

# **DOKTORI (Ph D) ÉRTEKEZÉS**

NÉMETH ZSOLT ISTVÁN

Nyugat-Magyarországi Egyetem  
Sopron

2002

A FORMALDEHID ÉS TERMÉSZETES GENERÁTORAI, MINT A  
KÖRNYEZETI HATÁSOK JELZŐ MOLEKULÁI A CSERTÖLGY  
ONTOGENEZISÉNEK KORAI SZAKASZAIBAN

Németh Zsolt István

Nyugat-Magyarországi Egyetem  
Erdőmérnöki Kar  
Erdészeti és Vadgazdálkodási Tudományok Doktori Iskola  
Erdészeti Tudományok program  
Az erdőgazdálkodás biológiai alapjai (E2) alprogram

Témavezetők:

Dr.habil. Albert Levente  
egyetemi tanár

Dr. Németh Károly  
egyetemi tanár

2002

**A FORMALDEHID ÉS TERMÉSZETES GENERÁTORAI, MINT  
KÖRNYEZETI HATÁSOK JELZŐ MOLEKULÁI A CSERTÖLGY  
KORAI ONTOGENEZISÉBEN**

Írta:  
**Németh Zsolt István**

Értekezés doktori (Ph D) fokozat elnyerése érdekében  
a Nyugat-Magyarországi Egyetem Erdészeti és Vadgazdálkodási Tudományok  
Doktori Iskolája  
Erdészeti Tudomány programja,  
Az erdőgazdálkodás biológiai alapjai (E2) alprogramjához tartozóan.

Témavezetők: Dr. habil. Albert Levente, Dr. Németh Károly

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 (Ph D) oklevél minősítése .....

Az EDT elnöke

# A FORMALDEHID ÉS TERMÉSZETES GENERÁTORAI, MINT KÖRNYEZETI HATÁSOK JELZŐ MOLEKULÁI A CSERTÖLGY KORAI ONTOGENEZISÉBEN

Németh Zsolt István

## Kivonat

A vizsgálatok célja: (a) a csertölgly korai ontogenezisének jellemzése az endogén formaldehid ill. formaldehid generátorok tartalmaival, (b) és a környezeti tényezők hatásainak nyomon követése a csermakk endogén formaldehid tartalmának változásain keresztül.

Az endogén formaldehid szint meghatározása dimedonos minta előkészítéssel és nagy teljesítményű folyadékkromatográfiás (HPLC) elválasztással történt. A minta előkészítés körülményei a dimedon és a formaldehid ill. generátor vegyületek közötti reakciók kinetikai vizsgálata alapján optimálhatóvá váltak. Az elválasztásokra egy olyan módszerfejlesztést ismertet a dolgozat, amely a minta eredetétől és típusától függetlenül alkalmasnak bizonyult a biológiai rendszerek endogén formaldehid tartalmának meghatározására. A sziklevél extraktum kis molekulatömegű, formaldehid generátorokat is magában foglaló komponenseinek feltérképezése MALDI-MS analízissel történt.

A csermakk korai egyedfejlődési szakasza - több száz makkegyedet magába foglaló csíráztatási kísérlet eredményeként - fizikai paraméterekkel (relatív tömeg, sűrűség) jellemezhetővé vált. A makktömegek eltéréséből származó - az összehasonlíthatóságot rontó - egyedi-csírázási sajátosságot a csírázást indukáló és kísérő vízfelvétel fajlagos állandósága alapján a folyamat relatív tömeggel történő jellemzése kiküszöbölte. A relatív tömeg és a sűrűség között tapasztalt, bizonyítottan biológiai sajátosságnak tekinthető lineáris korreláció tette lehetővé az azonos fejlődési állapotok pontosabb behatárolását. A makkegyedek mintavételénél az azonos fejlődési állapot alapvető szempont volt. A kidolgozott új mintavételi eljárás a stressz vizsgálatok szórását jelentősen (majdnem egy nagyságrenddel) csökkentette.

Kísérleti úton bizonyossá vált, hogy az endogén formaldehid tartalom az állapotváltozásokat ill. a stressz szindróma lefolyását visszatükrözi. A nyugalmi állapotú makk endogén formaldehid tartalma a vegetációs időszak kezdetéig emelkedik, majd azt követően csökken. Csíráztatott makk esetében márciusig nem érzékelhető szignifikáns változás. Ezt követően az endogén formaldehid tartalom csökken. Abiotikus stresszhatások (hideg- és hő sokk, szárazság) alarm fázisaiban az endogén formaldehid szintje periodikusan változik. Értéke a rezisztencia tartományban a kontrol állapotot meghaladó szinten állandósul.

Az alkalmazott vizsgálati módszerekkel a makk életképessége jellemezhető.

**FORMALDEHYDE AND ITS NATURAL GENERATORS AS MARKER  
MOLECULES OF ENVIRONMENTAL EFFECTS IN THE EARLY  
ONTOGENESIS OF EUROPEAN TURKEY OAK**

**Zs. I. Németh**

**Abstract**

The aims of the investigations were to characterize early ontogenesis of European Turkey oak with the levels of endogenous formaldehyde and its generators and to track the effects of environmental factors on endogenous formaldehyde content. Determination of endogenous formaldehyde level has been carried out by HPLC. The components of seedleaf extract including the formaldehyde generators with small molecule mass have been mapped by MALDI-MS. Early developmental stage of European Turkey oak has been characterized with physical parameters (relative mass and density). Linear relationship experienced between relative mass and density made accurate definition of the same developmental conditions and thus the sampling of the acorns possible. In experimental way endogenous formaldehyde content has been proved to reflect the alterations of developmental condition and the course of stress syndrome. The viable of the acorn can be characterized with the methods applied in the investigations.

## Tartalom

## IRODALMI RÉSZ

Bevezetés	7
1. A biológiai metilezési és demetilezési folyamatok	8
1.1. Enzimes metilezés	8
1.1.1. Az <i>S</i> -adenozil-L-metionin (SAM) és szerepe az enzimes metilezésben	8
1.1.1.1. Nukleinsavak metilezése	10
1.1.1.2. Fehérjék metilezése	12
1.1.1.3. Metil-akceptorok	16
1.1.1.4. Metilezett származékok	17
1.2. Enzimes demetilezés	20
2. Formaldehid ciklus	21
2.1. Az endogén formaldehid előfordulása a biológiai rendszerekben	23
2.2. Az endogén formaldehid változása a vegetációs időszakban	26
3. Növényi stressz	27
3.1. A rezisztencia aktíválása	29
3.2. Metilezési és demetilezési folyamatok stressz érzékeny jellemzői	30
3.2.1. Biotikus stressz	30
3.2.2. Abiotikus stressz	32
KISÉRLETI RÉSZ	
4. Kísérlettervezés és módszerfejlesztés	35
4.1. A formaldemeton szelektív kromatográfiás elválasztása	35
4.2. Mintaelőkészítés és mintatárolás	37
4.3. A formaldehid generátorok MALDI analízise	41
4.4. Csíráztatási és csemetenevelési körülmények	43
5. Csíráztatási kísérletek	44
5.1. A csírázás hatása a makk fizikai sajátságaira	44
5.2. A csertölgy makk tömegeloszlása	45
5.3. Csírázás hatása a tömegeloszlására	46
5.4. A sűrűség és a tömeg korrelációja	49
6. Az ontogenezis és a környezeti hatások fizikai és kémiai indikátorai	51
6.1. A morfogenezis jellemzése az endogén formaldehidtartalommal	51
6.2. A duzzadás jellemzése	52
6.3. A tárolás hatása a szaporítóanyagra	54
6.4. A stresszhatás	55
6.4.1. A hidegsokk	56
6.4.2. A hősokk és a szárazság	57
6.4.3. Dimedon stressz	60
Összefoglalás	61
Irodalom	64
Függelék	

## Bevezetés

A magyarországi erdőgazdálkodás távlati fejlődését a tervezett és a folyamatban lévő erdőtelepítések biztosítják. A következő 50 évben meghatározóvá válik a veszteséggel művelhető ill. parlagon hagyott mezőgazdasági termőföldek erdősítése. Az erdőművelésbe kerülő közel 700 ezer ha terület jelentősen növelni fogja a szaporító anyag iránti keresletet, ami az ellenőrzött, minőségi és mennyiségi csemetetermesztést előtérbe helyezi. Szükség van az államilag minősített alapanyag (mag) mennyiségi részarányának növelésére. Az őshonos állományalkotó tölgyek (és a bükk) esetében rendkívül fontos, megoldandó feladat a ciklikusan jelentkező, kiemelkedő magtermések vegetációs időszakokat átfogó, minél kisebb mértékű minőségromlást eredményező tárolása is

A tölgy makk tárolásával és a csírázás folyamatának vizsgálatával a Nyugat-Magyarországi Egyetem Erdőművelés Tanszéke 1993 óta foglalkozik. Az első vizsgálatok során kapott eredmények értékelésénél nyilvánvalóvá vált, hogy komplex biológiai és biokémiai alapismeretek, valamint analitikai kémiai módszerek alkalmazása nélkül e téma kutatása intenzíven nem művelhető. Ez indokolta az Egyetem intézményeinek és a célcsoportos támogatást kezelő Állami Erdészeti Szolgáltatnak a közreműködését e kutatási témában. E kutatási program részét képezi a Ph D dolgozat témaköre is.

Hazai kutatók bizonyították, hogy az egyébként toxikus és rákkeltő vegyületként ismert formaldehid a biológiai transzmetilezési folyamatokban közti terméként keletkezik. A metil-csoportok pl. kismolekula tömegű anyagokról makromolekuláris anyagokra történő átvitele oxidációs folyamatban, formaldehid keletkezésén keresztül valósul meg. A demetilezési folyamatokban a formaldehid generátorok metil-csoportjaiból endogén formaldehid keletkezik. Metilzésben a metiláz enzimek donorok metil-csoportjainak felhasználásával endogén formaldehidet keresztül metilezik az akceptorokat. Bruttó metilezési-demetilezési folyamatok eredő intenzitásától függően analitikai kémiai módszerekkel eltérő endogén formaldehid tartalmak mérhetők.

A gyógy- és haszonnövények élettani folyamatainak vizsgálatában már régóta sikerrel alkalmazott *endogén formaldehid ciklus* elméletét és kutatási módszereit kiterjesztettük az erdei fafajokat érő környezeti hatások vizsgálatára. Az elmélet egyes élettani folyamatok jelzőmolekuláiként az endogén formaldehidet és generátorait használja fel. Felhasználtuk az elméletet a csertölgy (*Quercus cerris* L.) magvainak (1) tárolása során és (2) ontogenezisének korai szakaszaiban a környezeti hatások nyomon követésére. A kutatásainkhoz választott csertölgy rendszeresen termő fafaj, ami ezáltal biztosította az azonos származási körzetből, termőhelyről gyűjtött friss és tárolt makk vizsgálatát.

Az elmúlt közel hét évben vizsgáltuk a csírázó magvak egyedfejlődését kísérő és a biológiai transzmetilezésben szerepet játszó endogén formaldehid (HCHO) és generátorainak mennyiségi változását. Csíráztatási kísérleteinkben egyrészt feltérképeztük a fiziológiás állapotokat visszatükröző endogén formaldehid tartalmakat, másrészt környezeti hatások (szárazság, hideg- és hősokk stb.) esetében nyomon követtük a makk szikleveleiben bekövetkező stressz lefolyását.

## 1. A biológiai metilezési és demetilezési folyamatok

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 [1]. A sejtek anyagcsere-folyamataival foglalkozó kutatásoknak köszönhetően számos szubsztitúciós módosítást (foszforilezés, glikozilezés, acetilezés, ADP-riboxilezés, metilezés, stb.) azonosítottak. Ezek megváltoztatják a makromolekulák töltéseloszlását, hidrofóbicitását, molekulatömegét, oldhatóságát, és sok esetben funkcióját is. Például, néhány enzim foszforilezése jelentősen növeli az aktivitásukat [2], míg glikozilezésük gátolja a lebontásukat [3].

A metilezés és demetilezés az ismert biokémiai szubsztitúciók közé tartozik. Bár sok esetben a pontos biológiai hatásuk még nem ismert, a metilezés és demetilezés általános előfordulása azt sugallja, hogy fontos szerepet tölt be a fehérjék közötti ill. a sejten belüli kölcsönhatásokban.

Különböző szövetek esetében kimutatták, hogy egymástól eltérő, specifikus biológiai aktivitással rendelkező szubsztrátumok és makromolekulák metileződnek ill. demetileződnek. A folyamatokban való részvételük megváltoztatja sejten belüli koncentrációjukat, így a metilezés áttételesen befolyásolja azoknak az élettani ill. anyagcsere-folyamatoknak a sebességét, amelyekben a metilezhető ill. demetilezhető anyagoknak szerepük van.

### 1.1. Enzimes metilezés

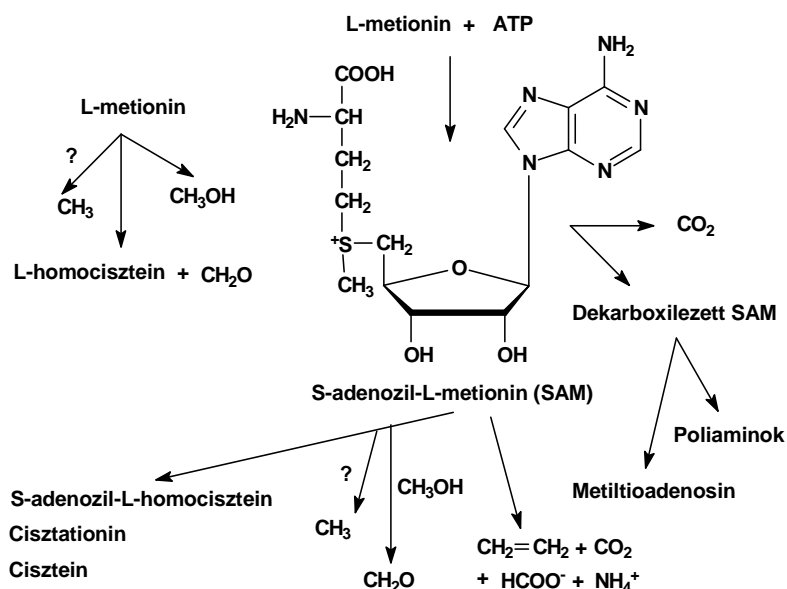
Az első, élőszervezetben előforduló metilezett aminosav - a *Salmonella tryphimurium* baktérium ostor fehérjéiben kötött metil-lizin - felfedezése óta [4] több fehérjéből izoláltak metilezett aminosav származékokat. Kimutatták, hogy bizonyos fehérjék lizin, arginin, hisztidin, glutaminsav, aszparaginsav valamint láncvégi alanin, prolin, fenil-alanin, egységei a nitrogén atomjaikon, a szabad karboxillal rendelkező glutamin és aszparagin az oxigén atomjaikon, a cisztein kén atomján, míg a metionin kén és nitrogén atomján keresztül metileződhet [5]. Az analitikai kémiai technikák 70-es évekbeli fejlődése következtében, különböző szövetekből és biológiai nedvekből szabad metilezett aminosavakat is izoláltak [6,7].

A metilezett hisztonok - a DNS regulációt szabályozó fehérjék- felfedezését követően [8-10] sikerült kimutatni a DNS bázisainak metileződését is [11, 12]. Megállapították, hogy a hisztonok metilezése a sejtciklus DNS megkettőződését követő fázisában (G<sub>2</sub>) a legintenzívebb [13-15]. A fehérjék arginin egységeit módosító fehérje metiláz I. (EC 2. 1.1.23) felfedezése óta [16] számos metilező enzimet azonosítottak ill. izoláltak [17-20].

#### 1.1.1. Az S-adenozil-L-metionin (SAM) és szerepe az enzimes metilezésben

Az S-adenozil-L-metionin a sejtek citoplazmájában metioninból és ATP-ből keletkezik. Számos metilezési reakcióban metil-donorként vesz részt. A SAM és a nukleofil akceptorok reakciójában S-adenozil-L-homocisztein (SAH) és metilezett akceptor származék keletkezik. Dekarboxileződése a poliaminok szintézisének első lépése, melléktermékként metiltio-adenozin keletkezik. További átalakulásokon keresztül pl. etilén, hangyasav, szén-dioxid és ammónia is keletkezhet [21, 22].

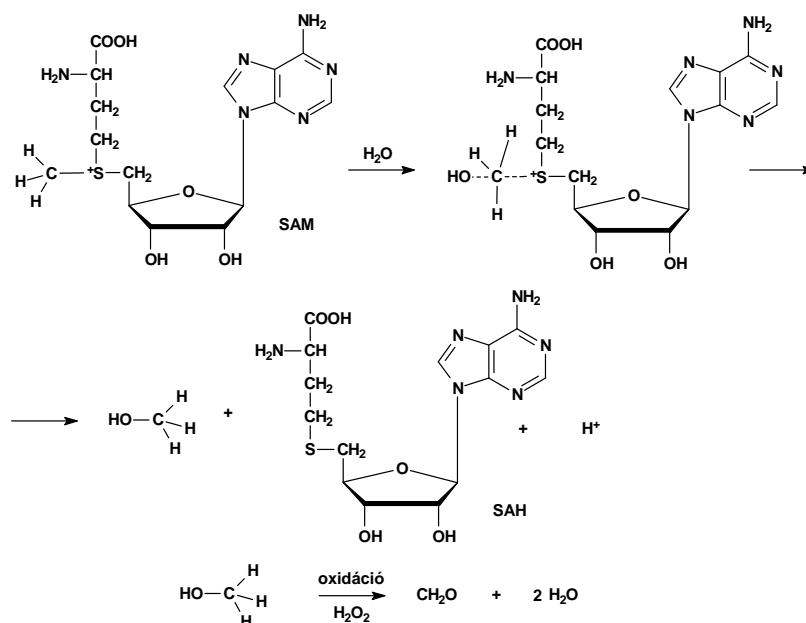




1. ábra A SAM metabolizmusa [23]

A metilezési reakciók mechanizmusának ismerete feltételezi a metil-transzfer közvetlen (egy lépésben történő), vagy közvetett jellegének tisztázását. Közvetett folyamat esetén ismerni kell a metil-csoport kémiai átalakulásának elemi lépéseit, az esetleges köztitermékeket és átmeneti állapotokat is.

Szakirodalmi adatokat felhasználva [24], saját kísérleti eredményeik alapján [25-29], magyar kutatók fogalmazták meg azt a hipotézist, hogy az enzimkatalizált metilezési reakciók közvetett úton, több lépésben valósulnak meg és azokban a formaldehidnek szerepe van [21]. A hisztamin enzimatis metilezésén keresztül bizonyították, hogy a SAM metil-csoportok metilgyökként és metil kationként nem kerülhetnek át közvetlenül a donorokról az akceptorokra [30].



