése után számitott második évben a csirázásnak határozott endogén ritmusa van, melyet az arctigenintartalom változása követ. Intenziv csirázás esetén az alkoholban oldhatatlan frakció arctigenintartalma csökken, csirázásgátlás esetén viszont emelkedik. Az etanolban oldható frakció viselkedése nem függ össze a csirázás évi ritmusával.

HÓNAP	ETOH oldható	ETOH oldhatatlan
1968. X	x	xxx
XI	—	xxx
XII	xx	x
1969. I	xx	x
II	xx	xx
III	xxx	—
V	xxx	—
VI	xxx	—
VII	xxx	xx
XI	xxx	xx
XII	xx	xxx
1970. I	xxx	xx
II	xxx	xx
III	xxx	x
IV	xxx	x
V	xxxx	x

10. ábra. Az Arctium lappa arctigenintartalma 1968 októberétől 1970 májusáig


fényben csirázott magvak
sötétben csirázott magvak
%
100
80
60
40
20
Kicsirázott magok
november
december
január
február
március
április
május
γ/mg
150
100
50
ETOH oldhatatlan frakció arctigenintartalma
ETOH oldható frakció arctigenintartalma

11. ábra.

Az előzőekben láttuk, hogy az Arctium lappaban az arctigenin csirázás-inhibitorként lép fel. Az arctigenin mennyiségének változásával változik a mag csirázóképessége is.

A következőkben azt kivántuk megvizsgálni, hogy mely növényekben van jelen arctigenin, és ennek milyen a hatása más növények csirázására.

A Compositae családon belül 11 faj magjának arctigenin tartalmát vizsgáltuk. A magok kiválasztásakor figyelembe vettük rokonsági kapcsolatukat is. Az ide vonatkozó adatok a 12. ábrán láthatók.

Az arctigenin nem egyedül az Arctium lappa-ra jellemző, hanem jelen van mindazon növényfajok magjában, amelyek virágzata emlékeztet az Arctium lappa virágzatára. Igy magas az Arctium tomentosum, Helianthus annuus, Senecio cruentus arctigenin szintje, egyáltalán nem találtunk azonban arctigenint a Carthamus tinctorius, Bidens tripartitus, Callistephus chinensis magvában.

Mint ismeretes, ez utóbbi növények virágzati tengelye hasonlóan a Matricaria virágzatához hosszában megvastagodott. Ezek szerint kapcsolat van az arctigenin tartalom és a növények rendszertani helyzete között. Mint a 12. ábrán látható, egyes növények esetében az alkoholban oldható, más növények-

nél az alkohol-oldhatatlan frakcióban találtunk arctigenint. A méréseket a kromatografálás hosszadalmassága miatt az év különböző időpontjában végeztük, ezért nincs olyan összehasonlító alapunk, ami szerint az egyes frakciók arctigenin tartalmának viszonyát értékelhetnénk.

VIRÁGZAT TIPUS	F A J	ETOH-ban oldható	ETOH-ban oldhatatlan
	ARCTIUM LAPPA		
	ARCTIUM TOMENTOSUM	x x x	x x
	SENECIO CRUENTUS	x x x	—
	HELIANTHUS ANNUUS	x x x	x
	LACTUCA SATIVA	—	x x
	ONOPORDUM ACANTHIUM	x x x	—
	TAGETES PATULUS	x	x x
	ZINNIA ELEGANS	x x x	—
	CARTHAMUS TINCTORIUS	—	—
	BIDENS TRIPARTITUS	—	—
	CALLISTEPHUS CHINENSIS	—	—

12. ábra. A virágzati tipus és az arctigenin tartalom közötti összefüggés a Compositae családon belül

A 13. és 14. ábrákon bemutatott kisérletek eredményei szintén azt bizonyitják, hogy az arctigenin hatása nem fajspecifikus, nemcsak az Arctium lappa csirázásszabályozásában vesz részt, hanem hat más növényekre is. Fényben és sötétben 12 különböző

faj magvát arctiines kezeléssel csiráztattuk. Az 5 mg/ml-es arctiin oldat gátolta a csirázást. Néhány növénynél /Plantago lanceolata, Cerastium biedersteinii, Melandrium album/ a gátlás fényen, más növényeknél /Alyssum alissoides, Capsella bursa-pastoris/ sötétben volt magasabb. Ez természetesen

FAJ	FÉNYBEN			SÖTÉTBEN		
	kontrol	arctiin	gátlás%	kontrol	arctiin	gátlás%
ATRIPLEX TATARICA	5,2	0,0	100,0	2,6	0,0	100,0
CAMPANULA MEDIA	39,0	1,3	96,7	44,2	2,6	94,1
AMARANTHUS ALBUS	45,5	16,9	62,6	29,9	6,5	78,2
PLANTAGO LANCEOLATA	66,3	24,7	62,6	74,1	52,0	30,0
CERASTIUM BIEDERSTEINII	19,5	9,1	53,2	24,7	16,9	32,0
VISCARIA VULGARIS	68,9	53,3	27,3	70,2	59,8	15,0
MELANDRIUM ALBUM	44,2	33,8	23,4	42,9	37,7	12,6
SILENE NUTANS	31,2	27,3	11,8	24,7	23,4	6,4
ARCTIUM LAPPA	78,1	69,0	8,8	51,2	48,2	9,6
ALYSSUM ALYSSOIDES	100,0	100,0	0,0	100,0	94,9	5,1
CAPSELLA BURSA-PASTORIS	6,5	7,1	—	13,9	9,1	30,1
SINAPIS ALBA	100,0	100,0	0,0	100,0	100,0	0,0

13. ábra. Arctiin hatása különböző fajok csirázására fényben és sötétben

más fiziológiai tényezőktől is függ, pl. a csirázás és a fény ismert kölcsönhatásától, stb.

Az Arctium lappa csirázására az arctiin igen gyengén hat. Ezt azzal magyarázzuk, hogy az Arctium magvak endogén arctiin tartalma igen magas, s ennek gátló hatását a kivülről adagolt arctiin már alig befolyásolja. Csupán egyetlen faj, a Sinapis alba

csirázási százalékа nem csökkent arctiin hatására /13. ábra/. A 14. ábra azonban azt bizonyitja, hogy az arctiinnek gátló hatása van a Sinapis alba-ra is. A nagy csirázási erély miatt ez nem mutatkozott a csirázási százalékban, de gyökér és hipokotil megnyúlási méretében jól kimutatható volt.

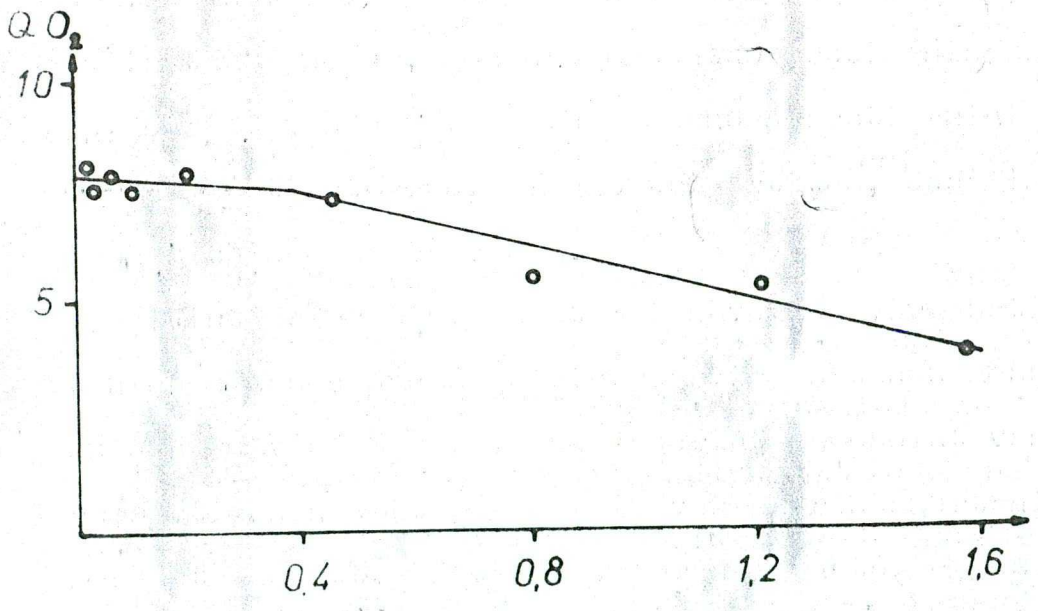
ARCTIIN mg/ml	FÉNYBEN		SÖTÉTBEN	
	GYÖKÉR	HYPOKOTIL	GYÖKÉR	HYPOKOTIL
10,00	15,9	9,8	23,5	17,9
5,00	16,5	9,9	25,3	16,8
2,50	18,7	10,9	27,6	18,0
1,25	21,3	13,5	30,7	17,8
0,62	24,7	14,4	30,8	19,1
0,31	26,9	15,2	29,4	18,1
0,15	28,0	16,3	32,8	19,3
0,00	27,2	17,4	33,7	21,0

14. ábra. Az arctiin /5 mg/ml/ hatása a 3 napos Sinapis alba csiranövény megnyúlására /mm/ fényben és sötétben

Az 5 mg/ml koncentrációjú arctiin oldat 41-44 %-kal gátolta a gyökér és hipokotil növekedését fényen, sötétben az arctiin által kiváltott gátlás alacsonyabb volt.

Az irodalomban számos adat van arra vonatkozóan, hogy az inhibitor az IES-oxidáz aktiválásán ke-

resztül hat a növekedési és fejlődési folyamatokra /Garay, 1968, Leopold, 1964/. Ezért érdekelt bennünket még az is, hogy vajon az arctiin befolyásolja-e az IES-oxidáz müködését. Mivel az Arctium levelekben és csiranövényekben nem találtunk IES-oxidázt, kéthetes lupinus levelekből készitettünk aktiv kivonatot. E kivonat IES-oxidáz aktivitását az arctiin gyengén gátolta /15. ábra/, sokkal kisebb mértékben, mint a jól ismert IES-inhibitor - a ferulasav.



15. ábra. Az arctiin gátló hatása a Lupinus albus IES-oxidáz aktivitására
Az abszcisszán az arctiin koncentrációja a reakciós elegyben.

2. Az arctiin hatása morfológiai és szövettani szinten

2.1 Az arctiin hatása a csiranövények morfológiájára

A megvizsgált négy faj /Arctium lappa, Lactuca sativa, Cucumis sativus, Phaseolus vulgaris/ mindegyikére hat az 5 mg/ml arctiin oldat. Ezek a változások a különböző fajoknál nem azonos mértékűek. Röviden a következőkben foglalhatók össze.