2. ábra SAM demetileződése [23]

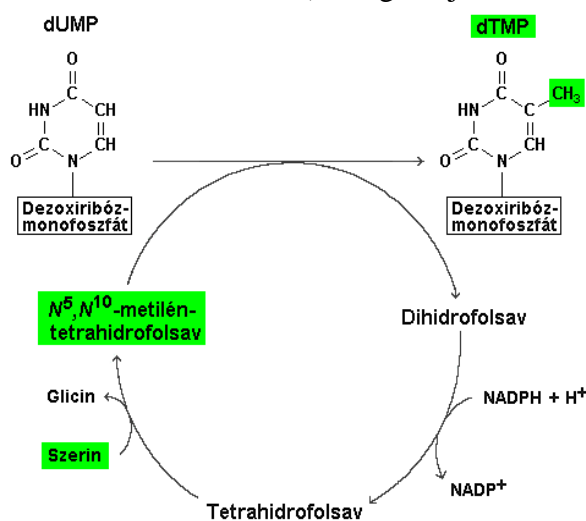
A SAM demetileződésének feltételezett mechanizmusát a 2. ábra mutatja be. A metil-csoport a bemutatott, valószínűsített lépéseken keresztül endogén formaldehiddé alakul [23]. Az átmeneti termékként keletkező formaldehidet az oxido-reduktáz enzimek csoportjába tartozó metilázok akceptor-molekulákhoz kapcsolják.

Az akceptorokhoz kötött metil-csoportok eltávolítását, a metilezett termékek demetilezését demetiláz enzimek hajtják végre. Ebben a még részleteiben nem teljesen tisztázott folyamatban is endogén formaldehid keletkezik a metil-csoportokból. Az S-, O- és N-atomokhoz kötött metil-csoportok az endogén formaldehid egyik kötött formájának tekinthetők [31, 32]. A metilezés és a demetilezés folyamatai az egyedfejlődés során eltérő sebességekkel mehetnek végbe. Ennek következményeként a biológiai rendszerek endogén formaldehid tartalma a fejlődési állapottól függően kisebb vagy nagyobb lehet.

A következő alfejezetek néhány, kiválasztott metilezési példát ismertetnek. A teljes körű szakirodalmi feldolgozást mellőző hivatkozások célja a metilezés biológiai sokrétűségének érzékeltetése. A dolgozat csak azokat a metilezési "eseményeket" foglalja össze, amelyek az élettani folyamatokban meghatározóak és a sejtciklus fázisaira is hatást gyakorolnak.

### 1.1.1.1. Nukleinsavak metilezése

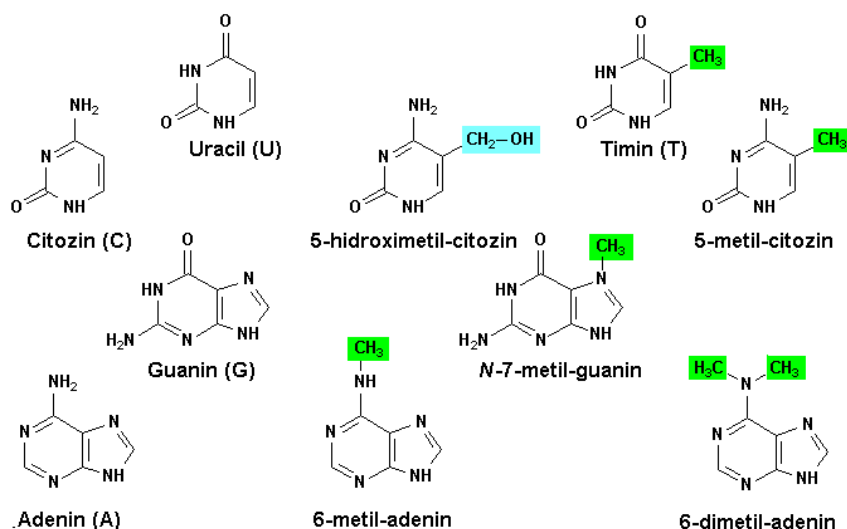
A nukleinsav molekulák metilezett purin és pirimidin bázisokat is tartalmaznak. Ezek metileződésének élettani szerepe a legtöbb esetben még nem tisztázott. Nagy részük a DNS-ből csak kis mennyiségben mutatható ki. Viszonylag nagy mennyiségben tartalmaz a DNS két bázis származékot, az 5-metil-citozint és az 6-metil-adenint. A növényi DNS közel 7%-a 5-metil-citozin. Mennyisége prokarióta örökítőanyagban is megközelíti a 3%-ot. Az uracil nem tartozik a DNS építőkövei közé, helyette a DNS timint (metilezett uracilt) tartalmaz. Az **uracil timinné történő metilezése** dezoxiuridilsav (dUMP) formában megy végbe. A keletkező dezoxitimidilsav (dTMP) szintézisét a timidiláz katalizálja. A szintézisben a szubsztitúció lejátszódásához a metil-csoportokat a tetrahidrofolsav metilezett származéka ( $N^5, N^{10}$ -metilén-tetrahidrofolsav) szolgáltatja [33].



3. ábra A dTMP szintézise [33]

A **DNS metilezése** egyéb szubsztitúciós reakciókhoz hasonlóan (pl.: glikozilés) a szintézist követő, utólagosan végrehajtott reakció. Specifikus állati és növényi DNS szekvenciákban a citozin 5-hidroximetil-citozinná és/vagy 5-metil-citozinná metileződik.

Az adenin ill. a citozin egységek metilezése fontos szerepet játszik a duplikációt követően a "szülő" és a komplementer "utód" láncok és az idegen DNS megkülönböztetésében ill. a génaktivitás szabályozásában. A kettős hélix autentikus GATC szekvenciájában (G - guanin; A - adenin; T - timin; C - citozin) az adenin metilezett, a komplementer másolatban nem [34]. Ez az eltérés szolgál alapul többek között a szintézisben hibásan kódolt DNS részek kijavításában. A reparáló enzimek csak a metilezetlen, komplementer "utód" szálakat darabolják, a metilezett "szülő" szálakat nem hidrolizálják.



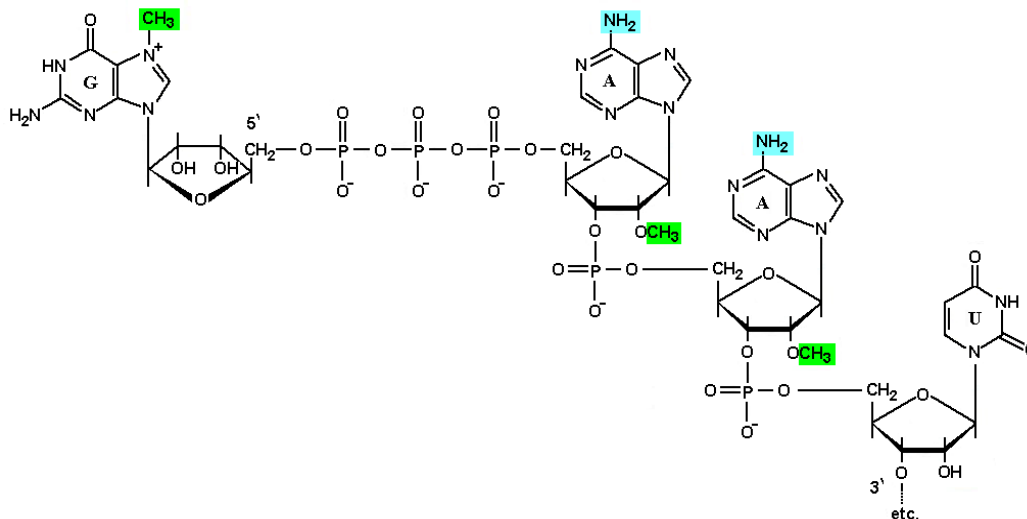
**4.ábra** Nukleinsav bázisok és metilezett származékaik

A metilezés a gének aktivitásában is jelentős szerepet játszik. Az aktív gének sokkal kevesebb metilezett (5')CG(3') (citozin-guanin) szekvenciapárt tartalmaznak, mint az inaktívak. Baromfi szövetekből (vörös vértest, agy) izolált DNS-ek az  $\alpha$ -globin gént határoló CCGG szekvenciáknál különbözöek. Az agysejtek DNS szekvenciája a második citozin egységnél metilezett (CmCGG; mC - 5-metil-citozin), a vörösvértestek CCGG szekvenciával rendelkeznek. Azoknál a baromfi  $\alpha$ -globin géneknél, amelyeket CmCGG szekvencia határol az RNS átírás gátolt, a gén inaktív [35].

Az **rRNS** ribóz egységeinek és bázisainak utólagos módosításában is szerepet játszik a metilezés. Prokarióta sejtekben csak a bázisok, eukariótáknál a ribóz egységek 2'-hidroxil-csoportjai is metileződhetnek. Eukarióták esetében általánosnak tekinthető tapasztalat, hogy minden 100 ribóz egység közül 1 metilezett [36], továbbá a molekulák metil-csoport tartalma viszonylag magas (kb. 100 db CH<sub>3</sub>/rRNS molekula) [37].

A **tRNS** molekulákban is találhatók metilezett bázisok. Ezek az G, U, A és C mono- vagy dimetilezett származékai (pl.: 6-dimetil-adenin; lásd 6. ábra). A metilezés eredményeként megváltozik a bázisok intermolekuláris kölcsönhatási képessége, ami akadályozza a megfelelő bázis párok kialakulását. Összességében jelentősebbé válik a makromolekulák hidrofób jellege, amely valószínűleg meghatározó a szintázokkal és a riboszóma fehérjékkel kialakított kölcsönhatásában [38].

Az **mRNS** láncvégi, záró egységeiben (*cap0*) lévő guanin (G) 7.-helyzetű (*N*-7) nitrogén atomja SAM közvetítésével metileződik. A láncvégén a guaninnal szomszédos adenin 6-amino-csoportja és két ribóz egység (*cap1* és *cap2*) 2'-hidroxil-csoportjai metileződhetnek.



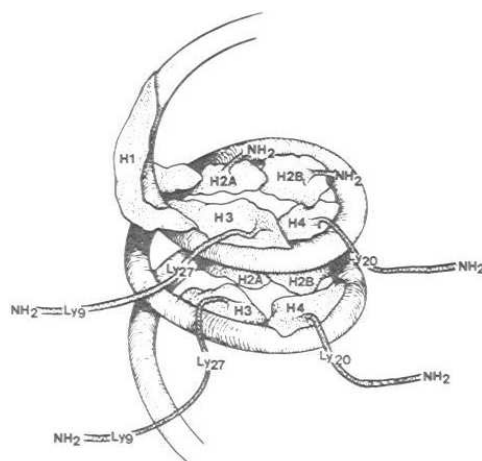
**5. ábra** Metilezési helyek az 5' RNS láncvégnél [39]

Sztérikusan védve az 5' láncvéget a foszfatázoktól és nukleázoktól a *cap*-ok hozzájárulnak az mRNS stabilitásához. Meghatározó szerepet töltenek be a riboszómákhoz történő orientációban és kapcsolódásban [39].

### 1.1.1.2. Fehérjék metilezése

A fehérjék enzimatisz metilezése a prokarióta és eukarióta sejtekre egyaránt jellemző. Ezek utólagosan végrehajtott szubsztitúcióként *N*- , *S*-metilezési és karboxilmetilezési (*O*-metilezési) reakciók lehetnek. Számos fehérje nitrogén atomjain metilezett lizin, arginin, hisztidin, alanin, prolin, glutamin, fenil-alanin, aszparagin és metionin egységekkel rendelkezik. A cisztein ill. aszparaginsav és glutaminsav tartalmúak kén atomokon ill. karboxil-csoportokon keresztül metileződhetnek. Metilezett aminosavakat tartalmaz pl.: a hiszton, a riboszóma fehérje, kalmodulin, a citokróm c, mielin bázisú fehérje, a miozin, a flagella fehérje, az opszin, nukleolin, ferredoxin,  $\alpha$ -amiláz, hősokk fehérje, stb. [40].

A 100-200 aminosav molekulából álló **hisztonok** a kromatin (kromoszóma) alkotói. A kromatinban, mint nukleoproteinben a DNS egy erősen bázikus fehérjékből, hisztonokból álló "gyöngysorszerű" képződményre van feltekeredve. A hisztonok aminosav szekvenciája a törzsfajlás során alig változott. Egymástól távol álló fajok (pl. borsó és szarvasmarha) hisztonjai között csak egy-két aminosavban van eltérés. A hisztonok közül csak a gazdag arginin tartalmú H3 és H4 metilezett. A metilezés elsődleges helyei a nukleoszómán kívüli *N*-terminális szekvenciákban találhatók. A H3 a 9. és 27., a H4 a 20. lizin egységeknél metileződik [41-44].



**6. ábra** A hisztonok feltételezett elhelyezkedése a nukleosómában [45]

A metilezetlen hisztonok közül a *Drosophila* H2B hősokk hatására hipermetileződik. Ezzel egyidejűleg a H3-ban metilezett lizinek egy része demetileződik, s néhány arginin egység  $N^G, N^G$ -dimetil-argininná alakul [46]. A H3 és H4 metilezése egyrészt növeli a lizin egységek bázicitását, ami feltehetőleg hozzájárul a hisztonláncok DNS-hez való kapcsolódásához, másrészt részlegesen védi a fehérje szálat a proteázoktól [47, 48].

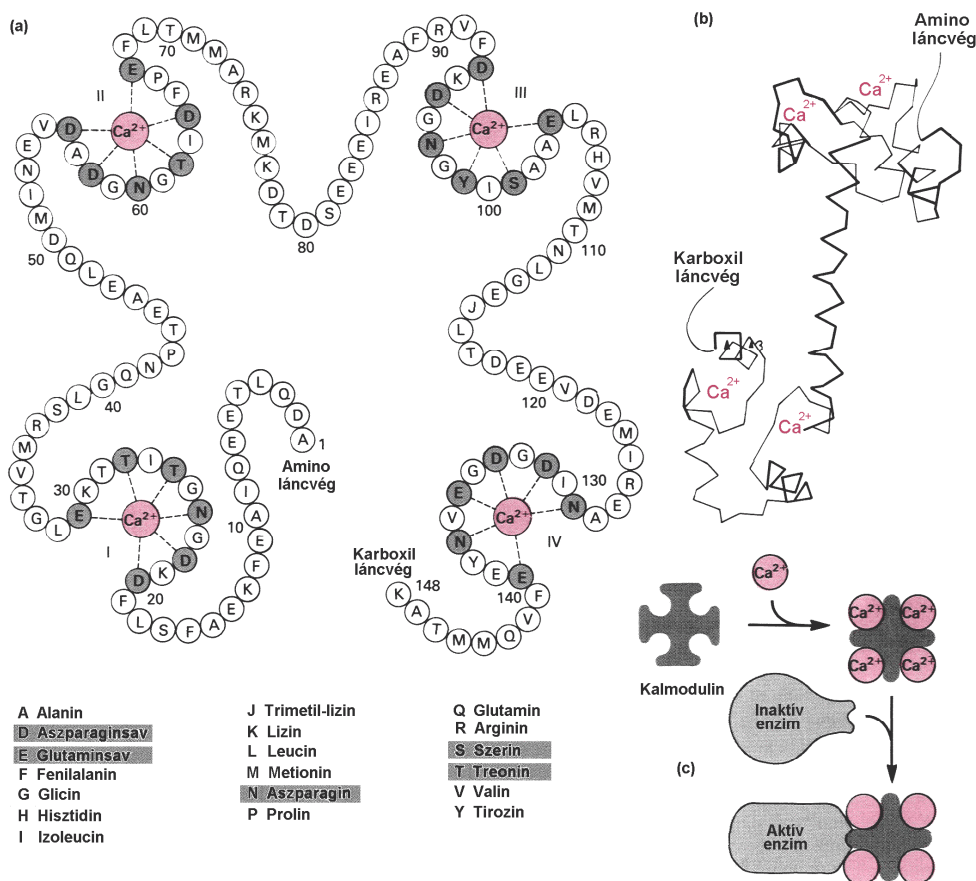
A metilezés valószínűleg szerepet játszik a kromatin szerkezetének kialakításában, s ezen keresztül áttételesen a génaktivitás szabályozásában is [45].

A riboszómát az rRNS molekulákkal együtt felépítő fehérjék, az un. **riboszóma fehérjék** is utólagosan metileződnek. A riboszóma fehérjék 100-200 aminosav egységből állnak, 10 000-35 000 g/mol molekulatömegűek. *Kaltschmidt* és *Wittman* nevezéktana szerint azonosításuk kicsi (S) vagy nagy (L) riboszóma alegységekben való jelenlétük és gélelektroforetikus viselkedésük alapján történik [49]. Az S és L osztályokon belül a különböző fehérjéket a molekulatömeg függvényében arab számokkal jelölik. Minél nagyobb a fehérje azonosító száma, annál kisebb a molekulatömege [50].

A fehérjék utólagos metilezését prokarióta és eukarióta riboszómákban is észlelték. A jellegzetes metilezett aminosav egységeket különböző élőlények esetében azonosították. A leggyakrabban tanulmányozott *Escherichia coli* riboszómaiban az S3 és S9 fehérje metil-észterezett [51]. A savas karakterű L7 és L12 fehérje 85. lizin egysége kb. 75 % konverziós fokkal  $N^ε$ -monometil-lizinné metileződik [52]. Az L16, L33 és S11 *N*-terminális láncvégen *N*-monometil-alanint tartalmaz, amelyet az L33 egyik részénél *N*-monometil-metionin helyettesít [53]. Az L3 150. egysége  $N^5$ -monometil-glutamin [54]. Az L11 kilenc metil-csoportot tartalmaz: trimetilezett az *N*-terminális alanin, a 3. és a 39. lizin egység [55]. Az *Saccharomyces cerevisiae*-ben az L15  $N^ε$ -dimetil- és  $N^ε$ -trimetil-lizint tartalmaz [56]. Az *Euglena gracilis* nagy mennyiségű  $N^ε$ -trimetil-lizint és kis mennyiségű 3-metil-hisztidint tartalmaz [57]. Metilezésben a magasabb rendű eukarióták eltérnek a prokariótáktól és az alacsonyabb rendű eukariótáktól. Esetükben a prokariótákra jellemző lizin metilezése helyett, az arginin egységek metilezése a meghatározó. A metilezett lizin származékok mellett az  $N^G, N^G$ -dimetil-arginin jelen van a 60S riboszóma egységben [58]. Az egér sejtek [59] és *Artemia salina* [60] 1 $α$ (EF-1 $α$ ) fehérjéi metilezettek. A spenót kloroplasztiszok riboszóma fehérjéiben az *N*-metil-alanin az *N*-terminális aminosav egység [61]. Az *Escherichia coli* L11 fehérje *in vitro* savas hidrolí-

zisést és tripszinnel történő lebontását a peptid kötésekkel szomszédos metilezett aminosav egységek gátolják [62]. Csak az L3-ra jellemző glutamin metilezésről feltételezik, hogy fontos szerepet tölt be a riboszómák kialakításában. Az  $N^5$ -metil-glutamin egységek kölcsönhatásba lépnek az rRNA molekulákkal a riboszómák kialakulásának korai időszakában [63]. Az L3 valószínűleg részt vesz a fehérje szintézis elongációs szakaszaiban, a peptidil-transzferáz aktív centrumában az aminosav szekvencia hosszabbításánál [64]. Az L7 és L12 metilezése hőmérséklet függő [65]. A relatíve alacsony hőmérséklet fokozza a riboszómák aktivitását. Alacsony hőmérséklet (25 °C) növeli, a magas (37 °C) csökkenti az L7 és L12 lizin egységeinek metileződését [66]. Tapasztalták, hogy alacsony hőmérsékleten csak az újonnan keletkező riboszómában metileződik az L7 és L12, a "régiekben", a magas hőmérsékleten keletkezőkben nem következik be az utólagos módosítás. Tehát az L7 és az L12 utólagos metilezése csak "szabad" állapotban történik, riboszómákban "rögzítve" már nem. Ezek az eredmények alátámasztják azt a feltételezést, hogy a metilezésnek fontos szerep jut a proteolitikus folyamatok elleni védelemben és a riboszómák hatékonyságának változtatásában. HeLa sejtekben a 40S riboszóma egységek metilezése a sejt ciklus késői G1 fázisában, a 60S egységeké az S fázis korai szakaszában megy végbe [67]. A fehérje szintézis gátlásával ill. a riboszómák keletkezésével kapcsolatba hozható fehérjék metileződési mértéke eltérő [68]. Az utólagos módosítások némelyike a riboszóma keletkezéséhez, míg mások a riboszómák működéséhez köthető. A keletkező riboszómákra inkább a metil-lizinek, a kialakultakra a metil-argininek a jellemzőek. Ez alapján feltételezhető, hogy a metilezés néhány esete elsősorban nem a riboszómák felépítésében, hanem a fehérje szintézisben vagy annak szabályozásában tölt be fontosabb szerepet.