Arctiin hatására a kezelt csiranövények mérete minden esetben kisebb a kontroll növényekénél /I. tábla 1, 2; II. tábla 1, 2/. A kezelés hatására az uborkánál és az Arctiumnál /I. tábla 2; II. tábla 1/ figyelhető meg legnagyobb méretbeli csökkenés. A kontroll és a kezelt csiranövények között néhány esetben 2-3-szoros eltérés is található. Méret szempontjából az arctiin legkevésbé a Phaseolusra hatott /I. tábla 1/. Annak ellenére, hogy az Arctium lappa mag sok arctiint tartalmaz, a csiranövény méretében gátlás mutatkozik. Egyértelműen megállapitható, hogy a gyökerek hosszúságát az arctiin minden fajnál gátolja. Ugyanakkor nem befolyásolja a gyökerek vastagságát. A főgyökerek alakjára sem hat.

Az oldalgyökérképzés akropetális sorrendjét az arctiin nem befolyásolta. A háromszoros ismétlésben végzett csiráztatáskor viszont az arctiin az oldalgyökérképzést minden esetben gátolta, ennek megfelelően a kezelt növényeknél az oldalgyökerek száma kevesebb és az oldalgyökerek rövidebbek.

A fentiekből látszik, hogy a gyökerekre az arctiin gátló hatással van, ez az epibléma kialakulásában is mutatkozik. A gyökérszőrös zóna egységnyi területre eső felületén - bár számszerü vizsgálatokat nem végeztünk - megállapitható, hogy a gyökérszőrök száma lényegesen kevesebb és ezek rövidebbek.

A 3-7 napos csiranövényeknél még a hipokotil esetében találtunk változást. Az arctiin a hipokotilszárak megnyúlását is gátolta, a kezelt csiranövényeknél sokkal rövidebb szikalatti szár található.

2.2 Arctiin által kiváltott szövettani változások

2.2.1 Az arctiin hatása a szár szöveti felépitésére

Szárvizsgálatokhoz csak a néhány mm hosszúságú hipokotilrészek álltak rendelkezésünkre. Epikotil ilyen fiatal csiranövényeknél még egyik fajnál sem fejlődött ki.

A négy faj hipokotiljának sem felületi képleteiben /fedőszőrök vagy többsejtü vizkiválasztó szőrök/, sem szöveti szerkezetében arctiin hatásra létrejött lényeges szerkezeti eltérés nem figyelhető meg. Azokat a minimális változásokat, amelyek mégis találhatók a Phaseolus keresztmetszeteken a III. tábla 12, mutatja. E kis változások, amelyek elsősorban a kéregparenchyma sejtméreteiben, a kéreg vastagságában és a keményitőhüvely sejtjeinek alakjában nyilvánulnak meg, nem térünk ki.

2.2.2 Az arctiin hatása a gyökér szöveti felépitésére

A gyökerek központi hengerének szerkezetére vonatkozóan már nagyobb eltérést tapasztaltunk. A legnagyobb változást azonban az arctiin az elsődleges kéregnél és a gyökérszőrök morfológiájában váltotta ki.

Az elsődleges gyökerek diarch, tetrarch ill. poliarch szerkezetüket arctiin hatásra is megtartják. Az egyszerü nyalábok /fa/ /III. tábla 3, 4./ alakja, az endodermisz vastagsága és az endodermisz sejtek formája viszont némi változást mutat. Az arctiinnel kezelt gyökerek fanyaláb elemei inkább tangenciális

irányban rendezettek /III. tábla 3, 4/. Az endodermisz pedig néhol többsejtüvé és rendszertelenné válik.

A gyökerek elsődleges kéregszövetének vastagsága is jelent eltérést a kontrollhoz viszonyitva. A Cucumis kéregparenchimájának külső sejtsoraira hatott legjobban az arctiin, amely elsősorban a sejtek gyors elöregedésében nyilvánul meg. Az emlitett fajnál a gyökér egész felületén, még a csúcson is, rövid idő alatt /néhány nap/ többsoros parásodott falú védőszövet jött létre /IV. tábla 1, 3./. Ez az intenziv parásodás még a fiatal oldalgyökerek csúcsán /IV. tábla 4./, sőt a gyökérkezdeményeken is megfigyelhető /IV. tábla 2./. A parásodás egyes helyeken olyan nagymértékü, hogy ebből már az arctiin roncsoló hatását is feltételezhetjük. Ezt az is igazolja, hogy a Cucumis gyökereken epibléma nem látható /IV. tábla 1, 2./.

2.2.3 Az arctiin hatása a gyökérszőrök kialakulására

Az arctiin nagymértékben megzavarja a trichoblastok normális tevékenységét, ami egyaránt fellép a Phaseolus, Arctium és Lactuca fajoknál. Gyakran

megfigyelhető, hogy ugyanazon a rizodermisz sejten több szőrkezdemény indukálódik /V. tábla 2./.

A kialakult gyökérszőrök a kontrollhoz viszonyítva rendkivül formagazdagok /V. VI. VII. tábla/. Az egysejtü, differenciálatlan szőrök között spirálisan csavarodottak /VII. tábla 2, 4/, kisebb-nagyobb oldaldudorokkal /VI. tábla 5; VII. tábla 5/, hosszabb-rövidebb oldalágakkal és különböző hosszúságú tengellyel ellátott, villásan elágazó szőrök is vannak /V. tábla 5; VII. tábla 2; VI . tábla 2, 4, 6, 7/, gyakoriak a torz gyökérszőrök /VI . tábla 3, 6/, sőt az Arctium lappa-nál egy esetben többsejtü elágazó gyökérszőrt is sikerült megfigyelni /VII. tábla 3/.

3. Arctiin és nukleinsavak kölcsönhatása

Annak a kérdésnek eldöntésére, hogy az arctiin hatása a nukleinsavakon keresztül valósul meg, a következő kisérleteket végeztük. Felvettünk 4 különböző NS és az arctiin abszorpciós és CD spektrumát. Ezután az arctiint az egyes NS-féleségekkel elegyitettük úgy, hogy közben a koncentráció mindkét anyagra nézve azonos maradjon. Félórás várakozás után ismét felvettük az abszorpciós és CD spektrumot, hogy ellenőrizzük történt-e valamilyen kölcsönhatás az arctiin és NS között. Nyilvánvaló ugyanis, hogy köl-

csönhatás hiányában egyszerű összeg-görbéket kell kapnunk, vagyis /NS/ + /A/ = /NS + A/.

Ha viszont az arctiin és a nukleinsav valamilyen kölcsönhatásba lép, akkor a CD spektrumoknak - melyek rendkivül érzékenyek a különböző konformációra - lényegesen el kell térniük a külön-külön felvett spektrumok összegétől.

Eredményeinket a 16-19. ábrasorozat mutatja. Az összetartozó abszorpciós és CD spektrumokat egymás mellett közöljük. Jól látszik, hogy az abszorpciós mérések nem adnak tájékoztatást a nukleinsavak és az arctiin kölcsönhatásáról, vagyis az arctiin és a nukleinsavak külön felvett spektrumainak összege nem különbözik attól a spektrumtól, amely a két vegyület együttes abszorpcióját mutatja. Ezzel szemben a CD görbéken jól látszik, hogy az arctiin és a nukleinsavak valamilyen kölcsönhatásba léptek, mert az un. összeggörbék lényegesen eltérnek a félórás kölcsönhatás után felvett spektrumoktól.

Elsősorban a magasabb hullámhosszra eső CD sáv válik kifejezettebbé, a $+\Delta\varepsilon$ értékek jelentékenyen megnőnek. Az alacsony hullámhossztartományba eső negativ CD sáv nem változik ilyen egyértelmüen, de a kölcsönhatás ennek a sávnak az alapján is nyilvánvaló. Ha az un. összegspektrum közötti különbségeket

tekintjük /17, 18. ábra/, akkor jól látszik, hogy az arctiin az élesztő RNS-sel és az erősen polimerizált RNS-sel lépett a legerősebb kölcsönhatásba. Lényegesen gyengébb konformáció-változásokra mutat a DNS és a t-RNS arctiinnel együtt felvett spektruma /16, 19. ábra/.

Fenolos csirázás-inhibitorunk és a nukleinsavak kölcsönhatásának közelebbi természete ismeretlen. Sajnálatos módon az arctiin és a NS-ak CD maximumai nagyon közel esnek egymáshoz, igy igen nehéz megitélni, hogy az együttes spektrumok és az összegspektrumok közötti különbség minek tulajdonitható. Az irodalomban ismeretes néhány munka, amelyekben NS-ak és festékek kölcsönhatását vizsgálták. A festékek abszorpciós maximuma nagyon távol esett a DNS abszorpciós és CD sávjaitól, igy tehát könnyü lett volna megmondani, hogy mennyiben változott a festék és mennyiben a NS CD görbéje.

Lényegében kétféle interakciót különböztetnek meg:

1. az anion kötőhelyek és az ellentétes ionok között olyan kapcsolatok jönnek létre, hogy a festékmolekula mintegy felcsavarodik a NS helixre;

2. a festékmolekula mintegy beékelődik a bázisok közé s ilyen módon un. diszperziós vagy exciton kölcsönhatás alakulhat ki.

A mi esetünkben - mint említettük - rendkívül nehéz a kölcsönhatás közelebbi természetéről valamit mondani az arctiin és NS CD sávok közel esése miatt. A problémát mégis az alábbi módon közelítettük meg.

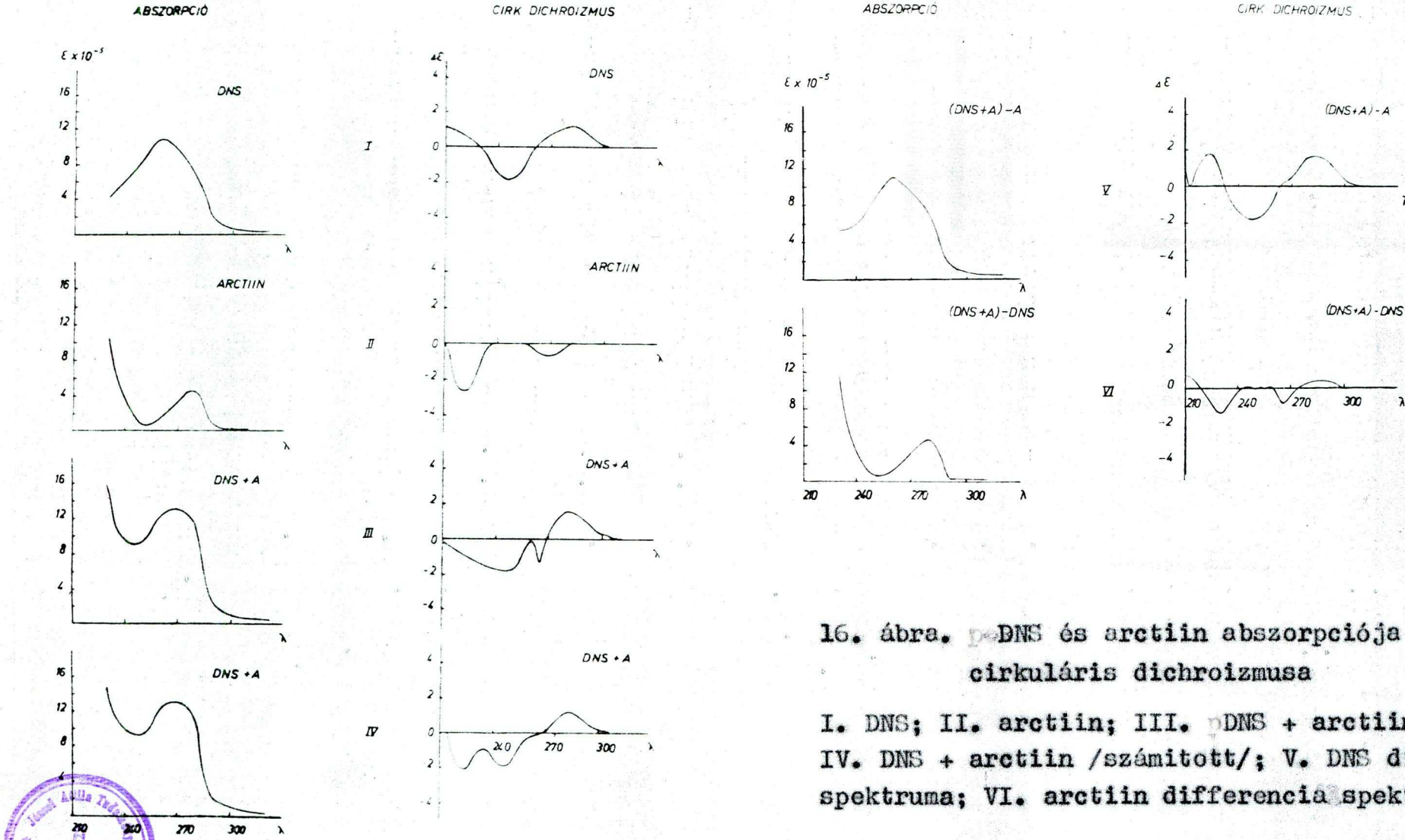
a/ Feltételeztük, hogy nem változik lényegesen az arctiin CD spektruma nukleinsav jelenlétében. Az együttes spektrumból kivontuk az arctiin spektrumát. Az így kapott differenciál-spektrumok a nukleinsav konformáció-változását mutatják /16-19. ábra V. görbe/. Mindenekelőtt azt kell leszögezni, hogy az így kapott differenciál-spektrumok nem irreálisak, hanem olyan nukleinsavakra jellemzőek, melyekben a helixtartalom több. Ennek bizonyítására kísérleteket is végeztünk, amelyekre a II. fejezetben már utaltunk. Ismeretes, hogy a nukleinsavak struktúrája nagyon érzékeny a hőmérsékletre. Magas hőmérsékleten a rendezettség csökken. A 3. ábra szerint 20°C-on a nagyobb rendezettségnek megfelelően a CD spektrum nagyobb maximumot mutat, mint 40°C-on. Az élesztő RNS arctiin nélkül mért CD görbéje közelebb áll a 40°C-on mért tipushoz, mint a 20°C-nál tapasztalt rendezettebb állapothoz. Arctiin jelenlétében a CD spektrum úgy változik, mintha a hőmérsékletet csökkentettük volna. Ez a következtetés valamennyi NS-ra érvényes.

b/ Ha viszont feltételezzük, hogy a NS konformációja nem változik arctiin jelenlétében, akkor az együttesen mért spektrumból a NS spektrumot kell kivonni /16-19. ábra VI. görbék/. Ilyen módon azonban olyan görbéket kapunk, amelyek - legalább is mai tudásunk szerint - teoretikusan nehezen kezelhetők. Ugyanis, ha az arctiin felcsavarodott volna a NS helixre, akkor mindkét CD sávnak pozitiv irányban azonos mértékben kellett volna változni. Hasonló módon, amint azt a helix molekulák és festékek kölcsönhatásakor Blout és munkatársai /1965/ megfigyelték. Kísérleteik szerint balos helixre felcsavarodott festékek negativ CD-t adnak. A hosszabb hullámhosszú sáv minden esetben pozitiv irányba változik, ami jobbos felcsavarodásra utal.

Adataink hiányossága azonban nem engedi meg, hogy részletesebb spekulációkba bocsátkozzunk. Teljes bizonysággal csak azt a következtetést vonhatjuk le, hogy az arctiin kölcsönhatásba lép a NS-akkal, aminek következtében a NS-ak rendezettsége fokozódik. A kölcsönhatás természete ismeretlen.

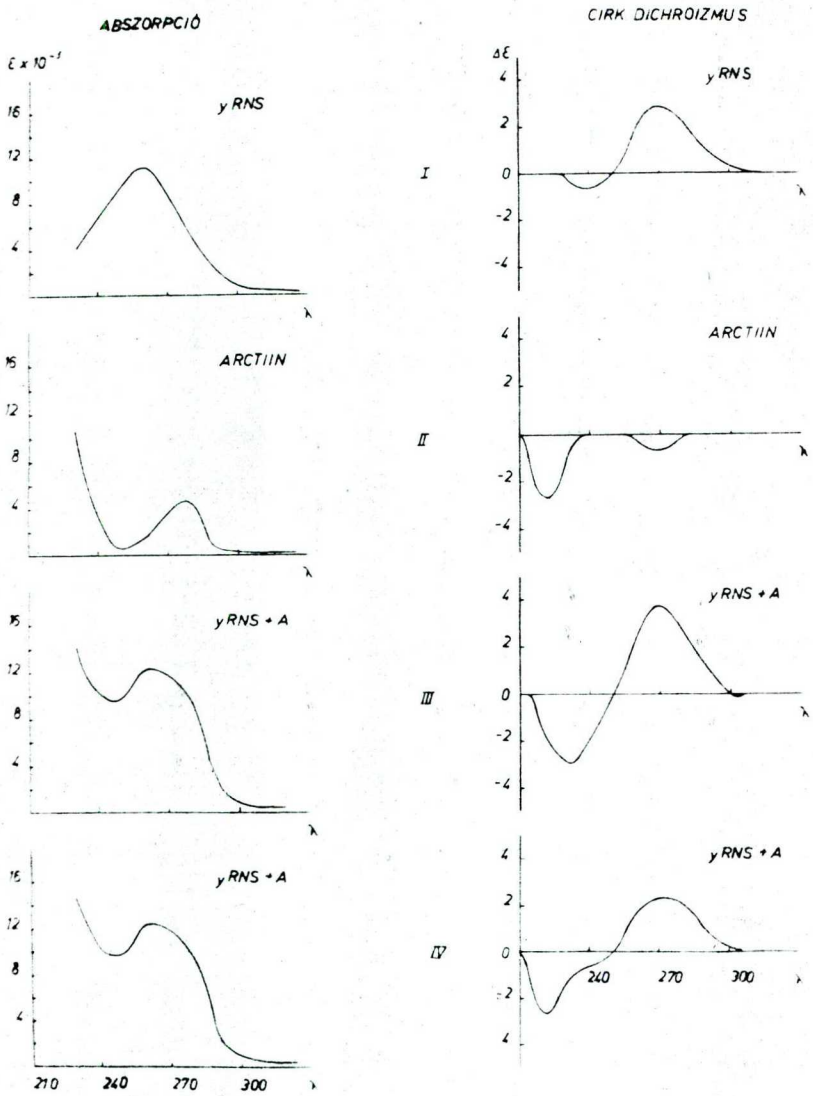
Tudomásunk szerint ez az első eset, hogy NS-ak és növekedést szabályozó fenolok in vitro kölcsönhatását vizsgálták. Megjegyezzük, hogy gibberellinsav és NS-ak in vitro kölcsönhatását már kimutatták, de ez egész más tipusú, mint amilyet mi figyeltünk meg /Kessler, 1969/.

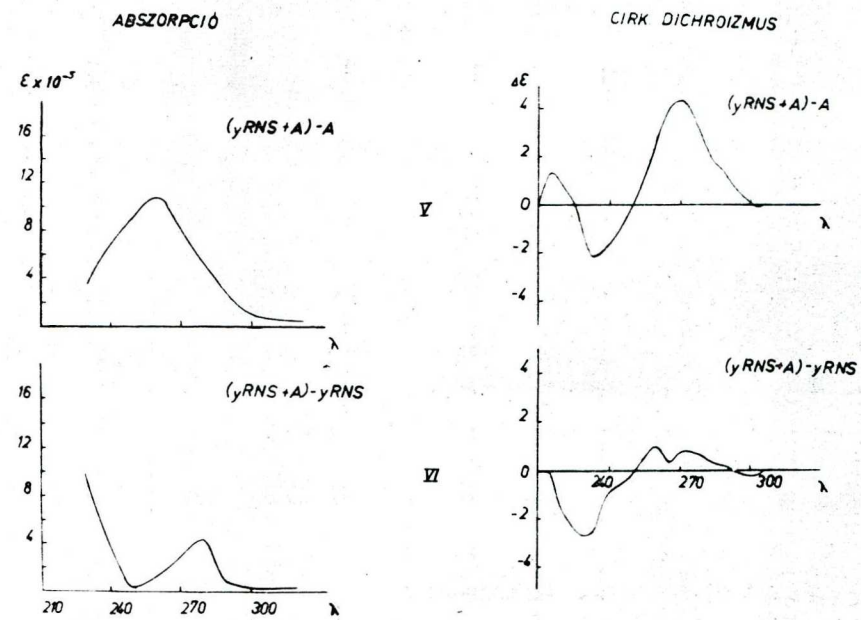
IES és nukleinsav kölcsönhatását in vitro CD-vel nem sikerült bizonyitani. Nagyon messze vagyunk még attól, hogy az arctiin a NS-ra gyakorolt in vitro hatása és csirázásgátló sajátsága közötti kapcsolatot ismerjük. Egy ilyenféle kapcsolat lehetőségét azonban adataink alapján feltétlenül figyelembe kell venni.