A **kalmodulin** (M=16800 g/mol)  $Ca^{2+}$ -ionokkal komplexet képző fehérje, az összes eukarióta sejtben megtalálható. Négy  $Ca^{2+}$ -kötő helyet tartalmaz, melyek közül kettő igen erősen köt, kettő lazán. A pI=4.0 értékű izoelektromos pontja visszatükrözi a magas aszparagin- és glutaminsav tartalmát. Az esszenciális aminosavak közül nem tartalmaz triptofánt és ciszteint és magas fenil-alanin/tirozin arány jellemzi. A legtöbb növényi és állati kalmodulin 115. lizin egysége trimetil-lizinné metilezett [69]. Szabad karboxil-csoportjai metilezhetőek. Enzimek és fiziológiai folyamatok széles körét aktiválja [70]. Nagy mennyiségben található az agy és a mellékvese kéreg szövetekben. Serkenti a neurotranszmitterek bioszintézisét [71] és felszabadítását [72], továbbá poszt-szinaptikus folyamatokat, pl. a ciklikus adenzin-monofoszfát keletkezését [73].

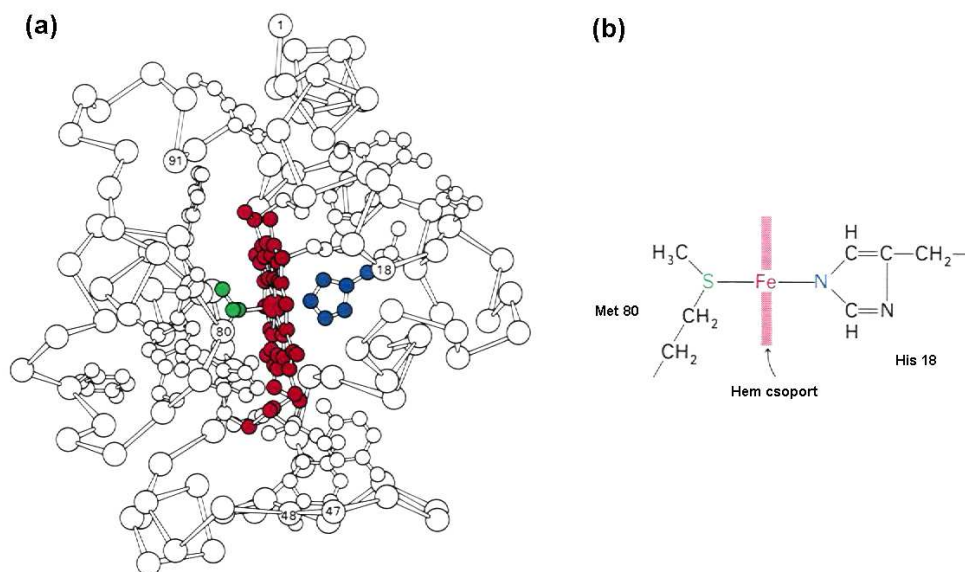


**7.ábra** A kalmodulin aminosav szekvenciája (a), térbeli szerkezete (b) és enzim aktiváló funkciója (c) [74]

A metilezett és metilezetlen kalmodulin biológiai sajátosságai jelentősen eltérők. A metilezetlen növényi kalmodulin az *N*-trimetilezett állati kalmodulinnál nagyobb NAD-kináz aktiváló képességgel rendelkezik [75]. *Dictyostelium*-ból izolált des(metil)-kalmodulin és *in vitro* metilezett származéka eltérően befolyásolja a nukleotid-foszfodiészteráz és NAD-kináz aktiváló képességet. A foszfodiészteráz enzimmal ellentétben, a NAD-kináz aktiválásakor jelentős aktiváló képesség csökkenést tapasztaltak [76,77]. Ez a felfedezés is alátámasztja azt a feltételezést, hogy a kalmodulin különböző régiói az enzimek aktiválásában specifikusak.

A kalmodulin SAM jelenlétében karboxil-metil-transzferázzal történő inkubálása kb. 50%-al csökkenti a nukleotid-foszfodiészteráz aktiváló hatását [78]. A dezamidézést előidéző inkubálás hatására 82%-os aktivitás csökkenést szenvedő kalmodulin aktivitása karboxilmetilezéssel részlegesen visszaállítható (68%) [79].

A **citokróm c** kis molekulatömegű ( $M=12\ 000\ \text{g/mol}$ ) fehérje. Megközelítőleg 100-110 aminosav alkotja. Tercier szerkezete, izoelektromos pontja és egyéb sajátosságai fajoktól függetlenül közel megegyezők [80]. A citoplazmában szintetizálódik. Az összes eukarióta mitokondriumában megtalálható, ahol az elektron transzportlánc egyik szállítója. A mitokondrium membránok közötti terében, a citokróm c oxidáz komplextól a citokróm c reduktázhoz közvetíti az elektronokat [81].



**8. ábra** A tonhal citokróm *c* térbeli szerkezete (a) és aminosav egységeinek központi atomhoz ( $\text{Fe}^{2+}$  v.  $\text{Fe}^{3+}$ ) való kapcsolódása (b) [82]

Arginin, metionin és lizin citokróm *c* egységeket metilező enzimeket azonosítottak [83-86]. *In vitro* metilezéssel bizonyították, hogy a arginin (38. aminosav egység), a metionin (65.) és a hem központi ( $\text{Fe}^{2+}$  v.  $\text{Fe}^{3+}$ ) ionjához koordináló metioninhoz (80.) térben közeli lizin (72.) metileződik. Néhány faj esetében (pl. búza csíra) a 72. lizin mellett a 86. egység is trimetil-lizinné metilezett [87]. A 72. lizinegység metilezését követően a metilezett citokróm *c* izoelektromos pontja ( $\text{pI}=9.43$ ) csökken a metilezetlenhez képest ( $\text{pI}=10.03$ ) [88]. Ez a jelenség a metilezést kísérő komplex hatás eredménye, ugyanis a trimetilezés növeli az amino-csoport bázicitását. A trimetil-lizin erősebb bázis, mint a lizin [89]. A bruttó bázicitás csökkenést azonban nemcsak az amino-csoport metileződése, hanem a makromolekuláris konformáció és a molekulán belüli kölcsönhatások mértékének megváltozása is befolyásolja. A metilezés hatással van a hidrogénhid kötésekre. A 72. metilezetlen lizin a szomszédos 70. aszparagin egységgel elméletileg hidrogénhidat létesít, amelyre a trimetilezett állapotban már nem képes [87]. A metilezés fokozza az apocitokróm *c* proteázokkal szembeni stabilitását [90] és kedvezőbbé teszi a mitokondriumokba való jutását [91] ill. a receptorok, valamint a hem liázhoz való kapcsolódásukat [92].

### 1.1.1.3. Metil-akceptorok

A metilezés a makromolekuláris anyagok utólagos módosítása mellett fontos szerepet játszik az anyagcsere termékeinek ill. közti termékeinek szintézisében is. A metilezés részt vesz a pterin, klorofill, néhány hormon, kinon és membránalkotó, stb. keletkezésében. A  $C_1$ -transzferben az akceptorok *N*- és *S*-atomjai, a fenolos hidroxil- és a karboxil-csoport oxigénjei, valamint az  $sp^2$  és  $sp^3$  hibridállapotú *C*-atomjai metileződnek vagy hidroxil-metileződnek. Az 1. táblázatban és a Függelékben (F-I.) található a metabolizmus főbb metil-akceptorai és metilezett származékai [93].



**1. táblázat** Az anyagcsere során metileződő akceptorok

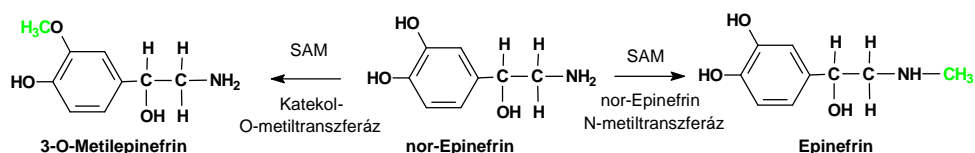
Akceptor	Donor	Metilezett termék	Megjegyzés
<b>Fenolos hidroxil-csoport metilezése</b>			
Poliprenil-katekol	3 db SAM	Ubikinol	a 3 db SAM közül egy az aromás gyűrűt metilezi
nor-Epinefrin	SAM	3- <i>O</i> -Metil-epinefrin	
2-Hidroxi-esztradiol-17 $\beta$	SAM	2-Metoxi-esztradiol-17 $\beta$	
2-Hidroxi-esztron	SAM	2-Metoxi-esztron	
<b>Karboxil-csoport metilezése</b>			
Mg-protoporfirin IX	SAM	Mg-protoporfirin-monometil-észter	
<b>Kén-atom metilezése</b>			
L-homocisztein	betain, $N^5$ -metil-THF, SAM	L-metionin	
L-metionin	SAM	S-metil-metionin (SMM)	
4-metil-tio-2-oxobutirát	SMM	4-dimetil-szulfonium-2-oxobutirát	
<b><math>sp^2</math> hibridállapotú szén-atom metilezése</b>			
Poliprenil-katekol	SAM	Ubikinol	
2-Poliprenil-	SAM	2-Poliprenil-3-metil-	
1,4-dihidroxi-naftalin		1,4-dihidroxi-naftalin	
Citozin(DNS-ben)	SAM	5-Metil-citozin (DNS-ben)	
*Guanozin-5-trifoszfát származék	2 db SAM	**Pterin prekursor	egy SAM $sp^3$ szén-atomot metilez
Demoszterol	SAM	***D <sub>2</sub> -vitamin prekursor	
Demoszterol	SAM	Stigmaszterol	
Uroporfirinogén III	SAM	Prekorrin 2	
Prekorrin 2	SAM	Prekorrin 3	
dUMP	$N^5, N^{10}$ -metilén-THF	dTMP	
2'-Dezoxicitidin-5'-foszfát	$N^5, N^{10}$ -metilén-THF	2'-Dezoxi-5-hidroximetil-citidin-5'-foszfát	
<b><math>sp^3</math> hibridállapotú szén-atom metilezése</b>			
*Guanozin-5-trifoszfát származék	2 db SAM	**Pterin prekursor	egy SAM $sp^2$ szén-atomot metilez
2-Oxoizo-valériánsav	$N^5, N^{10}$ -metilén-THF	3-metil-3-hidroximetil-2-oxobutánsav	
<b>Nitrogén-atom metilezése</b>			
Nikotinsav	SAM	Trigonellin	
nor-Epinefrin	SAM	Epinefrin	
3-Foszfatidil-etanol-amin	3 db SAM	3-Foszfatidil-kolin	
Guanidino-ecetsav	SAM	Kreatin	
Hisztamin	SAM	$N^3$ -Metil-hisztamin	
nor-Morfin	SAM	Morfin	

(1. táblázat megjegyzései: \* 6-*N*-(D-eritro-3,4-dihidroxi-5-trifoszfát-butil-2-on)-2,5,6-triamino-4-hidroxi-pirimidin; \*\* 2-Amino-4-hidroxi-7-metil-6(D-eritro-2,3,4-trihidroxibutil)-dihidro-pteridin-trifoszfát; \*\*\* Ergosza-5,7,22,24,(28)-tetraén-3 $\beta$ -ol.)

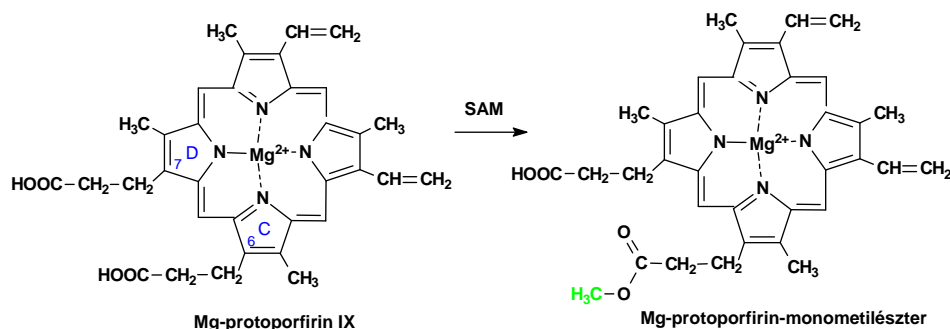
**1.1.1.4. Metilezett származékok**

Az 1. táblázatban felsorolt metil-akceptorokból keletkező metilezett származékok mellett a biológiai rendszerekből számos metilezett terméket azonosítottak. Nagy részük metileződése feltételezhetően a formaldehid cikluson keresztül megy végbe (lásd. 2. fejezet). A metilezés során a *N*, *S*, *O* és *C* atomok hidrogénjeinek  $CH_3$  csoporttal való helyettesítése megváltoztatja a kiindulási vegyület (akceptor) fizikai és

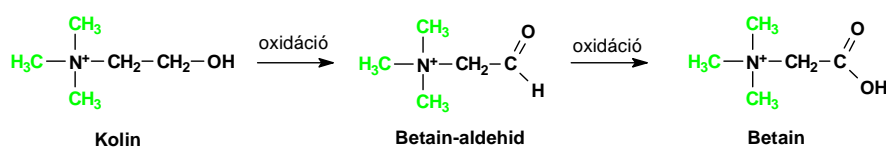
kémiai tulajdonságait (molekulatömeg, hidrofóbicitás, kötéseerősség, sav-bázis karakter, stb.). Ennek következtében a származék biológiai sajátága jelentősen eltérhet az akceptorétól. Az anyagok célirányos és vezérelt metilezése az anyagcsere folyamat meghatározó része. A sejt élettani működtetésével, a többi szubsztitúciós reakcióval (pl. foszforilezés, glikozilezés, stb.) párhuzamosan ill. azokat követően, az anyagok mennyiségén keresztül lehetőség nyílik a metabolizmus szabályozására. Szubsztrátok metilezése-demetilezése megakadályozhatja az enzim-szubsztrát komplex kialakulását ill. komplexképzés esetén a szubsztráton végrehajtandó kémiai átalakulást. A **nor-epinefrin N-metilezése** a biológiai aktivitás fokozás, **O-metilezése** az inaktíválás ismert, klasszikus esetei közé tartozik [94]:



Aktivitás változás következik be a **hisztamin és a nor-morfin metilezése** során is. A karboxil-csoport és fenolos hidroxil tartalmú vegyületek metilezése a legtöbb esetben a funkciós csoport egyéb reakcióktól való védelem miatt valósul meg. A metilezett fenolos  $-OH$  és a  $-COOH$  pl. elvesztik észterképzési képességüket. Ez a jelenség tapasztalható a **Mg-protoporfirin IX karboxil-metilezése** esetében. A Mg-protoporfirin IX két, térszerkezetileg a porfirinvázhoz szimmetrikusan kapcsolódó propionsavval (C-6 és D-7) rendelkezik. SAM jelenlétében a porfirinváz C-6 helyhez kötött egysége metileződik, a D-7-hez kapcsolódó szabadon marad. A metilezést követő lépésben a fitol már csak a fennmaradó propionsav egységhez kapcsolódhat [95]:



Az etanol-amin foszfatidil származékának metilezésében egy kvaterner-ammónium származék, **foszfatidil-kolin** (lecitin) keletkezik. A foszfatidil-etanolamin és kolin a biológiai membránok alkotóelemei. Membránon belüli mennyiségük arányának szabályozása elsősorban a transzmetilezésen keresztül valósul meg. A lecitin lebontásából keletkező kolin oxidációs lépéseken keresztül glicin betainná alakulhat [93,96], ami a formaldehid ciklus esetleges metil-donor hiányát pótolhatja:



**A nikotinsav metilezése trigonellint szolgáltat**, ami állati és növényi szövetekben egyaránt előfordul [97-99]. A hüvelyes növényekben a trigonellint hormonális szabályozóként is azonosították [100-102].

A *Pisum sativum* (borsó) magvak csírázásakor a sziklevelekben tárolt trigonellin a csiranövény szöveibe szállítódik és a gyököcskét alkotó sejt populáció nagy részében a G<sub>2</sub> sejtciklus tartózkodási időtartamát megnöveli [103]. A növényekben a trigonellin a levelekben szintetizálódik és a termés érése során a magvakban felhalmozódik. A legtöbb hüvelyes növény magja más vizsgált magvakhoz viszonyítva magas trigonellin tartalommal rendelkezik. A trigonellin, mint a NAD (nikotinsav-amid dinukleotid) előállításának funkciójű piridin metabolizmus egyik leggyakoribb molekulája nikotinsav "tároló anyagként" is létfontosságú [104-106].

A metilezett vegyületek közül viszonylag nagy mennyiségben izolálhatók az aminosavak származékai. A nitrogén-atomon metilezett aminosavak között leggyakoribbak a lizin és az arginin származékai. A metilezett lizineket és arginineket biológiai jelentőségük is kiemeli. Fehérjékben történő metileződésük ellenére a sejteken belüli nagy mennyiségük nem magyarázható csak a metilezett fehérjék lebontásával. Feltehetően jelentős részük közvetlen metileződés eredménye.

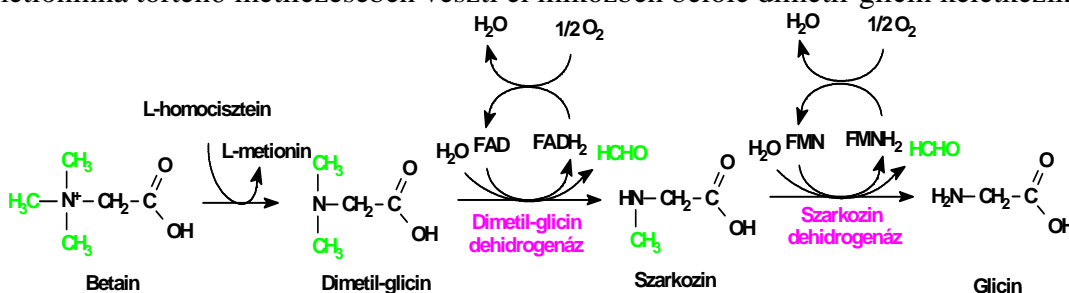
**Trimetil-lizin** (TML) esetében tapasztalták, hogy vérnyomás csökkentő hatással rendelkezik [107]. Humán és állati szövetekben serkenti a sejtosztódást [108-110]. *N*-metilezett lizineket kis mennyiségekben tartalmazó permetlé (Formetol) serkenti a gabona növények növekedését és fokozza a termés hozamot [111-113]. 50-150 ppm koncentrációjú oldatával végzett permetezés növeli a fotoszintézis intenzitását, serkenti a fehérje szintézist [114] és gátolja a klorofilok lebontását [115].

A guadino csoportján metilezett arginin származékokat (*N*<sup>G</sup>-mometil-L-arginin, *N*<sup>G</sup>, *N*<sup>G</sup>-dimetil-L-arginin, *N*<sup>G</sup>, *N*<sup>G</sup>-dimetil-L-arginin) különböző szövetekből szabad állapotban is izolálták [116, 117]. Kimutatták, hogy az L-lizin és az L-arginin formaldehiddel való reakcióikban ellentétesen viselkedik [118, 119]. Az L-lizin formaldehiddel spontán metilezhető és formilezhető [120-122], míg az L-arginint a formaldehid csak hidroximetilezi [119, 123, 124]. A ***N*<sup>G</sup>-hidroximetilezett argininek** az állati tumorok növekedését lassítják [125]. A mono- és dimetil-argininek a 10-100 ppm koncentráció tartományban gátolják a dohány kallusz kulturák növekedését [126].

## 1.2 Enzimes demetilezés

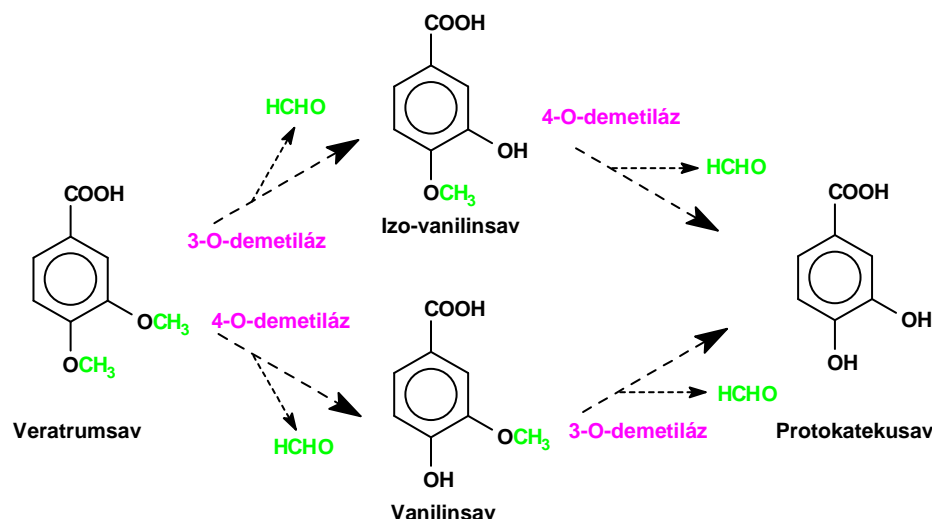
Formaldehidet nem csak metilezési, hanem - demetilezett szubsztrátumok keletkezése mellett - demetilezési folyamatokból is kimutatták [127]. Az *N*-, *S*- és *O*-metilezett termékek egyik lehetséges biotranszformációja a demetilezés. *N*-metilezett termékek katabolizmusa esetében kiemelik az *N*-demetilezés jelentőségét, amelyben a formaldehid a folyamat állandó metabolikus terméke [128,129]. 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 keresztül eltávolítását az oxidoreduktázok csoportjába tartozó demetilázok katalizálják. Biokémiai szerepük - az enzimes metilezéshez hasonlóan - döntően a szubsztrátumok (metilezett-termékek) és a demetilezett származékok biológiai sajátágaikból erednek. A demetilezés folyamatai fontos szerepet játszanak pl. a metilezett DNS-szekvenciák kijavításában [130], alternatív biokémiai szintézisekben [93], apoptózis indukálásában [131] és a dinamikus biológiai metilezési-demetilezési folyamat szabályozásában.

A növényekre a számos azonosított metilezett termék közül leginkább az *N*- és az *O*-metilezett termékek (mint pl. a foszfatidil-kolin és a metilezett-fenolkarbonsav származékok) a jellemzőek. Demetileződésük mechanizmusának feltérképezésében a kolin katabolizmus részét képező betain - glicin átalakulásnak és a metilezett-fenolkarbonsav származékok lebontásának tanulmányozása meghatározó volt. A betain, mint kvaterner ammónium vegyület az "első" metil-csoportját az L-homocisztein L-metioninná történő metilezésében veszt el miközben belőle dimetil-glicin keletkezik:



A másik két metil-csoport dehidrogenázok (dimetil-glicin-dehidrogenáz ill. szarkozin-dehidrogenáz) hatására formaldehid keletkezésén keresztül szakad le az őket hordozó szén-atomról. Ebben a két lépéses demetilezési folyamatban sztöchiometriailag 1 mol glicin képződést 2 mol endogén formaldehid keletkezés kísér.

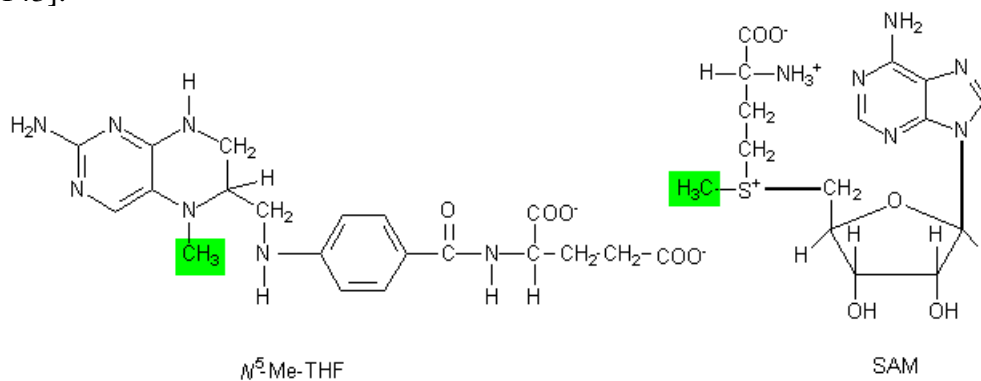
*Pseudomonas aeruginosa*- és *Pseudomonas testosterini*-vel végzett kísérletekkel bizonyították, hogy formaldehid keletkezik a veratrumsav (3,4-dimetoxibenzoésav) demetilezési reakciójában. A reakciót katalizáló demetilázt, egy monooxigenázt azonosították, s az eredmények alapján kidolgozták a metoxi-fenol származékok demetileződési sémáját [132,133]. Hasonló demetilező enzimet azonosították a *Pseudomonas putida* tenyészetből is [134,135]. Kimutatták, hogy a *Nocardia* és a *Rhodococcus* fajok is képesek a metoxi-fenol származékok demetilezéssel történő lebontására. A veratrumsav vanilinsavvá (4-hidroxi-3-metoxibenzoésav) és izo-vanillinsavvá (3-hidroxi-4-metoxibenzoésav) történő részleges ill. protokatekusavvá (2,3-dihidroxi-benzoésav) történő teljes lebontása 3-*O*- és 4-*O*-demetilázok hatására megy végbe [136-140]:



Néhány, főleg *O*-metilezett DNS bázis demetiláz enzimének vizsgálata alapján valószínűsítik, hogy a metil-csoportok eltávolítását az enzim molekulán belül kölcsönhatásban lévő cisztein és arginin egységek, mint aktív centrumok katalizálják. Feltételezték, hogy a cisztein kénatomja az egy szén-atomos egység átvételében, az arginin a cisztein tiol-csoportjának aktiválásában játszik szerepet [141-143].

## 2. Formaldehid ciklus

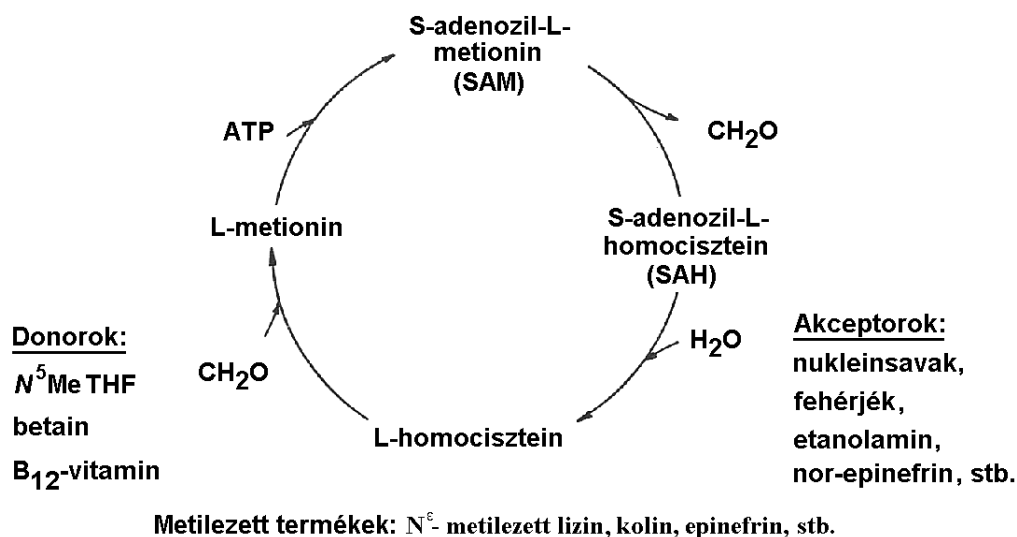
Az enzimatis metilezésnél az  $N^5$ -metil-tetrahidrofolát ( $N^5$ -Me-THF) és az *S*-adenozil-L-metionin (SAM) a két kulcsfontosságú metil-csoport közvetítő forrás [143].



A legtöbb biokémiai metilezés számára az  $N^5$ -metil-tetrahidrofolát ( $N^5$ -Me-THF) metil-csoportjának eltávolításához szükséges szabadentalpia változás nem kielégítő, ezért rendszerint a SAM az aktivált metil-csoport szolgáltató.

A SAM szintáz enzim (EC 2.5.1.6) [144] hatására adenzin-trifoszfáttól (ATP) és metioninból keletkezik. Ebben a folyamatban az ATP trifoszfát csoportja szokatlan módon piro-foszfáttá és orto-foszfáttá hasad. Az ATP adenzin-csoportja a metionin kén atomjához kapcsolódik. A metil-csoportot hordozó kénatom pozitív (+) töltése miatt reakcióképesebb a SAM az  $N^5$ -metil-tetrahidrofolátnál. Metilezéskor, a folyamat eredményeként a SAM molekulák metil-csoportjai akceptoroknak, pl. foszfadil-etanolaminnak

adódnak át, a SAM-ból *S*-adenozil-L-homocisztein (SAH) keletkezik, amely a vizes közegben adenzinná és L-homociszteinné hidrolizál. Az  $N^5$ -Me-THF-ből származó metil-csoport a  $B_{12}$ -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 (3. ábra), amelyet a régebbi szemléletű szakirodalmak aktivált transzmetilezési körfolyamatnak [143-146], az új keletűek formaldehid ciklusnak [21, 147, 148] neveznek.



4. ábra Formaldehid ciklus [148]

A folyamatban szabad (mérgező) formaldehid nem jelenik meg, a reakciók "vezéreltek" [148]. Az endogén formaldehid mérésén keresztül (dimedon, 2,4-dinitro-fenilhidrazin) a biológiai transzmetilezés egyszerű analitikai módszerekkel követhető.

Az elmélet érdeme a transzmetilezési reakciók mechanizmusának több lépésben történő értelmezése, az enzimhez kötődő  $C_1$ -csoport kötésszerkezetében bekövetkező vál-tozások árnyalt tárgyalása, valamint az endogén formaldehid tartalom fogalmának értelmezése. Az elmélet a transzmetilezés mindkét szakaszában megjelenít egy olyan átmeneti állapotot, amelyből levezethető a formaldehid-reakciótermék keletkezése. Elmélyült elméleti megalapozását adja a folyamatnak és magyarázza a biológiai rendszerek **endogén formaldehid képző potenciálját.**

Az elmélet kitüntetett szerepet tulajdonít az ún. "formaldehid generátor"-oknak, a metil-donoroknak. A formaldehid generátorok különböző anyagcsere-folyamatokban résztvevő endogén *N*-, *S*- és *O*- metilezett vegyületek. Kiemelt szerepük van az *N*-metilezett vegyületeknek, pl. a sejtosztódást fokozó metil-lizineknak, a sejtosztódást gátló hidroximetil-arginineknak, vagy az aminosavakból keletkező kvaternér ammónium-vegyületeknek.

A formaldehid generátorok és akceptorok anyagminőségi eloszlása és mennyiségi változásai jellemzik a biológiai rendszer fiziológiai állapotát, ill. a specifikus biogén és abiogén stresszhatásokat [149]. A formaldehid generátorok mennyiségének csökkenése és a magas endogén formaldehid szint együttesen élénk demetilezési reakciókra utal. Magas endogén formaldehid szint és az *N*-metilezett vegyületek mennyiségének növekedése fokozódó metilezési folyamatokat jelez.

A formaldehid-ciklus elméletét célirányosan végzett kísérletek eredményei támasztják alá:

**a.** A hisztamint hidrogénizotópot ( $^3\text{H}$ ) tartalmazó SAM jelenlétében metil-transzferáz enzimmel metilezték  $N^t$ -metil-hisztaminná. A reakciót dimedon (5,5-dimetil-1,3-ciklohexán-dion) jelenlétében végezték, ez utóbbi a formaldehiddel formaldemeton (1,1',3,3' -tetraketo-5,5,5',5'-tetrametil-2,2'-diciklohexilmetán) nevű adduktot képez.

A SAM  $\text{S-CH}_2\text{-}^3\text{H}$  csoportjáról leváló  $\text{-CH}_2\text{-}^3\text{H}$  csoportot  $^3\text{H}$ -at tartalmazó formaldemetonként azonosították, bizonyítva, hogy a metilezés formaldehiden keresztül valósul meg [30]. (A SAM és dimedon között közvetlenül nem játszódik le reakció.)

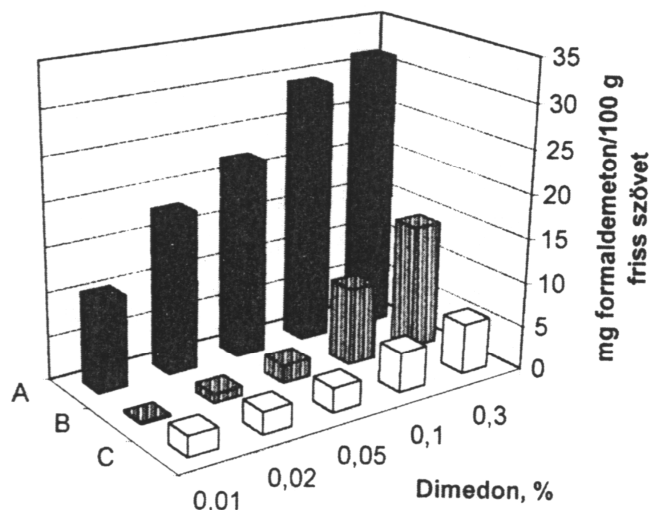
**b.** Bizonyították, hogy a hisztamin enzimatikus metilezésében az L-arginin guanidin-csoportja kulcsszerepet játszik. Patkány veséből nyert hisztamin-metil-transzferázban (HNMT) lévő L-arginin molekulák guanidin-csoportjainak ciklohexán-1,2-dionnal történő blokkolása megátolja az  $N^t$ -metil-hisztamin képződését [30], azaz a HNMT L-arginin egysége részt vesz az enzimes metilezésben.

**c.** A mono-hidroximetil-L-arginin fiziológias körülmények mellett a tetrahydrofolátot (THF) endogén formaldehiden keresztül metilezi [150]. Feltételezhető, hogy a transzmetilezési körfolyamatban,  $N^s$ -metil-tetrahydrofolát ( $N^s$ -Me-THF; metil-donor) jelenlétében az L-homocisztein endogén formaldehiden keresztül enzimatikusan L-metioninná metileződik. Kísérletekkel igazolták, hogy az  $N^s$ -Me-THF-ből enzimreakcióban, ill. xenobiotikus reakcióban tetrahydro-izokinolin-gyűrű mellett formaldehid keletkezik [151].

**d.** A biológiai mintákból mért magas formaldehid szint egyaránt utalhat élénk metilezési, vagy demetilezési folyamatokra. Megkülönböztetésük érdekében növényi részekből (pl. levelekből) pufferált enzimkivonatot készítettek és ehhez szubsztrátumként ismert mennyiségű SAM-ot és L-metionint adagoltak. Követték a SAM és az L-metionin mennyiségi változásait. A SAM koncentrációjának csökkenése metilezési, az L-metioniné pedig demetilezési folyamatokra utalt [152].

## 2.1. Az endogén formaldehid előfordulása a biológiai rendszerekben

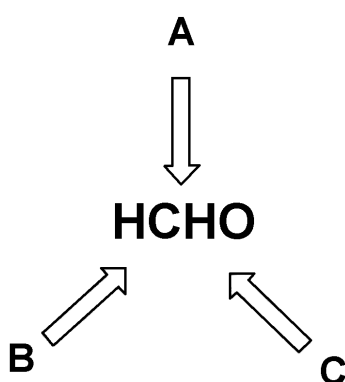
A formaldehid földi életünkben közönséges környezetszennyező anyagnak minősül, amely sok forgalmazott fogyasztási termékben, mint pl. a ruha anyagok, a bútorigipari áruk, fertőtlenítő szerek, stb. előfordul. Légszennyező komponensként jelenléte a dohányfüstben, a kipufogó gázokban, s általában ipari üzemek levegőjében kimutatható [153,154]. Az exogén eredetű formaldehid toxikus és karcinogén. Többek között a lélegző rendszeri rákos megbetegedéseket idéz elő. Megállapították [155], hogy a formaldehid inhalálásnak kitett patkányok orrában pikkelyes sejtkarcinóma indukálódott, melynek következtében kiterjedt kutatás indult a formaldehid és az általa okozott patológias elváltozások közötti kapcsolatok felderítésére. 1977-ben már kimutatták [156], hogy a leukociták tartalmaznak olyan enzimet, amely képes a metil-tetrahydrofolátot endogén formaldehiddé és tetrahydrofoláttá alakítani. A stressz-szindróma kifejlődésére ható korábbi megfigyelés szerint a dohánylevelekben mérhető endogén formaldehid mennyisége TMV vírusfertőzés hatására jelentősen megnő [26,157].