16. ábra. DNS és arctiin abszorpciója és cirkuláris dichroizmusa

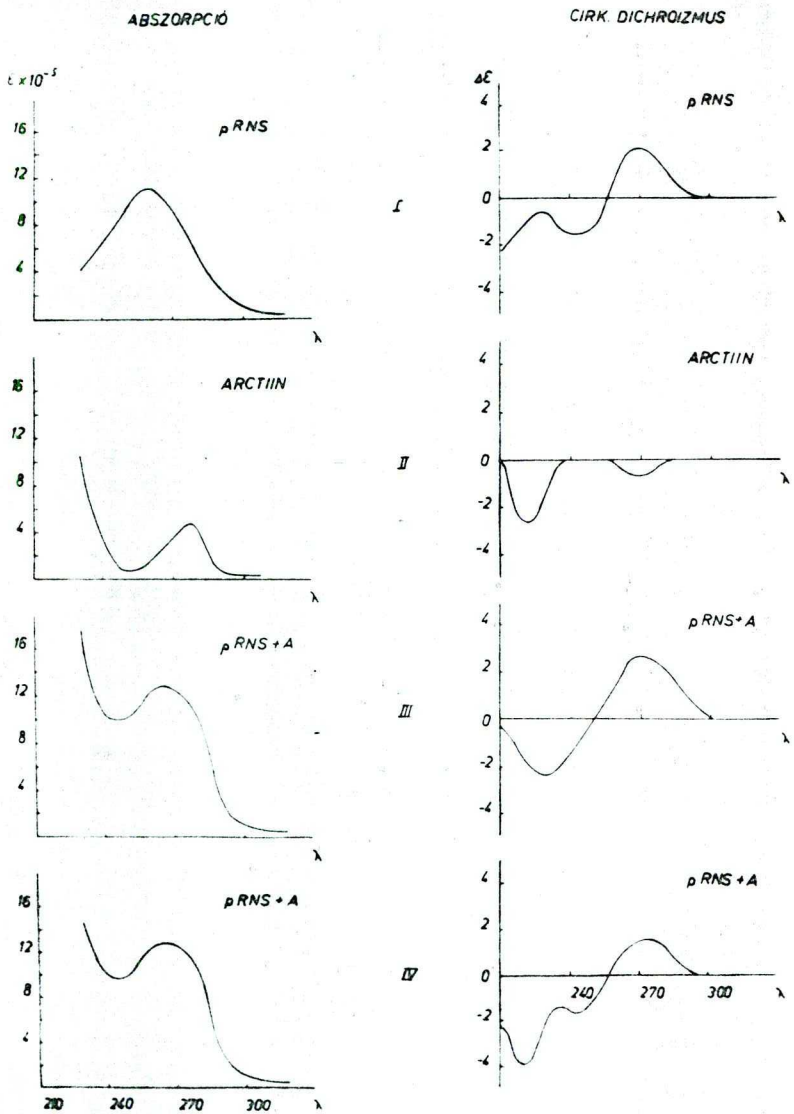
I. DNS; II. arctiin; III. DNS + arctiin; IV. DNS + arctiin /számított/; V. DNS differencia spektruma; VI. arctiin differencia spektruma

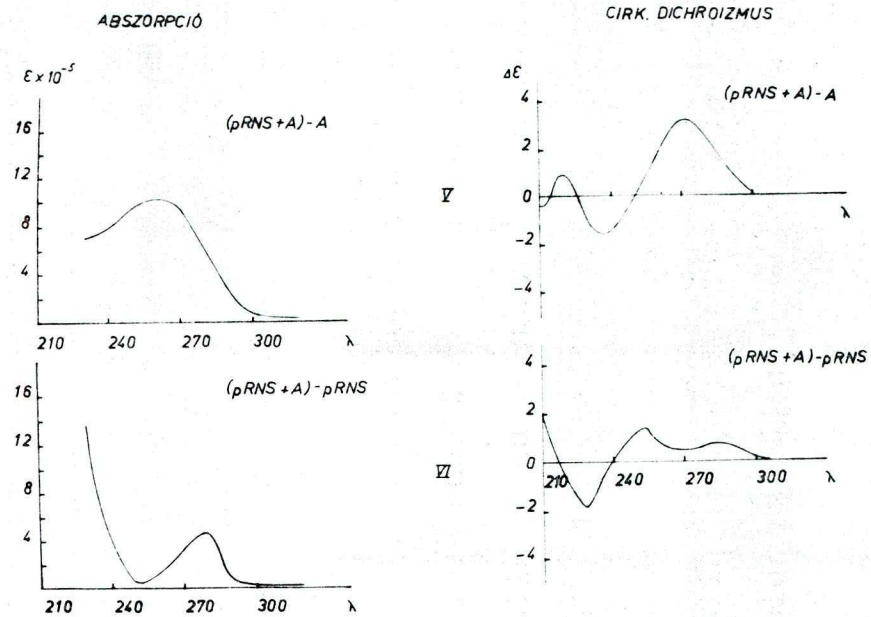




17. ábra. y-RNS és arctiin abszorpciója és cirkuláris dichroizmusa

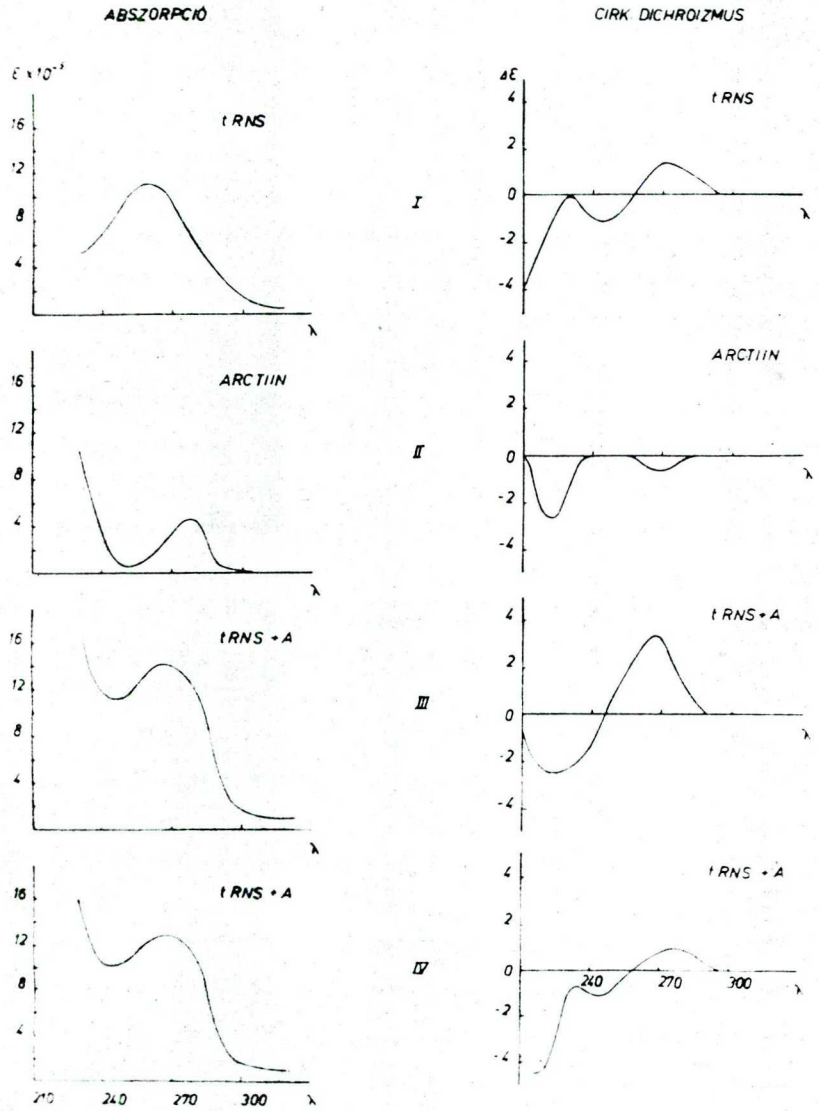
I. y-RNS; II. arctiin; III. y-RNS + arctiin; IV. y-RNS + arctiin /számított/; V. y-RNS differenciá spektruma; VI. arctiin differenciá spektruma

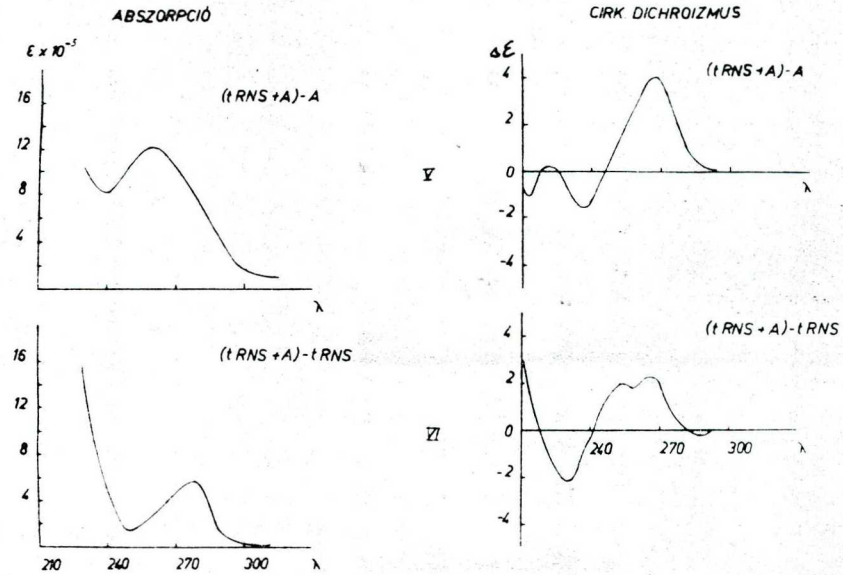




18. ábra. p-RNS és arctiin abszorpciója és cirkuláris dichroizmusa

I. p-RNS; II. arctiin; III. p-RNS + arctiin; IV. p-RNS + arctiin /számitott/; V. p-RNS differenciaspektruma; VI. arctiin differenciaspektruma





19. ábra. t-RNS és arctiin abszorpciója és cirkuláris dichroizmusa

I. t-RNS; II. arctiin; III. t-RNS + arctiin; IV. t-RNS + arctiin /Számitott/; V. t-RNS differenciá spektruma; VI. arctiin differenciá spektruma

V. ÖSSZEFOGLALÁS

Egy fenoltipusú anyagnak, az arctiinnek ill. arctigeninnek növekedésélettani funkcióját vizsgáltuk. Megpróbáltunk magyarázatot kapni az arctiin által kiváltott változások mechanizmusára. Mindezt a növényi szervezet három organizációs szintjén belül. Megállapithatjuk:

1. Az Arctium lappa csirázása folyamán az arctigenin tartalom fokozatosan csökken. Csirázása évi endogén ritmust mutat, amelyet az alkoholban oldhatatlan frakció arctigenin-mennyiségi változása követ. Az Arctium lappa generativ szerveiben lehetett kimutatni arctigenint. Az arctiin befolyásolja a csirázást más növényfajok esetében is. Nem fajspecifikus anyag, a Compositae családon belül más növények magjában is megtalálható, kisérleteink szerint előfordulása függ a növények rendszertani helyétől. Csirázásgátló hatását az IES-rendszeren keresztül nem lehet magyarázni.