**9.ábra** Az endogén formaldehid mennyiségének változása három teljesen különböző biológiai mintában (**A** - disznómáj; **B**- ecetfalevél; **C** - *Uromyces phaseoli* spórák) [23]

Az 9. ábra jól szemlélteti az eltérő biológiai rendszer endogén formaldehid szintjének alakulását [23] a dimedon - mint formaldehid befogó dimedon molekula - mennyiségének függvényében [158]. A dimedon mindig feleslegben volt, s látható, hogy mennyiségének növelésével lépcsőzetesen emelkedik az endogén formaldehid mennyisége. Ebből következik, hogy a formaldehid főleg kötött formában van a biológiai rendszerekben jelen, még pedig különböző molekulákhoz (pl. glutaiion, L-arginin), különböző erősséggel kötötten. Mindez az adott rendszer jellemzésére is használható.

A 10. ábra azt a három fő forrást mutatja be, amely a biológiai rendszerekben mérhető formaldehid szintet szolgáltatja. E kétségtelenül bonyolult rendszer végtelen változatosság alapja lehet.

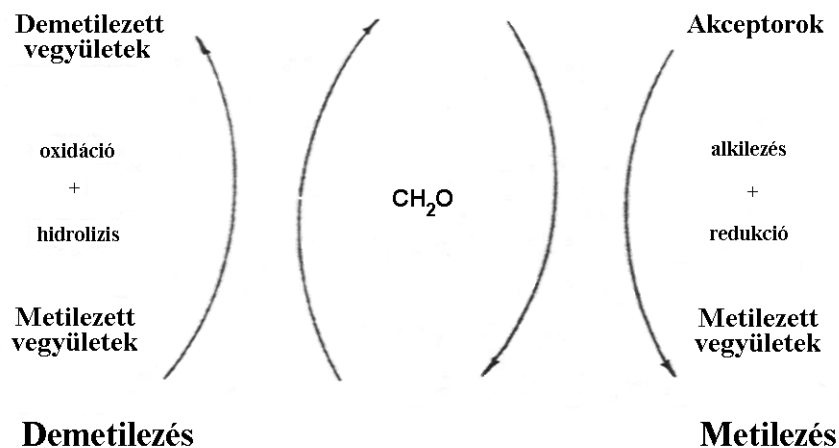


**10. ábra** A formaldehid eredete a biológiai rendszerekben. (**A**) - a formaldehid endogén

- képződése ellenőrzött körülmények között (pl. formaldehid ciklus);
- (**B**) - a formaldehid endogén képződése véletlenszerű indukciós hatásra (pl. demetilázok, peroxidázok, szemikarbazid szenzitív aminoszintetáz);
- (**C**) - a formaldehid exogén eredete (levegő, ivóvíz, élelmiszerek, stb.) [159]



Az mindenesetre már tény, hogy a formaldehid normális és nélkülözhetetlen összetevője valamennyi biológiai rendszernek, főleg hidroxil-metil-csoportok formájában. A fő formaldehid forrás azonban a biológiai metilezés-demetilezés komplex, dinamikus folyamata (11. ábra).

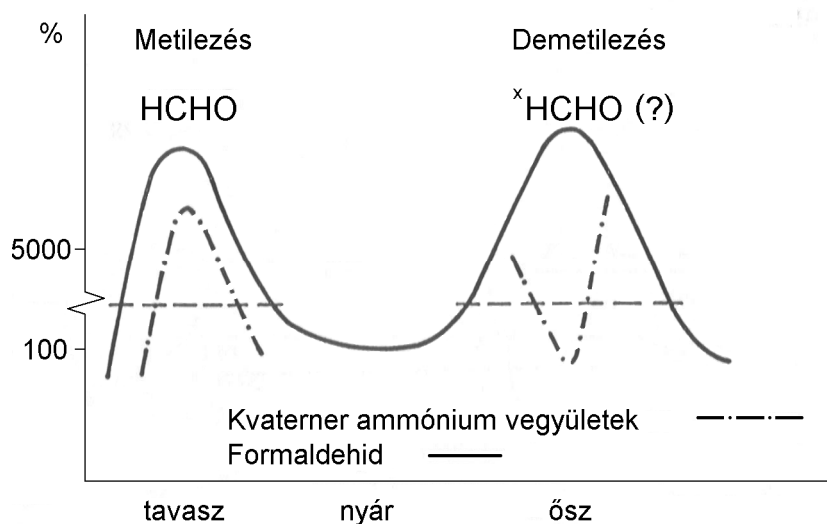


**11.ábra** Metilezési és demetilezési reakciókból származó endogén formaldehid [32]

Feltehetőleg gyors formaldehid utak sokasága létezik különböző szövetekben, hidroxil-metil-csoportokon át kötődve akceptor molekulához. Azok a mechanizmusok azonban gyakorlatilag ismeretlenek, amelyek metilezési és demetilezési folyamatokat szabályozzák. További kérdés az is, hogy vajon enzimatikus metilezési változások okai vagy következményei sejtátalakulásának [160]. Nyilvánvaló ma már, hogy különböző metilezett vegyületek potenciális formaldehid generátorok, de a metilezés mértéke és sebessége az enzimkinetikai paraméterek mellett nagy részt akceptor függő. Minadazon által az a felismerés, hogy a különböző vegyületek enzimatikus metilezése formaldehiden keresztül megy végbe [30] új horizont és lehetőségeket nyit a stressz-kutatásban és más normális és abnormális élő folyamatok megismerésében egyaránt. Ezzel a kör be is zárult egy endogén formaldehid ciklusban [21,23], mint hogy metilezési és demetilezési folyamatok mindig formaldehidet generálnak eredetileg kontrollált körülmények között [23,148]. Lévén 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 formaldehid tartalom növekedése a metil-csoportok transzferének fokozódását jelzi, csökkenése a kötött formaldehid metil-csoportok formájában történő "konzerválását" tükrözi vissza.

## 2.2. Az endogén formaldehid változása a vegetációs időszakban

Annak ellenére, hogy a növények formaldehid ciklusával ill. endogén formaldehid és generátoraik tartalmával kapcsolatos kutatások elsősorban a környezeti tényezők hatásának vizsgálatával foglalkoznak, az egyedfejlődés során tapasztalt determinisztikus változások - az endogén formaldehid ciklus kutatás és a teória kidolgozása szempontjából - alapvető fontosságúnak bizonyultak. A 12. ábra 31 különböző fafaj leveleiben a jellemző vegetációs időszakokban mért endogén formaldehid tartalmakat és generátorainak mennyiségét sematikusán mutatja be. Az endogén formaldehid szint tavasszal és ősszel nagyon magas. A formaldehid generátor betainok (kvaterner ammónium vegyületek) mennyisége tavasszal magas, s ősszel alacsony. Tavasszal a megemelt endogén formaldehid szint elsősorban betainokat képező akceptorok metilezését biztosítja., amíg ősszel a betainok fokozódó demetileződése indukálja az az endogén formaldehid megismétlődő emelkedését [131]. Feltételezések szerint a magas őszi endogén formaldehid tartalmat döntően un. nevezett gerjesztett formaldehid ( $^x\text{HCHO}$ ) teszi ki, ami a lomb hullást, a levélsejtek apoptózisát előidézi.



**12. ábra** Fafajok endogén formaldehid tartalmának és potenciális generátorainak változása a vegetációs időszakban [131]

### 3. Növényi stressz

A demetilezés és metilezés folyamatai az egyedfejlődés során eltérő sebességekkel mehetnek végbe. Ennek következményeként a biológiai rendszerek endogén formaldehid tartalma a fejlődési állapottól függően kisebb vagy nagyobb lehet.

Adott fejlődési állapotra vonatkozóan, az ökológiai paramétertéren, "niche"-en belül a paraméterek (pl. fényintenzitás, hő, légnedvesség, talaj makro- és mikroelem tartalma, stb.) napi és heti változásai a növények fiziológias állapotváltozását idézik. A növények egy adott optimális fiziológias állapotból a megváltozott körülményeknek megfelelő új optimum elérésére törekednek, adaptáción keresztül a stressz kialakulását legtöbbször kikerülik elő [161-163].

A növények környezeti hatásokat és a stresszt kezelő mechanizmusai három különböző tünetegyüttes valamelyikének megjelenésén keresztül nyilvánulnak meg: (a.) nagy, (b.) alacsony fényintenzitás típusú növekedés ill. (c.) adaptáció [164]. A három szindróma az endogén formaldehid tartalom determinisztikus változását is előidézi.

A növényi stresszelmélet úgy különbözteti meg a fiziológias állapotváltozástól a stresszt, hogy csak azokat a környezeti hatásokra kialakult állapotokat tekinti stressznek, amelyek átmenetileg csökkentik az anyagcsere-folyamatok sebességét ill. a növények növekedését.

A stresszt, "az élő anyag nem specifikus izgalmi állapotát" [165] három szindróma fázis alkotja [166, 167], amelyeket *Lichtenthaler* kiegészített egy negyedikkel (1. ábra). A négy fázissal leírt stresszesemények tárgyalásánál elméleti megfontolásból abból indulnak ki, hogy a stressz kialakulását megelőzően a növények ökológiai "niche"-ükön belül optimális fiziológias állapotúak. Az egyedi stressztényezők ill. szinergiáik ebből az optimális állapotból kilendítik és stressz szindrómára kényszerítik a növényeket [168].



13. ábra A stressz szindróma fázisai [169]

#### 1. Alarm reakció

A stressz ezzel az akut fázissal kezdődik, melyben az életképesség jelentősen csökken. A katabolikus folyamatok háttérbe szorulnak és az anabolizmus válik jellemzővé. Az általános ellenállóképeség az átlagos szint alá esik.

## 2. Rezisztencia tartomány

Adaptációs folyamatokon keresztül a stressztényezők okozta hatások kompenzálódnak, az ellenállóképesség az átlagos szint fölé emelkedik.

## 3. Kimerülési szakasz

Megszűnik az adaptáció fenntartása, az ellenállóképesség ismét az átlagos érték alá esik. Krónikus elváltozások jelennek meg, amelyeket a szövetek ill. a növény pusztulása követ.

## 4. Regenerálódási tartomány

A stressztényezők kiküszöbölése ill. a hatást kiváltó okok megszűnése utáni szakasz, amelyben részlegesen vagy teljesen visszaáll a fiziológiás állapot.

Az 13. ábrán bemutatott stresszt számos tényező előidézheti. Aszerint, hogy az "ökológiai niche" részét képezik-e vagy attól függetlenek természetes vagy antropogén tényezőkként csoportosítják őket. Szokás közöttük különbséget tenni biotikus és abiotikus jellegük szerint is.

## 2. táblázat Stressztényezők csoportosítása [169]

Természetes stressztényezők	Antropogén stressztényezők
<ul style="list-style-type: none"> <li>- fényintenzitás</li> <li>- hő</li> <li>- alacsony hőmérséklet</li> <li>- hirtelen vagy késői fagy</li> <li>- vízhiány</li> <li>- esős időszak</li> <li>- vírus, gomba, baktérium</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- növényvédőszer</li> <li>- légszennyező komponensek</li> <li>- ózon és fotokémiai szmog</li> <li>- reaktív oxigén tartalmú gyökök, ionok, vegyületek (<math>^1\text{O}_2</math>, <math>\bullet\text{O}_2</math>, <math>\bullet\text{OH}</math>, <math>\text{H}_2\text{O}_2</math>, stb.)</li> <li>- fotooxidánsok</li> <li>- savas eső, savas köd, reggeli harmat</li> <li>- víz és talaj pH</li> <li>- makro- és mikroelemtartalom hiány</li> <li>- túlzott nitrogén ellátottság</li> <li>- UV-sugárzás</li> <li>- megemelt <math>\text{CO}_2</math> szint, globális klímaváltozás</li> </ul>

Az 2. táblázatból is szembetűnő, hogy a bioszféra alkotó elemei és fiziko-kémiai jellemzői valamint a bioszférába jutó anyagok egyaránt stressztényezőként szerepelhetnek. Stresszt okozó hatásuk döntően nem a jellegükből, hanem intenzitásuk változásából és annak időtartamától, kölcsönös szinergiáik mértékéből és a hatást szenvedő növény fajtájától függ. Az említett feltételek részleges vagy azonos idejű teljesülése alapján, tulajdonképpen bármelyik környezeti tényező okozhat növényi stresszt.

A hatás időtartama és a tényezők intenzitás változásának mértéke szerint megkülönböztetnek rövid és hosszú időtartamú valamint enyhe (*eu-stressz*) ill. drasztikus (*dis-stressz*) stressz eseményeket [168]. A legtöbb *eu-stressz* kedvező a növények számára, mert serkenti az anyagcsere folyamatokat, s a növény gyorsabb növekedését idézi elő. Az *eu-stressz* és a *dis-stressz* között a különbség a rezisztencia tartomány kiterjedésében van. A *dis-stressz* alarm reakcióját viszonylag gyors lefutású rezisztencia választja el a kimerüléstől.

### 3.1. A rezisztencia aktíválása

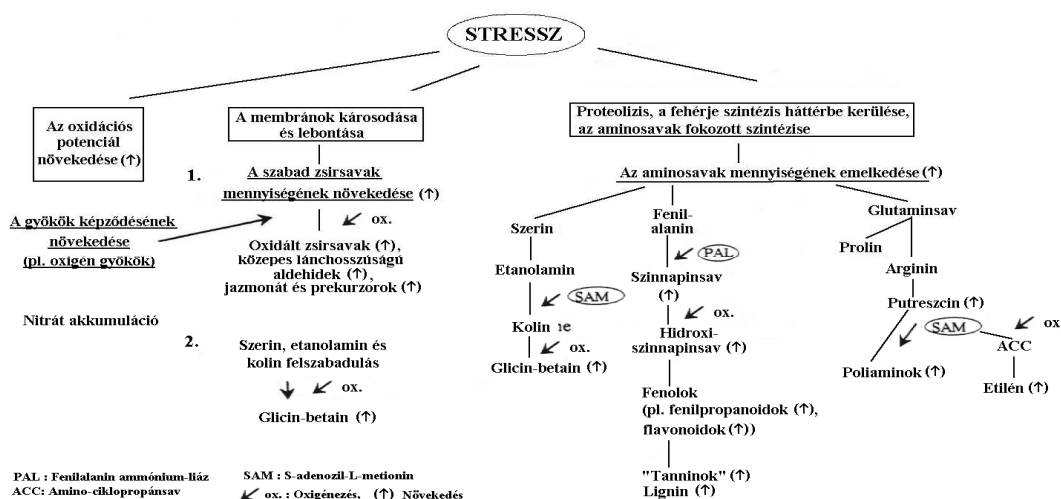
A stressz morfológiai, fiziológiai és biokémiai változásokat idéz elő a növényekben. A rezisztencia fázisban módosuló anyagcsere pótlólagos energiát és asszimilációt igényel [164, 170-173]. A szindróma rövid időtartamú válaszreakcióit a stressztényezők típusától függetlenül a következő módon lehet összegezni:

1. Fiziológiailag aktív növényi szövetekben a stresszt okozó tényezők gerjesztik a gyökök, különösen a reaktív oxigén gyökök keletkezését [174-176]. A gyökök mennyiségének felszaporodása a növényekben a redukciós potenciál növekedését indukálja. A rezisztens növények az oxidációs stresszre pl. a megnövelt szuperoxid dimutáz, peroxidáz és kataláz enzim aktivitással és a gyökfogó vegyületek intenzívebb szintézisével válaszolnak [177-182].

2. A kompenzálatlan oxidatív stressz a következőket vonja maga után:

- a biomembránok szerkezetének és permeabilitásának változását,
- a membrán lipidek lipolízisét követően a szabad zsírsavak és alkanol-aminok (etanol-amin, kolin) mennyiségének emelkedését,
- a szabad „oxigénezett” zsírsavak (oxidált és hidrolizált zsírsavak, jazmonát) keletkezését,
- a fenolos anyagok oxidatív polimerizációját és fenolok és egyéb oxidált anyagok polimerjeinek keletkezését ill. ezekkel kapcsolatos pótlólagos stressz reakciókat,
- a fehérje szintézis sebességének csökkenését ill. a proteolitikus folyamatok előtérbe kerülését. A nem fehérje alkotó aminosavak, amidok, mono-di- és poliamidok, valamint az alkaloidák mennyiségének növekedését,
- a nitrát-reduktáz aktivitás csökkenését és a N-fixálás rendellenességeit,
- a metilezési folyamatok megváltozását, amelyeket az aminosavak és az aminok N-metilezésének intenzitás növekedése vagy az etilen szintézis serkentése követ [170, 171, 183-189].

A stressz által indukált, feltérképezett folyamatokat a 14. ábra összesíti.



14. ábra Növényi stressz anyagcsere-folyamatok [190]

### 3.2. Metilezési és demetilezési folyamatok stressz érzékeny jellemzői

Bár sok esetben a metilezési és demetilezési reakciók összes molekuláris résztvevője és az átalakulások mélyreható funkcionális értelmezése nem teljesen ismert, ill. tisztázott, az endogén formaldehid és generátorainak minőségi és mennyiségi változásai **bizonyítottan korrelálnak** különböző fiziológiai eseményekkel és környezeti hatásokkal, így azok adekvát jelzőmolekuláinak tekinthetők.

Vírusfertőzött dohánylevelek (*Nicotiana tabacum* cv. *Xanthi nc*) nyers kivonatához jelzett szénatomot tartalmazó L-metionint adagolva élénk demetilezési folyamatok eredményeként a demetiláz aktivitás és az endogén formaldehid tartalom növekedését mérték [157].

Bablevekben (*Phaseolus vulgaris*) tanulmányozva az endogén formaldehid tartalom változásait megállapították, hogy azok korrelálnak a külső hőmérséklet változásával. Jelentős változást tapasztaltak a trigonellin, kis mértékűt a kolin és a trimetil-lizin formaldehid generátorok koncentrációjában [191].

A demetiláz enzim aktivitásának növekedését tapasztalták magas hőmérsékleteken (*abiotikus stressz*) és vírusfertőzés esetében (*biotikus stressz*) [157, 191].

*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*-mal fertőzött dinnyével (*Citrullus vulgaris* L.) végzett kísérletekben a biológiai rendszerre jellemző kvaternér ammóniumvegyületeket mutattak ki [192].

*Datura innoxia* Mill. kallusz kultúrák endogén formaldehid képző potenciálja dimedonos kezelés hatására jelentékeny változást mutat [193].

Szárazság, Cd-szennyezés és egyéb környezeti tényezők hatására a stressz indikátorok mérőszámainak növekedését az etanolaminnal és/vagy kolinnal történő előkezelés kompenzálja [190].