2. Arctiines kezelés erősen gátolja a csiranövények fejlődését, bár különböző fajokra nem hat egységesen. A szár szöveti felépitésére nem hat. Gyökereknél elsősorban a trichoblasztok fejlődését zavarja meg, azoknak abnormális növekedését váltja ki. Ha-

tására a kezelt növényeknél gyakoriak a rövid, elágazó, csavarodott gyökérszőrök. Egyes növények gyökerére olyan erős roncsoló hatást fejt ki, ami az elsődleges kéreg korai parásodásához vezet. Ez valószinü, hogy a tápanyagfelvételben komoly zavarokat okoz.

3. A disszertáció harmadik fejezetében választ akartunk kapni, hogyan hat az arctiin ill. arctigenin, melyik az a legalacsonyabb organizációs egység, amelyen keresztül az előzőkben megállapitott gátlási folyamatok magyarázhatók.

Különböző eredetü nukleinsav és arctiin kölcsönhatása azt mutatja, hogy valószinü az arctiin megváltoztatja a nukleinsavak struktúráját, növeli a nukleinsavak helix-tartalmát. Egyértelmüen nem lehet megállapitani a kölcsönhatás természetét és kapcsolatba hozni az arctiin ill. arctigenin csirázásszabályozó tulajdonságával.

VI. IRODALOMJEGYZÉK

Akszenova, N.P. /1963/ The effect of day length on oxidase activity in plants. Fiziol. Rast., 10 166-75

Andreae, W.A. /1952/ Effect of scopoletin in indole-acetic acid metabolism. Nature. 170, 58

Bardinskaja, M.S.-Prusakova, L.D.-Subert, T.A. /1962/ The interaction of ferulic acid with gibberellin and indolacetic acid in the growth process of plants. Doklady Akad. Nauk. SSSR, 146 1445-8

Basyouni, Z., -Neish, A.C.-Towers, G.H.N. /1964/ The phenolic acids in wheat. III. Insoluble derivates of phenolic cinnamic acids as natural intermediates in lignin biosynthesis. Phytochemistry, 3 627-639

Blout, E.R.-Carver, I.P.-Shechter, E. /1965/ Optical rotatory dispersion of polypeptides and proteins in Optical rotatory dispersion and circular dichroizm in organic chemistry. Bonn

Boney, A.D. /1967/ The effects of coumarin on the growth and viability of sporeling of red algae. Planta, 76 114-123

Cathey, H.M. and others /1961/ Enhancement of gibberellin-induced phenomena. Gibberellins, being Advances Chem. Ser. 28 135-41

Čajlahjan, M.H. and Hlopenkova, L.P. /1961/ The effect of growth substances and derivates of nucleic acid metabolism on the growth and flowering of photoperiodically-induced plants. /Russian/ Doklady Akad. Nauk. SSSR. 141, 1497-500

Ciasca, M.A. and Luchetti, A.Impiego di coltore di tessuti vegetali in vitro per ~~io~~ ol studio dei sistemi enzimatici. II. Azione di vari chinoni sulla liberazione di perossidasi e sulla morfologia radicale in Pisum sativum. /Use of plant tissue cultures for in vitro studies of enzimatic systems. II. Action of various quinones on the release of peroxidase and on the morphology of the roots of Pisum sativum./ I-st Super Sanit Ann. 1/9/10/ 553-539. Illus. 1965 /recd. 1966/

Czapek, F. /1902/ Stoffwechselprozesse in der geotropisch gereizten Wurzelspitze und in phototropisch sensiblen Organen. Ber. Deutsche Bot. Ges. 20 464-470

Czapek, F. und Bertel, R. /1906/ Oxydatrie der Stoffwechselvorgänge bei pflänzlichen Reisreaktionen. Jb. V. Wiss. Bot., 43 361-367

D'Amato, F. und Hoffman-Ostenhof, O. /1956/ Metabolism and spontaneous mutations in plants. Advances in genetics. 8 1-28

Dawson, R.F.-Wada, E. /1957/ Flavonoids and depsides of the green tobacco leaf. I. Rutin and chlorogenic acid. Tobacco, N.Y. 144 18-21

Durst, F. and Mohr, H. /1966a/ Phytochrome-mediated induction of ensyme synthesis in mustard seddlings /Sinapis alba/. Naturwissenschaften, 53 531-532

Durst, F.-Mohr, H. /1966b/ Half life of phytochrom induced phenylalanine deaminase in mustard seedlings. Naturwissenschaften, 53 707

Emsweller, S.L.-Asen, S. and Uhring, J. /1962/ Tumor formation in interspecific hybrids of Lilium. Science, 136 266

Engelsma, G. /1966/ The influence of light of different spectral regions on the synthesis of phenolic compounds in gherkin seedlings in reactions to photomorphogenesis III. Acta Bot Neerl. 15 394-405

Engelsma, G. /1967/ Photoinduction of phenylalanine deaminase in gherkin seedlings. II. Effect of red and far-red light. Planta, 77 49-57

Fadl, M.S. and Hartmann, H.T. /1967/ Isolation, purification and characterization of an endogenous root-promoting factor obtained from basal sections of pear hardwood cuttings. Plant. Physiol. 42 541-9

Földeák, S.-Dombrádi, G. /1964/ Tumor inhibiting substances of plant origin. I. Isolation of the active principle of Arctium lappa. Acta Phys. et Chem. Szeged, 10 91-93

Garay, A. /1968/ A növényi növekedés szabályozásáról. /Doktori disszertáció/

Garay, A.-Szász, K.-Horváth, I. /1968/ Effect of gravity on the morphology and metabolism of plants. Acta Biochem. et Biophys. Acad. Sci. Hung. 3

Gesto, M.D.V.-Vasquez, A.-Mendez, J.-Vieitez, E. and Seoane, E. /1967/ Growth substances isolated from woody cuttings of Quercus robur L. and Juglans regia L. Phytochemistry, 6 1687-1693

Hess, C.E. /1960, 1961/ A study of plant growth substances in easy - and difficult - to-root cuttings. Research in root initiation - a progress report. Characterisation of the rooting cofactors extracted from Hedera helix L. and Hibiscus rosa-sinensis L. Proc. 9-th, 10-th and 11-th annu. Mtgs.Plant Prop. Soc. 39-43 118-23 bibl.4, illus and 51-6, bibl. 3 resp.

Hess, C.E. /1962/ A physiological analysis of root initiation on in easy and difficult-to-root cuttings. Characterisation of the rooting cofactors extracted from Hedera helix L. and Hibiscus rosa sinensis L. From summaries in Proc. 16th Int. Hort. Congr., Brussels 1 385-386

Ibrahim, R.K.-Towers, G.H.N. /1960/ The identification by chromatography of plant phenolic acids. Arch. Biochem. Biophys. 87 125-28

Kessler, B.-Snir, I. /1969/ Interactions in vitro between gibberellins and DNA. Biochim. Biophys. Acta, 195 207-218

Khan, A.A.-Tolbert, N.E. /1966/ Light-controlled Cycocel reversal of coumaric inhibition of lettuce seed germination and root growth. Physiol. Plant. 19 76-80

Knypl, J.S. /1966/ Specific inhibitors of RNA and protein synthesis as supressors of the IAA- and coumarin-induced growth responses. Acta Soc. Bot. Polon., Warszawa, 35 357-373

Knypl, J.S.-Aldona, R. /1967/ Growth inhibitors /phosfon D, 2-chloroethyl trimethylammonium chloride and coumarin/ and the indole-3-acetic acid oxidase contents of cucumber hypocotyl sections. Naturwissenschaften, 54 544

Kulajeva, O.H.-Fedina, A.B.-Szelibankina, C.Ju.-Kumanov, A.L. /1967/ Oszobennoszty vozrasztnih izmenenij metabolizma RNK v szrezannih lisztjah i lisztjah na rasztenii. Fiz. Raszt. 14 972-981

Lee, T.T. /1962/ Effects of substitued phenols on growth, bud formation and indoleacetic acid oxidase activity in tobacco tissue cultures. Diss. Abstr., 22 3827-8, being Order No. 62-2250 of 177 pp.

Leopold, A.C. /1964/ Plant growth and development. Mc Graw-Hill Book Company

Lipetz, J. /1962/ Calcium and the control of lignification in tissue cultures. Amer. J. Bot. 49 460-4

Loba, F. /1964/ Inhibitori dell' accrescimento, atá fisiologica e fioritura nelly brevidiurna. Perilla ocymoides. /Growth inhibitors, physiological and flowering in the short day species Perilla ocymoides./ Reprint from Ateneo parmense 34 386-93

Mayer, A.M. /1953/ Quantitative aspects of the behavior of coumarin as a germination inhibitor. Physiol. Plant. 6 413-424

Mayer, - Poljakoff-Mayer, /1963/ International Series of Monographs on Pure and Applied Biology. Plant Physiology Devision. The germination of seeds. 61-94

Mumford, F.E.-Smith, D.H.-Heytler, P.G. /1964/ The effect of red light on the flavonoid compositon of etiolated pea plumules. Biochem. J. 91 517-22

Paulet, P.-Mitsch, J.P. /1964/ La néoformation des fleurs sur cultures in vitro de racines de Cichorium inthybus. Etude physiologique. /Flower fromation on Cichorium inthybus roots cultured in vitro: a physiological study./ Ann. Physiol. vég. 6 333-45

Permagorov, V.I.-Lazurkin, Ju.C. /1965/ O mechanizme szvjázivania aktinomicina c DNK. Biofizika, 10. 1

Phillips, I.D.J. /1962/ Some interactions of gibberellic acid with naringenin /5,7,4-trihydroxy flavanone/ in the control of dormancy and growth in plants. J. Exp. Bot., 19 213-26

Resnik, R.A.-Yamaoka, K. /1970/ Extrinsic Cotton effects of acridine orange bound to native, denaturated and formylated deoxyribonucleic acid. Biochem. Biophys. Res. Comm., 41 952-57

Resnik, R.A.-Yamaoka, K. /1970/ Extrinsic Cotton effects of acridine orange bound to apurinic acid. Biochem. Biophys. Res. Comm., 41 958-63

Roberts, L.W. /1962/ Experiments on xylem regeneration in stem-wound responses in coleus.

Roberts, L.W.-Foskett, D.E. /1962/ Further experiments in wound-vessel formation in stem wounds of coleus. Bot. Gaz. 1960, 121 201-8, and 123 247-54

Rufelt, H. /1959/ Influence of coumarin on geotropism and growth of wheat roots. Svensk. Bot., 53 312-318

Russel, D.W.-Galston, A.W. /1967/ Flavonoid complexes in Pisum sativum - IV. The effect of red light on syntheses of kaempferol complexes and an growth in sub-apical internode tissues. Phytochemistry, 6 791-7

Russel, D.W. /1967/ Studies on the biochemistry of photomorphogenesis in the pea plant. Diss. Abstr. Sect. B, 27 2612

Scherf, H.-Zenk, M.H. /1967a/ Induction of anthocyanin and phenylalanine ammonia-lyase formation by a high energy light reaction and its control through the phytochrom system. Z.f. Pflanzenphysiologie, 56 203-206

Scherf, H.-Zenk, M.H. /1967b/ Der Einfluss des Lichtes auf die Flavonoidsynthese und die Enzimin-duction bei Fagopyrum exculentum Moench. Z. Pflanzenphysiol., 57 401-418

Shinoda, J.,-Kawaguye, M. /1929/ In Karrer, W. /1958/ Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe. Birckhäuser, Basel.

Stutz, E.R. /1957/ The indole-3-acetic acid oxidase of Lupinus albus. Plant Physiol., 32 31-39

Tomaszewski, M. /1961/ The phenol-phenolase system and its connection with the processes of respiration, lignification and auxin inactivation in shoots of apricot and peach. Arbor. Kornickie, 6 169-225

Tomaszewski, M.-Kenneth, V.-Thimann, /1966/ Interactions of phenolic acids, metallic ions and chelating agents on auxin-induced growth. Plant Phys. 41 1443-1454

Yamaoka, K.,Ziffer, H. /1968/ The optical properties of actinomycin D II. Optical activity of the deoxyribonucleic acid complex. Biochemistry, 7 1001-1008

Yang, J.T.-Samejina, T. /1969/ Optical rotatory dispersion and circular dichroism of nucleic acids. Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology, 9 223-301

Vendrig, J.C.-Buffel, K./1961/ Growth-stimulating activity of trans-caffeic acid isolated from Coleus rhenaltianus. Nature, 192 276-77

Vieitez, E.-Seoane, E.-Gesto, D.V.-Mato, C.-Vazquez, A.-Carnicer, A. /1966/ p-Hydroxybenzoic acid a growth regulator isolated from woody cuttings of Ribes rubrum. Physiol. Plant. 19 295-307

Wain, R.L.-Harper, D.B. /1967/ New phenolic plant growth regulating compounds. Nature, 213 1155-1156

Weinstein, L.H.-Porter, C.A.-Laurencot, H.J. /1962/ Role of the shikimic acid pathway in the formation of tryptophan in higher plants: evidence for an alternative pathway in the bean. Nature, 194 205-206

Ziffer, H.-Yamaoka, K.-Mauger, A.B. /1968/ Optical proporties of actinomycin D. I. Influence of the lacton rings on its optical activity. Biochemistry, 7 996-1001.

Ezúton mondok köszönetet

Dr. Garay András professzornak szakmai irányitásáért,

Dr. Horváth Imre tanszékvezető professzornak, hogy lehetőséget adott disszertációm elkészitéséhez és

Dr. Gulyás Sándor adjunktusnak a morfológiai és szövettani vizsgálatokhoz nyújtott segitségéért.

Hálás vagyok a tanszék minden dolgozójának, akik valamilyen módon elősegitették munkámat.

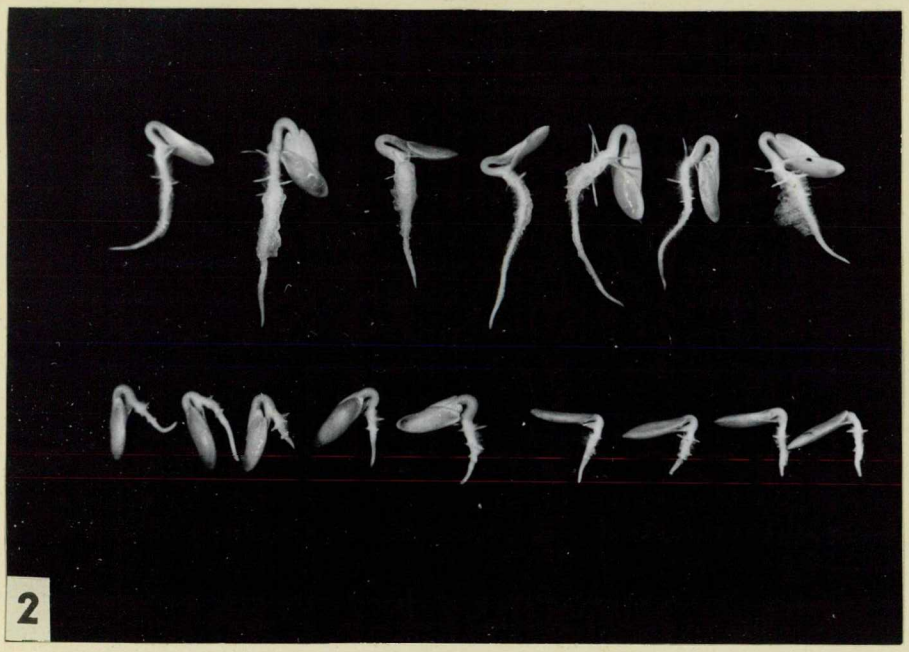
1. Tábla

1. kép: felső sor; 5 napos Phaseolus vulgaris csiranövények /kontroll/
alsó sor; 5 napos arctiinnel kezelt Phaseolus vulgaris csiranövények

2. kép: felső sor; 5 napos Cucumis sativus csiranövények /kontroll/
alsó sor; 5 napos arctiinnel kezelt Cucumis sativus csiranövények

I. tábla

1

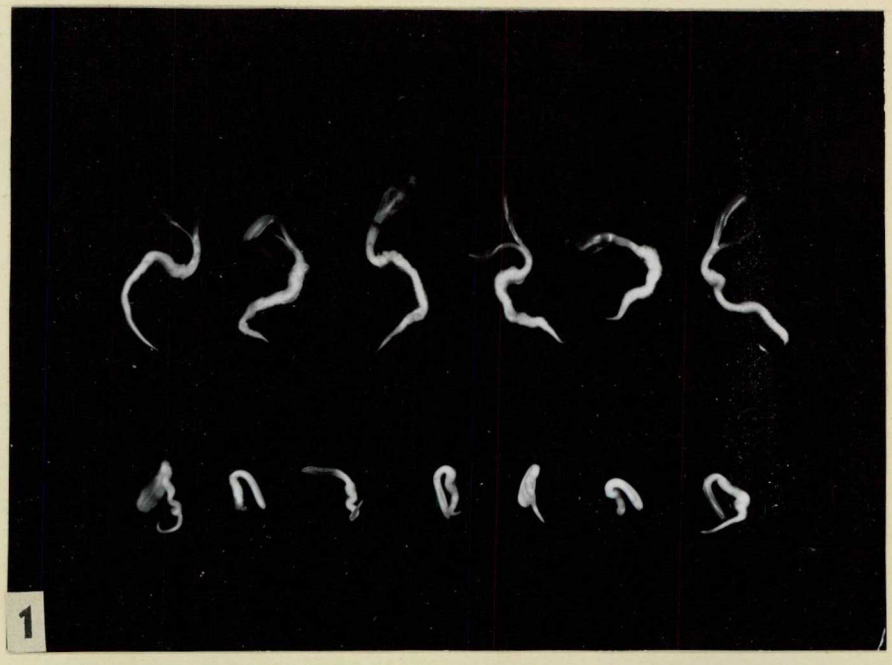

2

II. Tábla

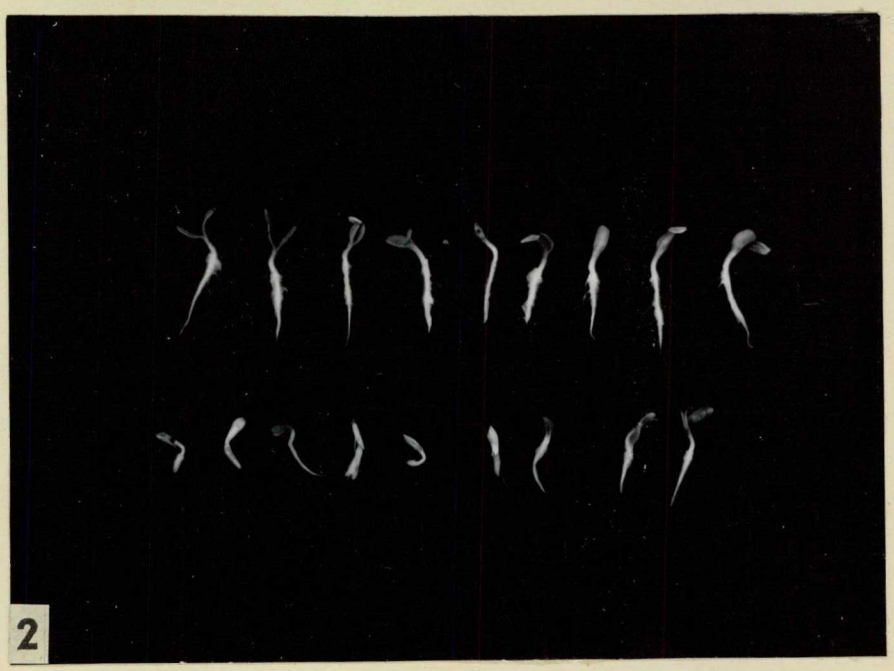
1. kép: felső sor; 7 napos Arctium lappa csiranövények /kontroll/
alsó sor; 7 napos arctiinnel kezelt Arctium lappa csiranövények

2. kép: felső sor; 3 napos Lactuca sativa csiranövények /kontroll/
alsó sor; 3 napos arctiinnel kezelt Lactuca sativa csiranövények

II. tábla



1



2

III. Tábla

Phaseolus vulgaris szár- és gyökérkeresztmetszet részletek

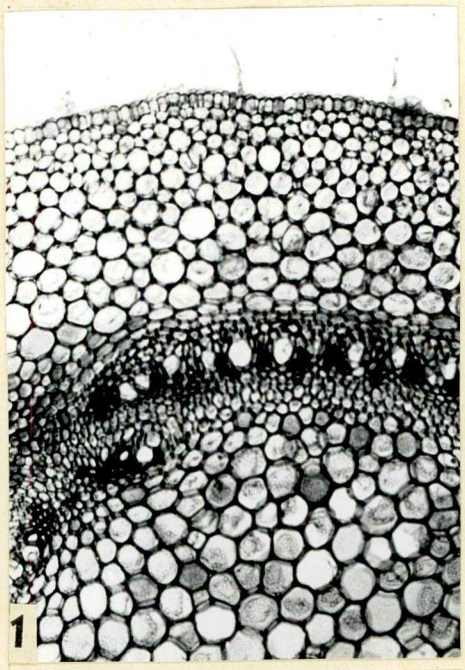
1. kép: kontroll szárkeresztmetszet, 80x.