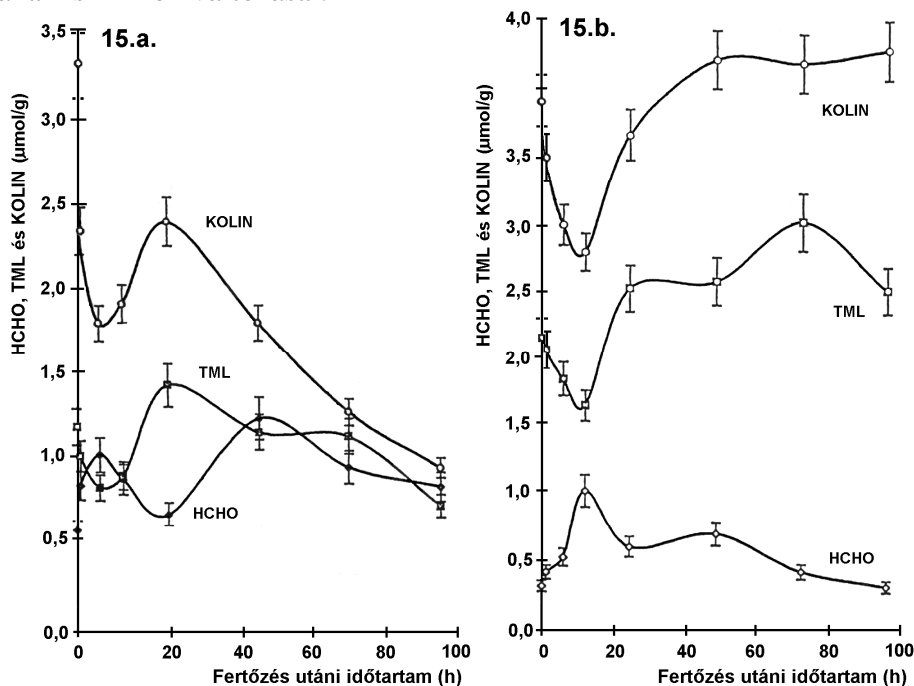
D,L-karnitinnel és trimetil-lizinnel (TML) történő vegyszeres kezelés a babnövény *Uromices phaseoli* kórokozójával szembeni ellenállóképességet fokozza [126,148].

#### 3.2.1. Biotikus stressz

A vizsgált növényfajok különböző biotikus stressztényezők által kiváltott válaszreakciói tendenciájukban megegyeznek. A stressz alarm reakciójában a sejtosztódás fokozásáért felelős metil-donorok (pl. kolin, trimetil-lizin) és a metil-akceptorok (pl. nikotinsav) mennyisége csökken. Az akceptorok mennyiségi csökkenése metilezett származékaik koncentráció növekedésén keresztül érzékelhető. Pl. a kolin és a trimetil-lizin (TML) koncentráció csökkenését általában a trigonellin (*N*-metil-nikotinsav) koncentráció növekedése kíséri. A kolin és a TML csökkenése mindig a formaldehid (HCHO) tartalom növekedésével egyidejűleg valósul meg, sőt a formaldehid tartalom stressz-szindrómabeli helyi szélsőértékei (maximumok, minimumok) egybeesnek a kolin és a TML maximumaival és minimumaival. Az endogén formaldehid tartalom és az *N*-metilezett vegyületek szélsőértékei közötti fáziseltérés hiánya alátámasztja azt a tapasztalatot, hogy az alarm reakcióban

bekövetkező HCHO tartalom növekedés a kolint és a TML-t demetilező enzimek megemelt aktivitásának az eredménye [192].

*Fusarium*-mal fertőzött, fertőzésre érzékeny (*Sugar Baby*) ill. fertőzéssel szemben ellenálló görögdinnye (*Charleston*) változatok kolin, TML és HCHO tartalmának változásai láthatók a 15.a. és a 15.b. ábrákon [192]. Mindkét ábrán nyomon követhető a gyökérszövetek kolin és TML mennyiségének, ill. HCHO tartalmának szinkron változásai.



**15.ábra** *Fusarium* hatása a fertőzésre érzékeny (*Sugar Baby*; 15.a. ábra) és a fertőzéssel szemben ellenálló (*Charleston*; 15.b. ábra) görögdinnye változatokra [192]

A fertőzés előtt a dinnye változatok közel azonos formaldehid tartalommal rendelkeznek. A fertőzésre kevésbé érzékeny növényt magasabb kolin és TML szint jellemzi. Fertőzés hatására mindkét esetben az endogén formaldehid kb.  $1 \mu\text{mol/g}$  értékre emelkedik, ezzel egyidejűleg a kolin és a TML szint csökken. A gomba inváziót követő tizenötödik-húszadik percben a HCHO szintje csökken ill. az *N*-metilezett vegyületek emelkedik. Ezek a mérési eredmények közvetetten a metiltranszferáz enzimek aktivitásainak változását jelzik. A kezdeti intenzív demetiláz aktivitás visszaszorul a metiláz aktivitáshoz képest: lizinből és etanol-aminből, továbbá részlegesen metilezett származékaikból TML és kolin keletkezik. Ezt követően, az érzékenyebb változatnál egy második, intenzívebb HCHO tartalom növekedés tapasztalható.

A HCHO tartalom *versus* stresszhatás- időtartam görbe helyi maximumai és a közöttük lévő helyi minimum a fertőzés okozta demetiláz-metiláz enzimek eredő aktivitás változásait tükrözik vissza. **A demetilázok metilázokhoz viszonyított aktivitás változása a HCHO szint periódikus kitérését idézi elő, vagyis az alarm reakciót követő adaptációs "útkeresés" összillációt indukál.** Megfigyelhető az alarm reakció fázisában, hogy nem csak a helyi szélsőértékek, hanem a görbék inflexiós pontjai is egybeesnek. Az inflexiós pontok egyidejűsége az adaptációban megszűnik. Az alarm fázisbeli görbe jellemzők összhangja feltehetőleg azzal magyarázható, hogy a stressz elején nem csak a vizsgált, hanem a folyamatban résztvevő,

egyéb donorok demetilézése is egyidejűleg következik be. A HCHO tartalom minimuma után az inflexiós pontok eltérő idejű jelentkezése, valamint csak a TML görbéken lévő helyi maximumok előfordulása ugyancsak a folyamatban szerepet játszó (de nem vizsgált) donorok demetilézését ill. metilezésben való keletkezését jelzi.

A fertőzés kiteljesedése a *Sugar Baby* változatnál csökkenő, a *Charleston*-nál növekvő *N*-metil-donor szintet okoz. A *Charleston* a megemelt kolin és TML szinteken keresztül is rezisztensebb. Bár a két változat közötti ellenállóképesség eltérést e vegyületek mennyiségei és a mennyiségi változásaik irányai egyértelműen jelzik, hangsúlyozni kell, hogy a kolin TML-hez viszonyított mennyisége az ellenállóképességtől függetlenül, mindkét esetben, először csökken, majd egy minimumot követő maximum után ismét csökken, végül emelkedni kezd.

### 3.2.2. Abiotikus stressz

Az abiotikus stressztényezők a biotikus hatásokhoz hasonló módon, nem specifikus stressz szindrómát váltanak ki. Közös sajátágként esetükben is bekövetkezik a sejt-funkciók aktivitás csökkenése, a növényi szövetek növekedési üteme jelentősen lassul. Fényintenzitás változás, vegyszeres kezelés, hőmérséklet emelkedés ill. csökkenés és a szárazság közel azonos tüneteket idéznek elő az endogén formaldehid és a metilezett vegyületek szintjeiben.

Németország különböző klímájú és talajtípusú területein vizsgálták az etanolamin (metil-akceptor) és a kolin (metilezett termék) hatását az árpa, búza és burgonya terméshozamára. Az említett feltételek és kezelések mellett a hozam a stressz mértékétől függően 5% - 20%-al növekedett [194, 195]. A kolin és az etanolamin egymással megegyező mértékű rezisztenciát idézett elő. Megállapították, hogy az első és másodrendű tőhajtásoknak "megemelt" növényi életképessége képezi a kedvezőtlen körülmények mellett, metil-akceptor és donor amino-alkoholokkal végzett kezelések terméshozam javító hatásának az alapját [196, 197]. Az etanolamin alkalmazás hatása a burgonya terméshozamára megegyezett a megfelelő vízellátást biztosító öntözés hatásával. Paradicsommal végzett kísérletekben kimutatták, hogy az etanol-amin és a kolin serkenti a gyökér növekedését [190]. Tapasztalták, hogy az amino-alkoholokkal végzett kezelés csökkenti a tilalkolid membrán foto-oxidatív károsodásának mértékét [187]. Az etanol-amin növeli a fotooxidatív károsodás elleni membrán védekezés potenciálját [190]. Az etanol-amin és a kolin hatására fiziológias állapotot nem jellemző fehérjék szintetizálódnak (25-30 kD; *Pennisetum americanum*). Vízhányos köles esetében azonos molekulatömegű fehérjéket izoláltak és azonosítottak a gyökér extraktumokból is [198].

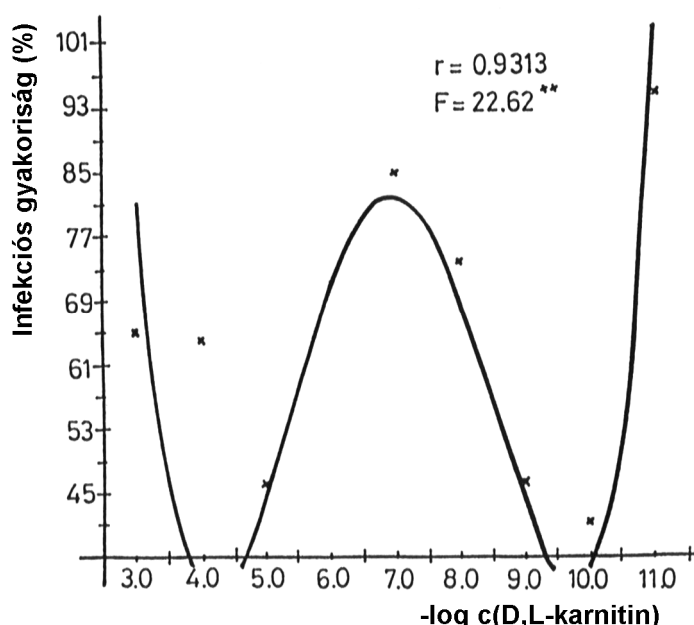
A stresszorok a peroxidáz aktivitást növelik, a kolin viszont csökkenti. Másrészt a kolin csökkenti a 45 kD stresszfehérjék mennyiségét [181]. Az etanol-ammal kezelt paradicsom C-vitamin tartalmának emelkedése összhangban van azzal a hipotézissel, hogy a növényekben az oxidációs potenciál csökkenését az aminok elősegítik [190]. A trimetil-glicin intenzívebben szintetizálódik a szárazság és egyéb stresszorok hatásának kitett növényekben [186]. A kedvezőtlen körülmények, a szabad szerin, etanol-amin és kolin fokozott képződése teremti meg a betain szintézisének feltételeit [171]. Az exogén kolin jelentősen csökkenti a stressz által megnövelt betain tartalmat. Következésképpen az exogén kolin meggátolja a stresszt jellemző intenzív szerin és a betaint képző közti- termékek szintézisét [190]. A poliamin spermin és a trigonellin,



valamint a nitrát-stressz által kiváltott növényi tömegnövekedést is csökkenti az etanol-aminnal vagy kolinnal történő előkezelés [171, 199].

A "Kék-Duna" mák genotípus szemeinek trimetil-lizin hidroklorid (TML-HCl) jelenlétében történő csíráztatásakor a TML serkenti a sejtosztódást. A különböző koncentrációjú kezelések közül az optimális növekedés kb. 10 ppm TML koncentrációnál jelentkezik. Hasonló eredményeket kaptak más növényi fajok (búza, árpa, bab, kender és len) esetében is [126].

A babnövény TML-el és D,L-karnitinnel történő kezelése az *Uromices phaseoli* kórokozóval szemben rezisztenciát indukál [126,148]. A viszonylag hosszú időtartamú indukciós fázis (6 nap) két dóziszfüggő rezisztencia tartományt ( $10^{-3}$ - $10^{-5}$  és  $10^{-9}$ - $10^{-10}$  M) eredményez (16. ábra). Feltehetően a nagy ill. kicsi koncentrációjú metilezett termékek által kiváltott kettős immunválasz a farmakológiai ill. fiziológiai indukált rezisztenciáknak a következményei.



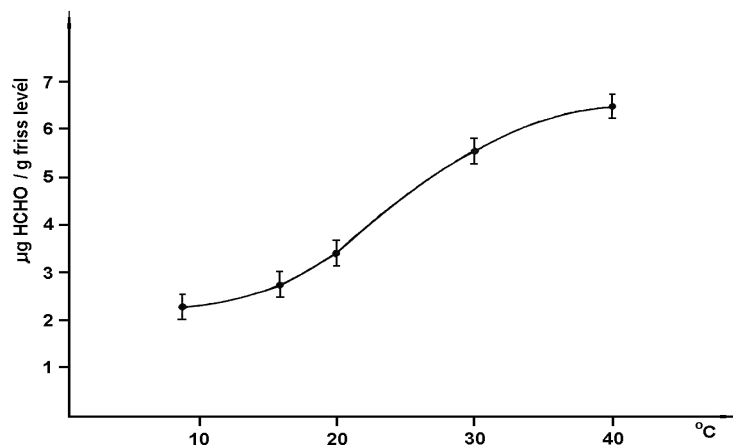
**16. ábra** A D,L-karnitin hatása a babnövény (Saxa) az *Uromices phaseoli* gombaferőtőzéssel szembeni ellenállóképességére [148]

Állandó programú megvilágítás mellett ill. sötétben a *Datura innoxia* Mill. szárból származó szövettenyészetek növekedési ütemében és formaldehid tartalmában eltérés mutatkozott. A kallusz kultúrák tömegnövekedését mindkét esetben az endogén formaldehid tartalom csökkenése kísérte, de a fotoszintézis kizárásakor a formaldehid-szint süllyedése intenzívebb. A sötétben és fényen nevelt tenyészetek endogén formaldehid tartalma dimedon (mint formaldehid megkötő stressztényező) hatására ellentétes irányban változott. Négy héten keresztül, a fényen tartott kultúrák formaldehid tartalma megemelkedett, a sötétben nevelteké csökkent [193].

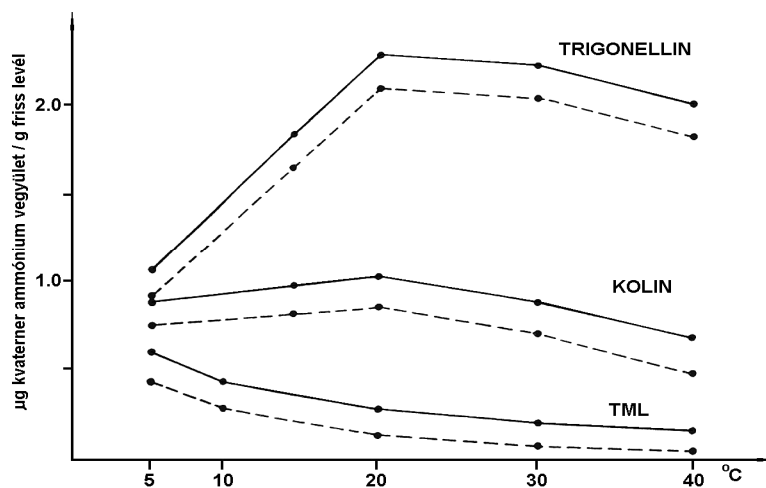
A dimedon formaldehiddel képzett származéka, a formaldemeton tenyészetből történő extrahálása és nagyteljesítményű folyadékkromatográfiás elválasztása alapján meghatározhatóvá vált az a formaldehid tartalom is, amelyet a dimedon *in vivo* a szövetekből kivont. Ezekkel a mennyiségekkel korrigálva az *in vitro* meghatározott tartalmakat, megállapították, hogy a dimedon és a fotoszintézis együtthatása megemeli, míg a dimedon és a légzés csökkenti az endogén formaldehid képző potenciált.

A két ellentétes hatás dimedonnal való szinergiája közel azonos mértékű (kb. 20-25 %) formaldehidszint változást idéz elő.

Különböző környezeti hőhatásnak kitett babnövény levelek jelentékeny endogén formaldehid és *N*-metilezett aminosav tartalom eltéréseket mutatnak [191]. A három órás időtartamú, 10 és 40 °C hőmérsékletek közötti tárolás szigmoidálisan emelte a HCHO tartalmat. A görbén 20 és 30 °C között található inflexiós pont a levelek fiziológiás optimumának megfelelően, kiegyensúlyozott demetilezési és metilezési folyamatokat jelez, amelyhez képest a hőmérséklet csökkenése inkább a metilezést, emelkedése pedig a demetilezést fokozza.



**17.a. ábra** Hőmérséklet változás hatása a babnövény (*Phaseolus vulgaris*) leveleinek endogén formaldehid tartalmára [191]



**17.b. ábra** Hőmérséklet változás hatása a babnövény (*Phaseolus vulgaris*) leveleinek *N*-metil-donorainak tartalmára. (folytonos vonal: inkubálás vízben; szaggatott vonal: inkubálás dimedon oldatban) [191]

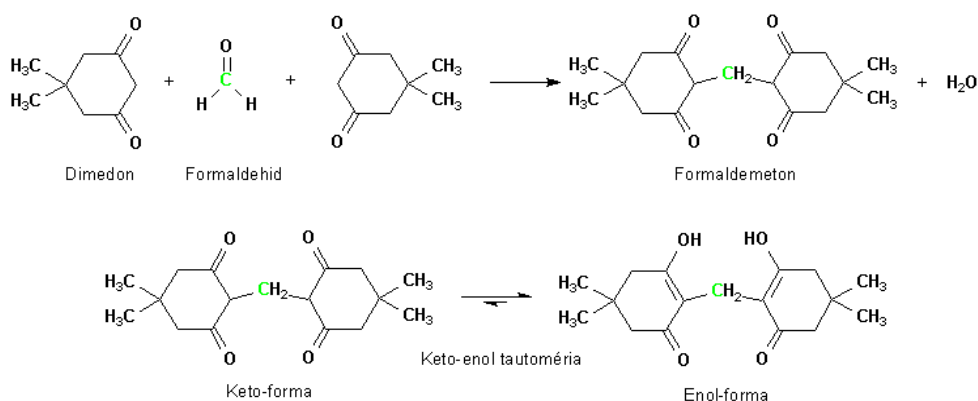
A 5 °C-on való tárolásra a levelek kb. változatlan kolin tartalom mellett a TML metilezésével és a trigonellin demetilezésével is válaszolnak. A 40 °C-on a kolin és a TML tartalmak majdnem változatlan trigonellin szint mellett csökkennek.

#### 4. Kísérlettervezés és módszerfejlesztés

Magyarország erdeinek 33.3 %-át tölgyerdők alkotják. A tölgyesekben a csertölgy (*Quercus cerris* L.) részaránya 35.6 % [200]. A legtöbb tölgy faj 2-5 évenként hoz termést, így az erdőgazdálkodásban fontos feladat a makk vegetációs időszakokon átnyúló, minél kisebb mértékű csírázási minőségromlás melletti tárolása. Csíráztatási kísérletekkel nyomon követtük az erdészeti gyakorlatban alkalmazott tárolási körülmények csíra- ill. életképességre gyakorolt hatását. A folyamatos vizsgálatok végzéséhez a csert választottuk, mint rendszeresen termő fajtát, ami ezáltal biztosította az azonos származási körzetből, termőhelyről (Kisalföldi Erdészeti RT., Vitnyéd, 1994-2000.) gyűjtött makk vizsgálatát. Csíráztatási kísérleteinkben modelleztük a tárolt makkot érő főbb környezeti hatásokat (fagy, kiszáradás, stb.). Feltérképeztük a csírázás és a csemetenevelés fiziológiai állapotváltozásait. Az ontogenezis fiziológiai és stressz hatására indukált állapotváltozásait az endogén formaldehidtartalommal és generátoraival, valamint velük áttételesen kapcsolatba hozható fizikai és biokémiai paraméterekkel (relatív tömeg- és sűrűségváltozás ill. kataláz aktivitás) jellemeztük. Az endogén formaldehidtartalom és a generátorok vizsgálatára a helyi sajátosságoknak megfelelő kémiai analitikai eljárásokat dolgoztunk ki ill., alkalmaztunk.