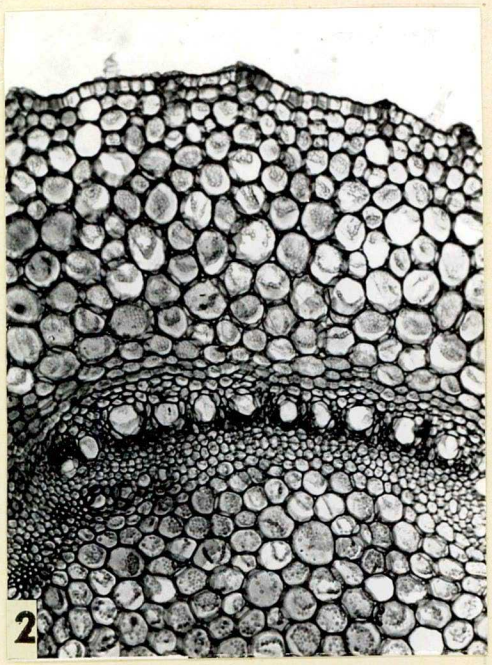
2. kép: arctiinnel kezelt szárkeresztmetszet, 80x.

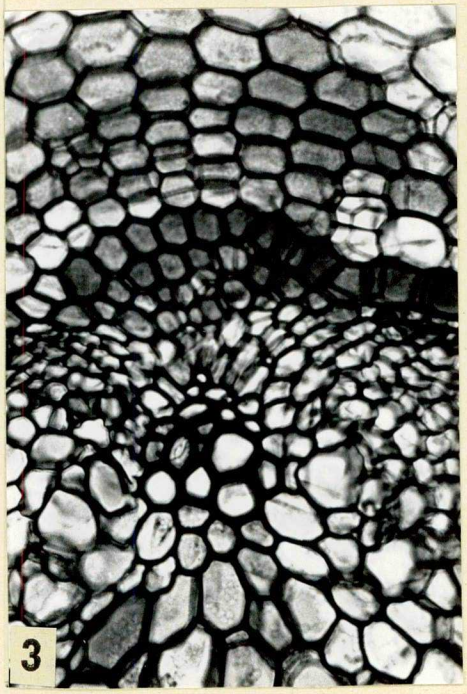
3. kép: kontroll gyökérkeresztmetszet, 250x.

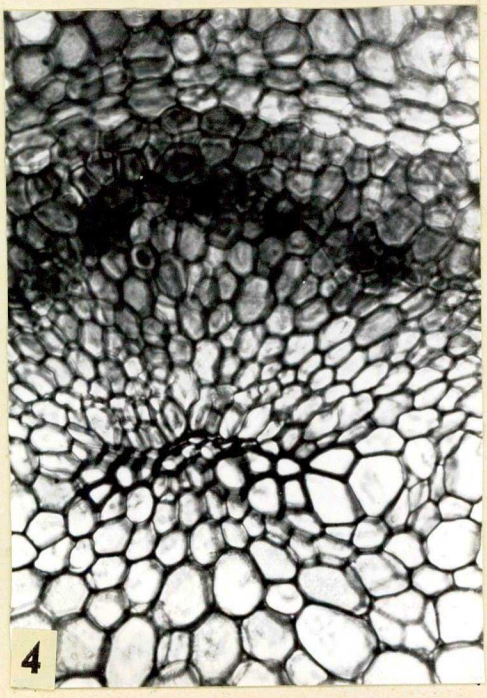
4. kép : arctiinnel kezelt gyökérkeresztmetszet, 250x.

III. tábla


1


2


3


4

IV. Tábla

Az arctiin hatása a Cucumis sativus gyökérszerkezetére /hosszmetszetek/

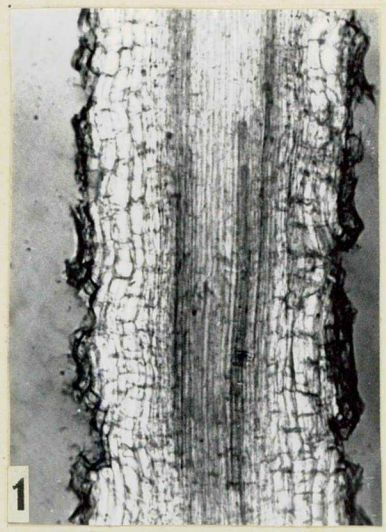
1. kép: a kéregparenchima külső részének intenziv parásodása és felszakadozása, 80x.

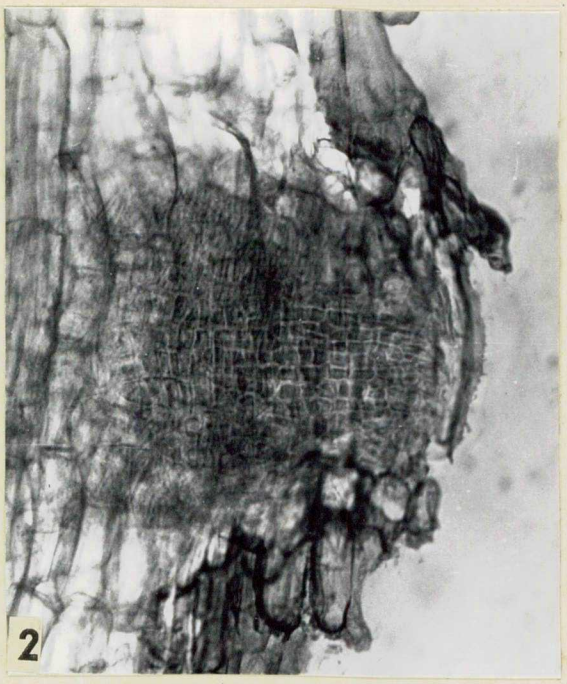
2. kép: az oldalgyökér parásodott tenyészőcsucsa, 250x.

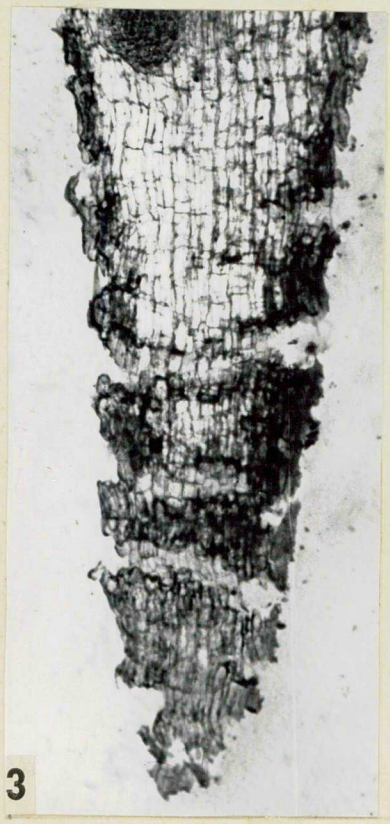
3. kép: a főgyökér csucsának parásodása és elroncsolódása, 80x.

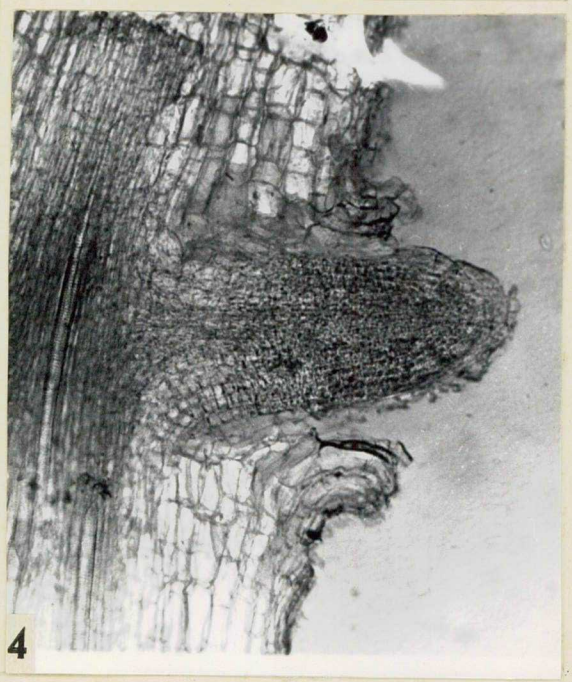
4. kép: a főgyökér és fiatal oldalgyökér elparásodása, 250x.

IV. tábla


1


2


3


4

V. Tábla

Az arctiin hatása a Phaseolus vulgaris rizodermiszére

1. kép: többsejtü vizkiválasztószőr, 500x.