##### 4.1. A formaldemeton szelektív kromatográfiás elválasztása

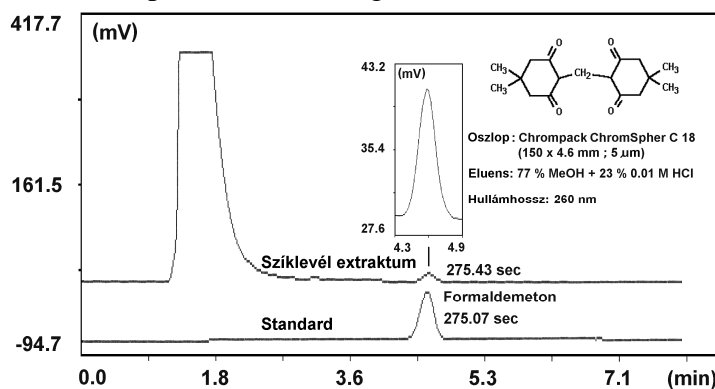
Az endogén formaldehidtartalom meghatározásához a dimedon (5,5-dimetilciklo-hexán-1,3-dion) formaldehid generátorokkal végbemenő reakcióját alkalmaztuk. A dimedon a generátorokkal - a formaldehiddel *in vitro* lejátszódó reakciójában is keletkező - addukt származékot, formaldemetont (1,1',3,3'-tetraketo-5,5',5'-tetrametil-2,2'-diciklo-hexil-metán)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



A formaldemeton analízisre a szakirodalmak kolorimetriás [201], gázkromatográfiás [202], GC-MS spektrometriás [203], nagy nyomású folyadékkromatográfiás (HPLC) [31, 204], vékonyréteg kromatográfiás [205] és túlnyomásos réteggromatográfiás (OPTLC) [206, 207] módszereket közölnek. Az endogén formaldehidtartalom kimutatására a HPLC [31] és az OPTLC [206] elválasztásokat alkalmazzák a leggyakrabban. Az endogén formaldehidtartalommal arányos formaldemeton analízisére a fordított fázisú nagy nyomású folyadékkromatográfiát (RP-HPLC) alkalmaztuk. A választott analitikai technikára új, formaldemeton

szelektív elválasztást dolgoztunk ki [207]. A kromatográfias módszerfejlesztést a csíráztatási kísérlet jellege tette szükségessé. Ugyanis a csertölgy onto- és morfogenezisében a fiziológias és stressz indukciós állapotokat ill. a különböző növényi szöveteket (gyökér, szár, levél, stb.) minőségileg eltérő, poláros oldószerekkel kioldható extrakt anyagösszetétel jellemezheti ill., jellemzi. (pl. levél extraktumoknak magas a klorofill tartalma, a sziklevek és a gyökérszövetek klorofilokat alig vagy egyáltalán nem tartalmaznak. A makk szikleveleinek magas szénhidrát tartalmához képest a levélszöveteké elenyésző.) Az egyedfejlődési szakaszokat és a stressz-szindróma fázisokat jellemző növényi részekből készített dimedonos minták mátrixhatása egymástól gyökeresen eltérő. A szelektív kromatográfias eluens (mozgó fázis) összetétel optimalálásának célja a mátrixanyagok minőségétől független, csúcsátfedéstől mentes elválasztás kidolgozása volt.

Apoláros állófázisú (Chrompack ChromSpher C18; 5  $\mu\text{m}$  150 x  $\varnothing$ 4.6 mm; Bergen op Zoom, Hollandia; fordított fázisú állófázis) elválasztáshoz a *Synder-féle* szelektivitási háromszög [208] és a formaldemeton fizikai-kémiai sajátságai alapján víz-metanol főkomponensű mozgófázist választottunk. A mozgófázis pH-ját, tekintettel a formaldemeton gyenge savi karakterére 2-4 közötti értékekre állítottuk. A víz tartalmú és alacsony pH-jú eluensre vonatkozóan, a gyenge savak elválasztására kidolgozott optimalási eljárással [209, 210] és az optimalási célra módosított PRIMA (Pattern Recognition by Independent Multicategory Analysis) módszerrel [211, 212] sikerült egy olyan szelektív elválasztást kifejleszteni, amelyben jelentős retencióval csak a formaldemeton rendelkezik, s a detektálás hullámhosszán (260 nm) érzékelhető mátrix komponensek a kromatogramban a holt térfogathoz közel eluálódnak. Az optimalás paraméterterében, 1 ml/min áramlási sebességnél az optimum 77 % metanol - 23 % 0.01 M HCl oldat (pH=2.6-2.7) mozgó fázis összetételnek adódott.



**18. ábra** A csermakk endogén formaldehidtartalmának (formaldemeton) RP-HPLC elválasztása

Az endogén formaldehidtartalom meghatározására kidolgozott RP-HPLC elválasztásokat egy gradiens pumpából (Gynkotec M 480, Germering, Németország; Rheodyne 8125 injektor + 20  $\mu\text{l}$  mintabemérő hurok, Kalifornia, USA) és egy UV-detektorból (TOSOH TSK 6040, Kyoto, Japán) álló folyadékkromatográfjal hajtottuk végre. A kromatogramok felvétele konverteren (2102 ADDA konverter, Elektroflex GM, Szeged) keresztül személyi számítógéppel történt. A kromatográfias jelfeldolgozás és értékelést saját tervezésű és kivitelezésű kromatográfias szoftverrel [210] hajtottuk végre.

A 18. ábrán a csermakk dimedonos extraktumára bemutatott elválasztás egyéb növényi [213, 214], állati [215, 216] és humán szövetek [217] endogén formaldehidtartalmának meghatározására is alkalmasnak bizonyult.

## 4.2. Mintaelőkészítés és mintatárolás

A biológiai minták endogén formaldehidtartalmának meghatározására alkalmazott minta-előkészítések nagy részénél 0.25 g mennyiségeket 0.7-1 ml dimedon tartalmú metanollal extrahálják. A metanosos dimedon oldat koncentrációja általában 0.01 - 0.1 %. Az endogén formaldehiddel formaldemetont képző extrakciónál oldószerként víz helyett azért alkalmaznak metanolt, mert a formaldemeton vízben rosszul, metanolban jól oldódik. Metanosos extrakció esetén a keletkező formaldemeton oldatban marad. Az extraháló szer dimedon tartalmát a várható endogén formaldehidtartalom határozza meg. 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 formaldemetont. A kis mértékű 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.) A csermakk és a csíranövények szöveteire kapott előzetes, endogén formaldehidtartalmat megállapító vizsgálataink alapján a csíráztatási kísérletekben várható endogén formaldehid mennyisége: 0.2 - 0.8 mg HCHO/100 g (6.68 - 26.72  $\mu$ mol HCHO/100 g). Átlagos endogén formaldehidtartalomra (0.5 mg HCHO/100 g) tervezve a minta-előkészítést, az ismertetett szempontok alapján 0.25 g tömegű csíranövény mintákat 0.7-0.7 ml térfogatú, 0.01 % dimedonos metanol oldatokkal extraháltuk.

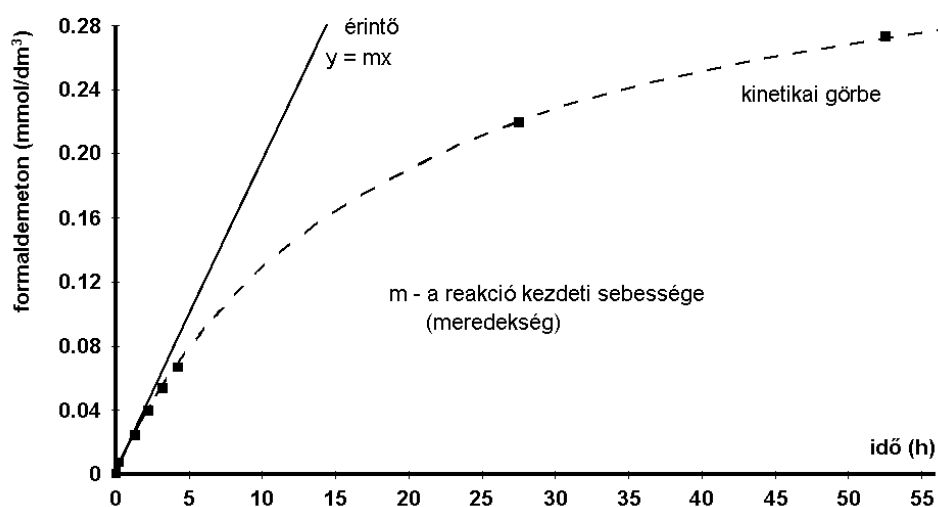
A szakirodalmakban közölt endogén formaldehidtartalom vizsgálatok mintatárolási ideje széles tatományt ölel át. Biológiai minták típusától függően néhány órától több napig tartó extrakciókat egyaránt alkalmaznak. A makk nedvesség tartalma módosítja az extraktum összetételét, így a reakció kb. 70 - 90 %-os metanolban zajlik. Közleményeikben a szerzők az extraktum pH-ját nagyon ritkán tüntetik fel, holott feltételezhető, hogy a tautomériára képes dimedon reakció képességét a pH is jelentősen befolyásolja.

Az eltérő reakció paraméterek megnehezítik a különböző kutatók által kapott, széles koncentráció tartományban szóródó (0.1 - 30 mg HCHO/100 g) endogén formaldehid tartalmak összehasonlítását. Megjegyezzük, hogy azonos kutató csoportok következetesen ugyanazon reakció paraméterek között végzik a kondenzációt, így saját eredményeik alkalmasak fontos következtetések levonására.

A koncentráció tartományok meghatározása mellett a reakció teljes lejátszódásához szükséges időtartam, a tárolási idő is a mintakészítés fontos paramétere. A mintatárolás elégséges idejű tartamának meghatározásához reakciókinetikai kísérleteket végeztünk. Alapreakcióként a formaldehid és a dimedon közötti kondenzációt választottuk. Kísérleteinkben a biológiai mintákból történő endogén formaldehid meghatározás körülményeit próbáltuk modellezni, ezért: (1) metanosos közegben végeztük a reakciókat és (2) tanulmányoztuk a dimedon reakcióit formaldehiddel, heteroatomhoz kötött hidroximetil-csoportokat tartalmazó vegyületekkel, ill. azok keverékével, valamint növényi szövetminták endogén formaldehid tartalmával is [218].

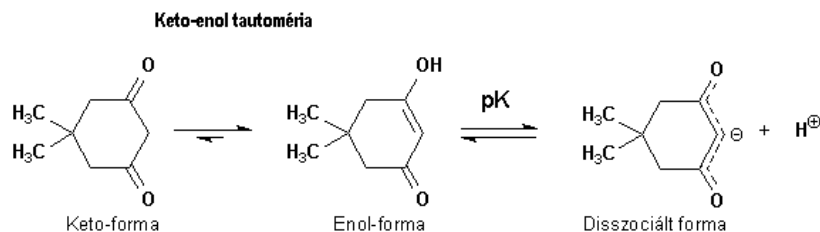
A formaldehid és dimedon közötti reakció kinetikai lefolyását **vizes közegben** *Spencer* és *Henshall* tanulmányozta és a reakcióra részletes mechanizmust javasoltak. Meghatározták a reakció rendjét és a reakciósebesség *pH*, *ionerősség* valamint *lúg/dimedon* mólaránytól való függését is [219]. Munkánkban kísérleti eredményeiket alap információként kezeltük.

1. Vizsgálataink első szakaszában megismételtük *Spencer* és *Henshall* kísérleteit a csermakk extraktum folyadék fázisával közel megegyező 80 % metanol - 20 % víz összetételű közegben. Az 19. ábra az állandó pH-n végzett reakciók sebességének a dimedon és formaldehid koncentrációtól való függését szemlélteti. Mérési eredményeinket a vizes közegre vonatkozó irodalmi adatokkal összevetve, az azonos tendenciájú paraméter változások alapján megállapítottuk, hogy **(a)** a reakció metanol-víz rendszerben is **másodrendű kinetikát** követ, de a vizes közegtől eltérő sebességi állandó értékek mellett, és **(b)** a metanol jelenléte a **reakció mechanizmusát** nem módosítja.

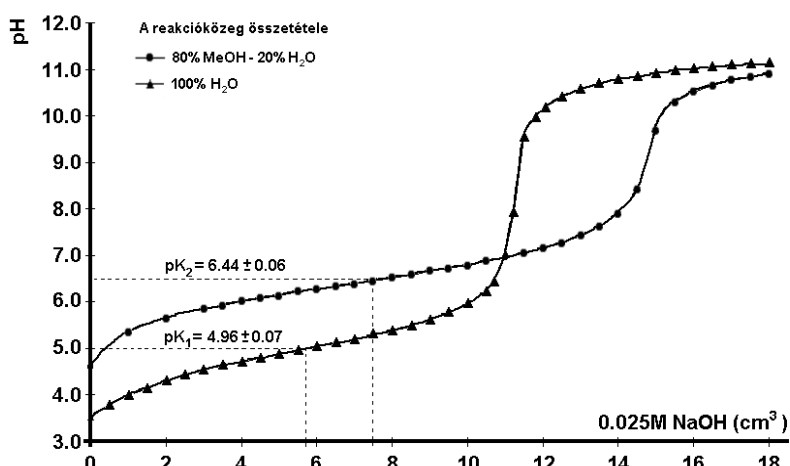


**19. ábra** A kinetikai görbe és a kezdeti reakciósebesség meghatározása. ( $pH=7.60$ )  
(Dimedon koncentráció:  $8.48 \text{ mmol/dm}^3$ ; Formaldehid koncentráció:  $0.37 \text{ mmol/dm}^3$ ;  
Reakció közeg : 80 % MeOH - 20 % H<sub>2</sub>O; Puffer : citromsav - Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)

Oldatban a dimedon a keto - enol tautómia egyensúlyi állapotában van, a koncentráció jelentős mértékben eltolódik az enol-forma irányába. *Spencer* és *Henshall* megállapítása szerint a kondenzációban csak az enolos forma disszociált, ionos formája vesz részt.



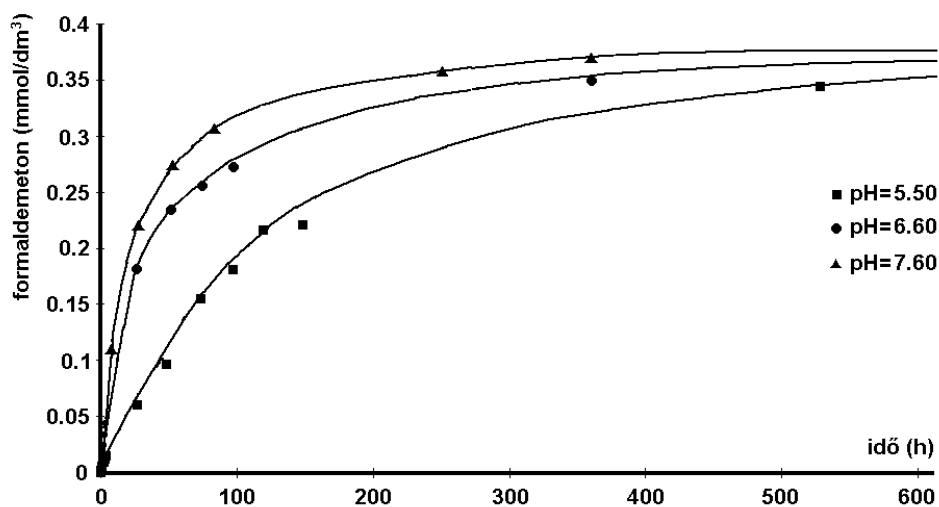
**A pH reakció sebességét befolyásoló hatásánál** figyelembe vettük azt, hogy az enolos hidroxil-csoport disszociációjának mértékét a dimedon és az oldószer molekulák közötti másodlagos kölcsönhatások jellege és erőssége befolyásolja. Ezért mind vizes mind metanolos közegben sav-bázis titrálással meghatároztuk a dimedon titrálási görbéit és ezekből származtattuk az oldószer hatástól függő *pK* értékeket (20. ábra).



20. ábra A dimedon különböző reakcióközegű titrálási görbéi és pK értékei

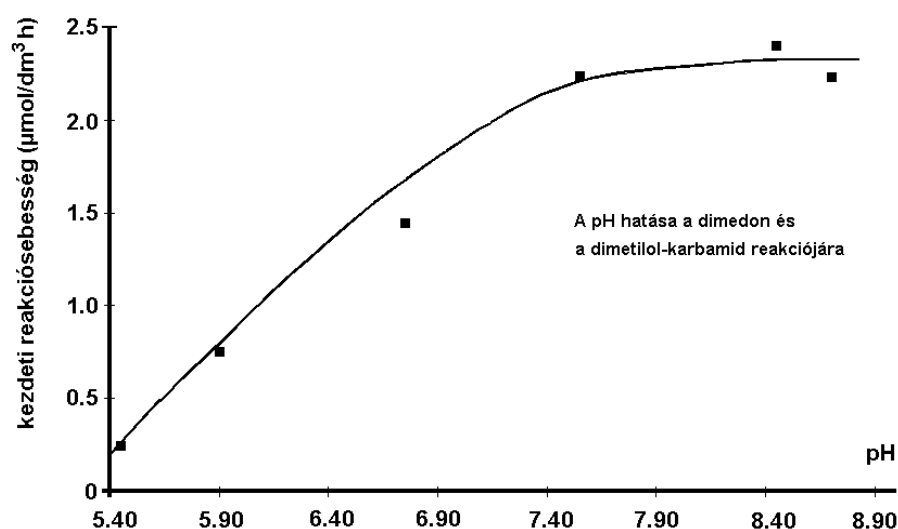
Vizes oldatban  $pK=4.96$ , metanolos közegben  $pK=6.45$  értékeket határoztunk meg. A pK értékekkel azonos pH - jú oldatban a dimedon 50 %-a disszociál. A pK értékek ismeretében tehát meghatározható az a két pH tartomány, amelyben a dimedon 50 %-nál kisebb ill. nagyobb koncentrációban vesz részt a reakcióban. Ezáltal közvetve a reakciósebesség és a minta-előkészítés szükséges időtartama is megbecsülhető.

Modell kísérletünkben a biológiai mintákra jellemző pH = 5.5 - 7.5 tartományban végeztük a reakciót. A 21. ábra szemlélteti a metanolos közegben formaldehidből és dimedonból keletkező formaldemeton koncentrációjának eltérő pH értékekre vonatkozó időbeli változását. A reakciósebesség pH függését a három különböző pH értékhez tartozó görbe monotonitás eltérése fejezi ki (21. ábra), amelyből megállapítható, hogy a formaldemeton keletkezési sebessége a pH emelkedésével nő. Ez megegyezik *Spencer* és *Hensall* azon tapasztalatával, hogy a reakció sebesség vizes közegben, a pH függvényében pH=8 értékig növekedik [219]. A pH függvényében a reakció vizes és metanolos közegekben megegyező tendenciával, de eltérő sebességi állandó értékek mellett zajlik.