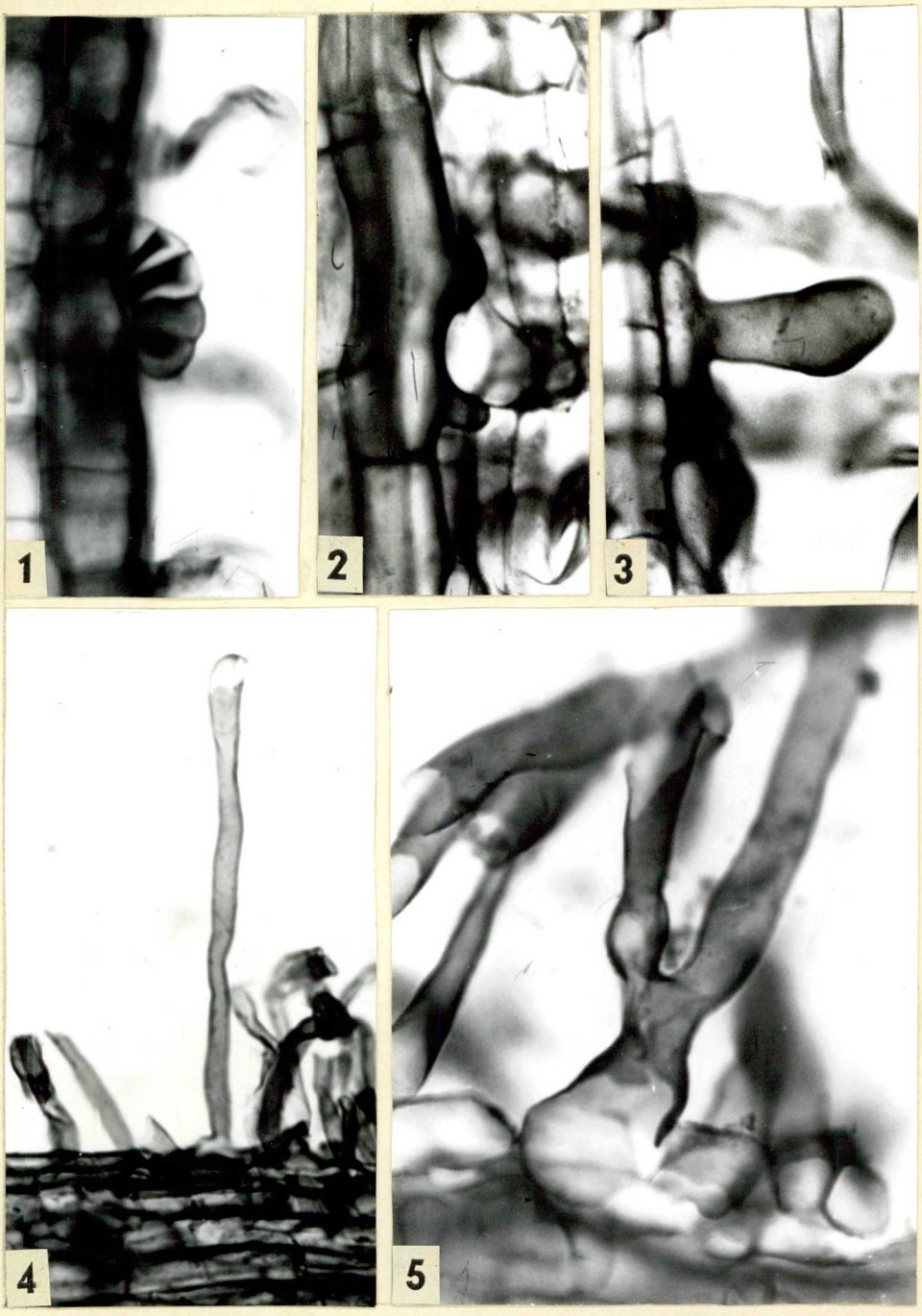
2. kép: dermatogénsejt két trichoblaszt iniciálissal, 500x.

3. kép: fiatal abnormálisan fejlődő gyökérszőr, 500x.

4. kép: szabályosan kialakult gyökérszőr, 250x.

5. kép: dihotomikusan elágazó gyökérszőr, 500x.

V. tábla



VI. Tábla

Az arctiin hatása a Lactuca sativa rizodermiszére

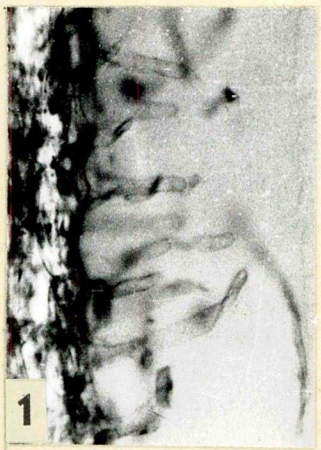
1. kép: kezeletlen gyökér rizodermisze, 250x.

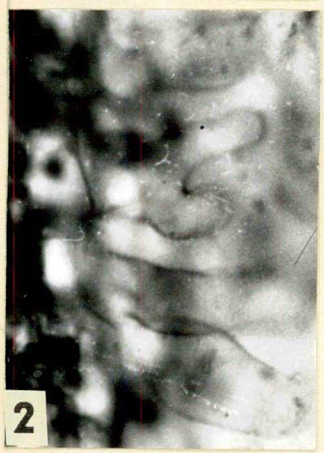
2. ; 3. ; 4. ; 6. kép: csucson elágazó, szabálytalanul fejlődő gyökérszőrök, 500x.

5. kép: oldaldudorokkal ellátott gyökérszőr, 500x.

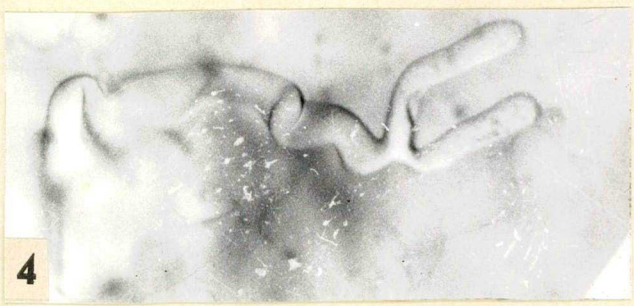
7. kép: szabálytalan kialakulású és villásan elágazó gyökérszőr, 500x.

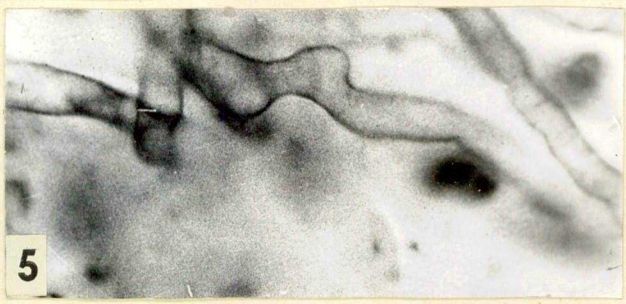
VI. tábla

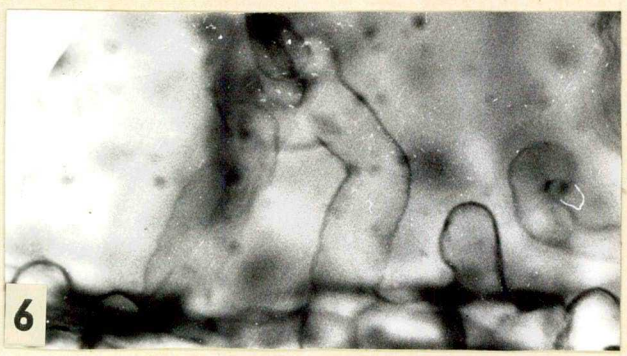

1


2

3


4


5


6

7

VII. Tábla

Az arctiin hatása az Arctium lappa rizodermiszére

1. kép: kezeletlen gyökér rizodermisze, 250x.

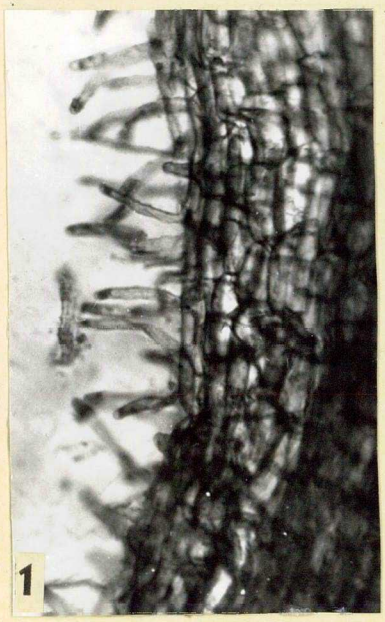
2. kép: spirális és elágazó gyökérszőrök, 500x.

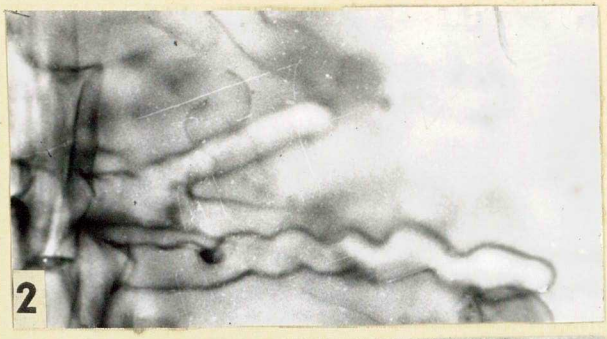
3. kép: többsejtü, elágazó gyökérszőr, 500x.

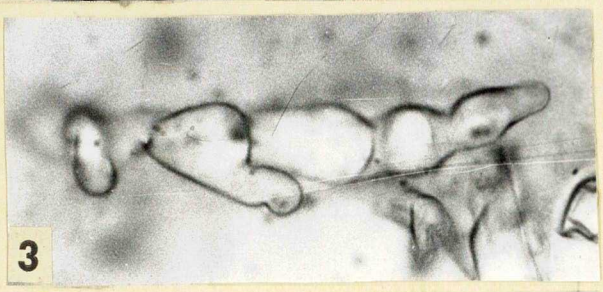
4. kép: szabálytalanul fejlődött gyökérszőrök /spirális, oldaldudorokkal ellátott, elágazó/, 500x.

5. kép: gyökérszőr oldalágakkal, 500x.

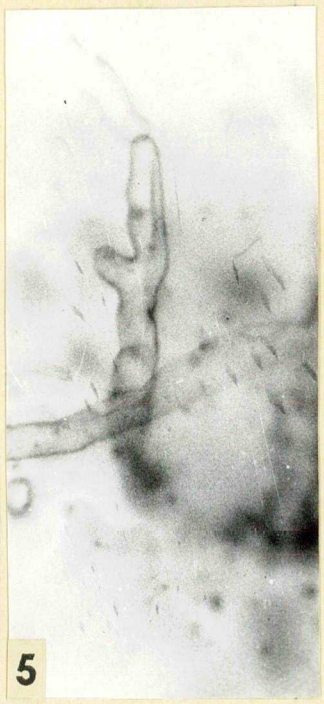
VII. tábla


1


2


3

4


5

SZEGED