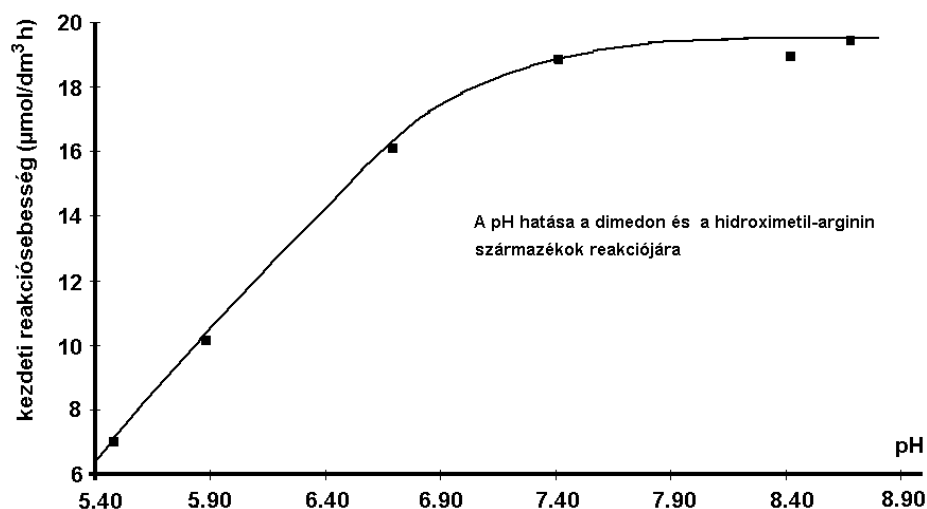


21. ábra A dimedon formaldehiddel lejátszódó reakciójának kinetikai görbéi

2. Biológiai minták esetén heteroatomokhoz kötött hidroxil-metil csoportok, endogén formaldehid generátorok reagálnak a dimedonnal. A lejátszódó reakciók modellezéseként tanulmányoztuk néhány *N*-hidroximetil csoportot tartalmazó vegyület és keverék (dimetilol-karbamid, hidroximetil-L-arginin származék), valamint a viszonylag magas endogén formaldehid tartalmú csertölgy extraktumok reakcióit. Meghatároztuk a kezdeti reakció sebesség pH függését. A dimetilol-karbamid (22. ábra), a hidroximetil-L-arginin származékok keveréke (23. ábra) és a csertölgy sziklevél szövet (24. ábra) reakcióinak pH függéséből megállapítható, hogy a kezdeti reakció sebesség a pH függvényében minden szubsztrátum esetében monoton módon, folytonosan növekedik és a dimetilol-karbamid és hidroximetil-arginin keverék esetében **pH=8** érték felett - a vizes közegű reakcióhoz hasonlóan [219] - állandósul. A reakciósebesség bemutatott pH függése tendenciájában azonos a formaldehiddel végbemenő reakcióval.

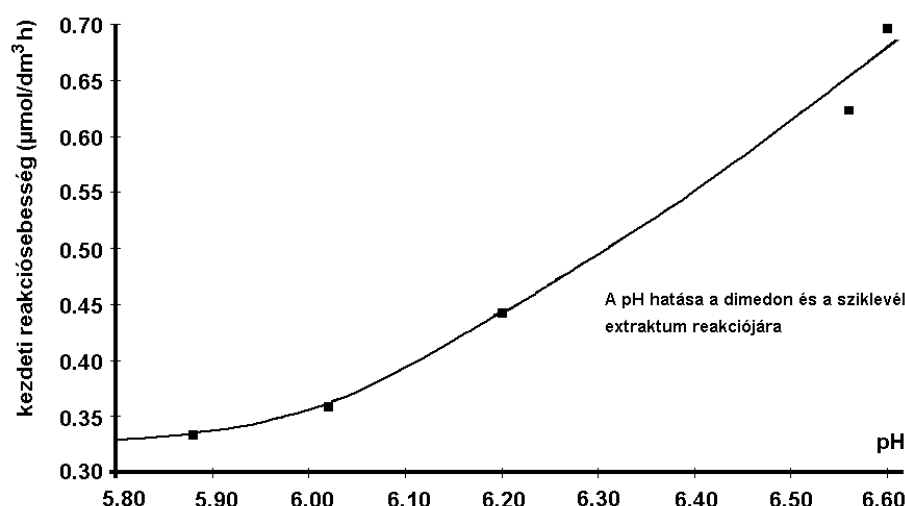


22. ábra A kezdeti reakciósebesség pH függése a dimedon és a dimetilol-karbamid reakciójában (Dimedon koncentráció:  $8.1 \text{ mmol/dm}^3$ ; Hidroximetil-csoport tartalom:  $0.36 \text{ mmol/dm}^3$ ; Puffer:  $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$ )



23. ábra A kezdeti reakciósebesség pH függése a dimedon és a hidroximetil-L-arginin származékok reakciójában (Dimedon koncentráció:  $8.1 \text{ mmol/dm}^3$ ; Hidroximetil-csoport tartalom:  $0.19 \text{ mmol/dm}^3$ ; Puffer:  $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$ )





**24. ábra** A kezdeti reakciósebesség pH függése a dimedon és a csermakk extraktum reakciójában (Dimedon koncentráció:  $8.1 \text{ mmol/dm}^3$ ; endogén formaldehidtartalom:  $0.34 \text{ mmol/dm}^3$ ; Puffer:  $\text{KH}_2\text{PO}_4 - \text{Na}_2\text{HPO}_4$ )

80 %-os metanolos oldatban tanulmányoztuk a dimedon reakcióját formaldehiddel, *N*-dihidroximetil- karbamiddal, mono-, di- és trihidroximetil-arginin eleggyel és a csertölgy sziklevél extraktum formaldehid generátoraival, modellezve az egykomponensű, több komponensű és a biológiai rendszereket.

Analógiát tapasztaltunk a reakció mechanizmusában, a reakció sebesség koncentráció és pH függésének tendenciájában.

A reakciók sebességi állandóit jelentősen befolyásolja az oldószerhatás és a hidroximetil-csoportokat hordozó heteroatom kötési energiája. A kezdeti reakciósebesség értéke a formaldehid esetében a legnagyobb, *N*-hidroximetil-arginin tartalmú elegyben közepes, dimetilol-karbamid reakciójánál pedig kicsi. A csertölgy sziklevél extraktumok endogén formaldehid generátorainak reakciójában a dimetilol-karbamidéval nagyságrendben megegyező kezdeti reakció sebességet állapítottunk meg.

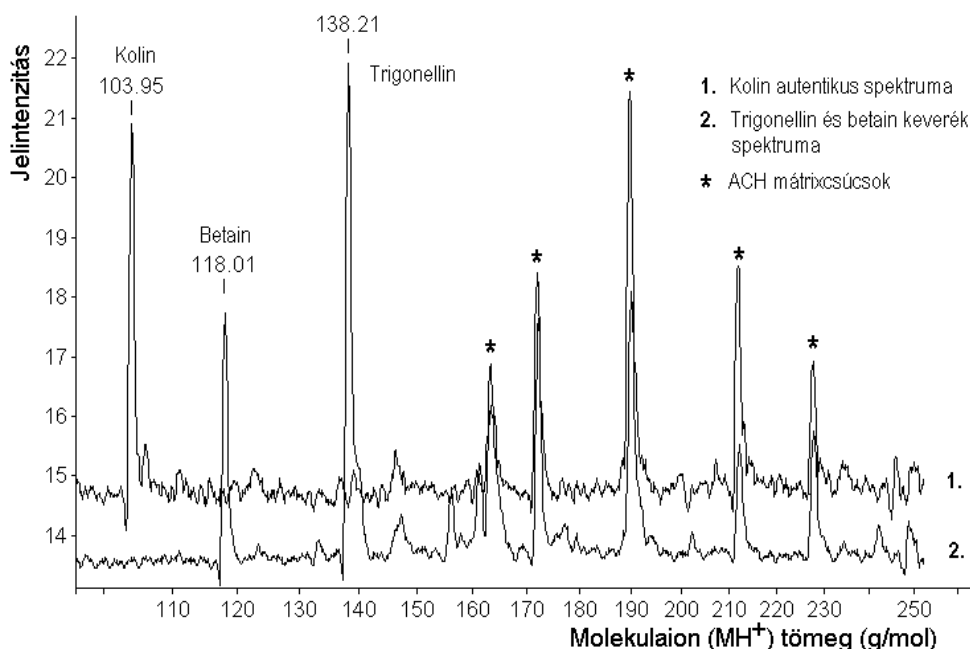
A formaldehid koncentrációk adott pH-jú időbeli változása alapján megállapítottuk, hogy a csíráztatási kísérleteknél legalább 7-napos mintatárolási időtartam alkalmazása szükséges. A dimedonos mintaelőkészítési reakció pH függése alapján értelmezhető a különböző biológiai minták esetében empirikusan alkalmazott mintatárolási idők jelentős eltérése. Azokban a mintákban, amelyekben a belső puffer rendszer az extraktum pH-ját a dimedon pK értéke feletti tartományba állítja a reakció gyors, a pK értéknél kisebb pufferált pH-jú mintákban a reakció lassú.

### 4.3. A formaldehid generátorok MALDI analízise

A csermakk és a csíranövény szövetek potenciális formaldehid generátorai közül a leggyakoribbakat, a kvaterner ammónium vegyületekké metilezett aminosav származékokat (kolin, trigonellin, betain, stb.) Lasermat 2000 típusu MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption / Ionization) tömeganalizátorral (Finnigan MAT Ltd., Hemel Hempstead, Nagy-Britannia) próbáltuk feltérképezni. A MALDI spektrometria a mintaalkotók töredékképződésétől mentes specifikus tömegspektrometria. Alkalmazásával lehetőség nyílt az összetett minták komponenseinek egyidejű megjelenítésére.

A MALDI tömegspektrumban a komponensek protonált molekulaionokként jelennek meg. Az aminosavak kvaterner ammónium származékainak MALDI kimutatását elősegíti az az anyagi sajátosságuk, hogy szilárd halmazállapotban is ikerionos szerkezetűek, permanens pozitív ill. negatív töltéssel rendelkező kvaterner nitrogén atomot ill. disszociált karboxil- (karboxilát) csoportot egyaránt tartalmaznak. Ezért a készüléken belüli lézeres szublimáltatás és gerjesztés hatására a többi szerves mintaalkotóhoz képest könnyebben protonálhatók. A permanens negatív töltéssel rendelkező karboxilát kisebb aktiválási energia mellett képes proton felvételre, mint azok a molekulák, amelyek csak heteroatomok magános párjain protonálódnak. Ezért az ikerionos vegyületek jellemző molekulatömeg értékeinél jelentkező csúcsokat döntően ikerionos vegyületek szolgáltatják. Nem hagyható azonban figyelmen kívül az a tény, hogy a biológiai minták extraktumaiban számos, azonos molekulatömegű szerves vegyület lehetséges, amelyek ha kis mértékben is az ikerionos vegyületek, így az aminosavak kvaterner ammónium származékainak a tömegspektrometriás jelintenzitásait módosíthatják. Ezért a MALDI analízissel nyert adatok egzakt mennyiségi meghatározásokra nem, csak egyéb szakirodalmi ismeretekkel történő összehasonlító, kimutatási vizsgálatokra alkalmazhatók. Ennek ellenére az endogén formaldehidtartalom vizsgálatokhoz kapcsolt MALDI analízis teljes képet nyújt a minta formaldehid generátorairól ill. az endogén formaldehidtartalom változását kísérő új kvaterner ammónium vegyületek keletkezéséről ill. a meglévők lebontásáról.

Az extrahált minták MALDI analízisének mátrix segédanyagként  $\alpha$ -ciano-4-hidroxi-szinnapinsavat (ACH) használtunk. A 60 % metanol - 40 % víz oldószerű ACH oldat koncentrációja  $10^{-2}$  M volt. A minta és a mátrix oldat 0.5-0.5  $\mu$ l térfogatait a mintatartó lemezen elegyítettük. A csepp szobahőmérsékleten való beszáradása után a folyadék szárazanyagát Lasermat 2000 típusú berendezéssel analizáltuk. A 25. ábra a MALDI mintakészítéssel kivitelezett, autentikus kvaterner ammónium vegyületek (kolin, betain és trigonellin) tömegspektrumát mutatja.



25. ábra Potenciális formaldehid generátorok MALDI spektrumai

#### 4.4. Csíráztatási és csemetenevelési körülmények

Friss makkokat csíráztattunk, származási körzetük: Kisalföldi Erdészeti RT. (Vitnyéd, 1994-2000). Fajsúly: H<sub>2</sub>O-ban 0,531; térfogatsúly: 1.23-1.26 g/cm<sup>3</sup>; csíráztató közeg: P1 perlit; kapilláris vízemelkedés 114-122/24 h; 148-172 mm/120 h. A magvakat csíráztatás előtt kezeltük (DITHANE M 45 0,5 % + Chinoin Fundazol 0,1 %), csávázás után a makkokat megmostuk majd meghámoztuk. Csak azokat a makkokat csíráztattuk, amelyeken nem volt megrepedve a héj. A csíráztatás során a magvak tömegét és sűrűségét naponta legalább egyszer mértük. A tömeg és sűrűség mérése SCALTEC gyártmányú, SBC 21 típusú analitikai mérleggel történt.

A csertölgy csemeteneveléshez csíra- és életképes csíranövényeket válogattunk, amelyeket 300 ml térfogatú, P1 perlitágyba egyenként 15 x 15 mm-es hálózatban elhelyeztünk. Az egyedek nevelése alatt a csemetéket külön táp- és sóoldattal nem kezeltük. Az egyenletes vízellátást desztillált vízzel biztosítottuk.

Csíráztató eszköz: Jacobsen-asztal QB-117/3 (Gyártó: Labor MIM-Esztergom) Hosszúság: 1860 mm, szélesség: 840 mm, teljes magasság: 1740 mm, asztal magasság: 920 mm. Munkahelyek száma: 168 db (szűrőpapír korongokon történő csíráztatás esetén). Tápfeszültség: 220 V 50 Hz; fűtőaggregát teljesítménye 500 +; fűtőteliesség: 800 W; beállítható hőfok: 10-30 °C; pontosság: ± 1 °C.

Csíráztatási hőmérséklet: A csíráztatás 22-23 °C-on, normál szobahőmérsékleten történt. A csírázó makkok nem voltak közvetlen kapcsolatban a vízfürdővel, amely a Jacobsen asztalt fűti. (Előírás 30 °C).

Megvilágítás: 750 Lux megvilágítás mellett csíráztattunk, 16 órás megvilágítást 8 óra sötét időszak követett.

## 5. Csíráztatási kísérletek

A csertölgy ontogenezisének korai szakaszaira tervezett endogén formaldehid-tartalom meghatározásának elengedhetetlenül szükséges feltétele az egyedfejlődési állapotok reprodukálható és pontos rögzítése. A csemetenevelés esetén jellemző fejlődési állapotoknak a csíranövény morfogenezisének fázisait, az új szöveti struktúráinak kialakulását (gyököcske, rügyecske, szár és gyökérszőrök megjelenése, csúcs- és oldal levelek kifejlődése, stb.) választottuk. A gyököcske megjelenéséig tartó, általában duzzadásnak (imbibíciónak) nevezett kezdeti csírázási szakaszban az egyedfejlődés nyomon követését a magvak tömegeloszlása és a morfológiai változások hiánya megnehezíti, sok esetben lehetetlenné teszi. A duzzadás fázisára kiterjesztett vizsgálatoknak a fontosságát emeli ki az a tény, hogy az erdészeti gyakorlatban alkalmazott szaporítóanyag tárolás körülményei mellett a magvak többsége imbibiciós állapotú. Erre a rövid időtartamú (3-7 nap) szakaszra a makk csírázását kísérő fizikai tulajdonságok közötti függvény-kapcsolatok vizsgálatával próbáltunk olyan félempirikus összefüggéseket definiálni, amelyek alapján az imbibícóra is kiterjeszthetők a fiziológiás és stressz-indukciós állapotváltozási vizsgálatok.

Csíráztatási kísérletekben 1 °C-on, 100 % relatív páratartalom mellett tárolt csertölgy makkokat csíráztattunk. A terméshéj eltávolítása után a makkok csíráztatását 5 napon keresztül kb. 20%-os tömegnövekedésig végeztük. Ezen időtartam alatt a csíráztatás során a gyököcske megjelenése tapasztalható. A magvak tömegét és sűrűségét naponta legalább egyszer mértük. A csíráztatott makk egyedek tömeg- ill. sűrűségmérési adatpárjait a dolgozat függeléke tartalmazza (F-II. - F-VII.).

### 5.1. A csírázás hatása a csertölgy makk fizikai sajátságaira

A csertölgy makk duzzadását és tápanyagainak lebontását kísérő tömegnövekedést a vízfelvétel és a légzés befolyásolja. A raktározó szövetekbe kerülő víz és oxigén mennyisége növeli, a széndioxid kibocsátás csökkenti a csírázó makk tömegét. A csírázó makk tömegnövekedése azzal magyarázható, hogy a légzéskor kibocsátott, tömeget csökkentő széndioxid egységnyi makkterfogatra vonatkoztatott mennyisége kisebb a felvett, fajlagos víz és oxigén együttes mennyiségénél. A tömegnövekedés mértékét döntően a tápanyagok mobilizációjában résztvevő makromolekulák (szénhidrátok, fehérjék) hidrolitikus bontásának intenzitása határozza meg. A hidrolitikus enzimreakciók folyamatosan növelik az intracelluláris tér oldott anyagainak (maltóz, glükóz, aminosavak, stb.) koncentrációját. A raktározó szövetekben lévő kis molekulatömegű oldott anyagok koncentrációinak emelkedésével arányosan növekszik az ozmózisnyomás. Az ozmózisnyomás emelkedése a csírázás alatt biztosítja az időben változó áramlássebességű, de folyamatos vízfelvételt. Az ozmózisnyomás növekedésével magyarázható a csírázó makk terfogat-növekedése is.

A csírázás tömeg- és terfogat-növekedést előidéző hatása megváltoztatja a makk sűrűségét, ugyanis a hidrolitikus folyamatokban a raktározó szövetek szilárd halmazállapotú, víznél nagyobb sűrűségű makromolekuláris anyagtartalma csökken. A lebontott keményítő és fehérjék terfogatát 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 terfogata. Ennek eredményeként a csírázás alatt a makk sűrűsége csökken.

## 5.2. A csertölgy makk tömegeloszlása

Időszakos csíráztatási kísérleteinknél csak ép terméshéjjal rendelkező és penészmentes makk egyedeket csíráztattunk. Így a csíráképesnek tűnő magvak kiválasztásával kívántuk csökkenteni a fertőzött, biológiai stresszhatás alatti, illetve életképtelen makkok csírázási százalékrontó hatását. A makk mintavétel tehát irányítottan, nem véletlenszerűen történt. Ezért a statisztikai értékelés első lépéseként illeszkedés-vizsgálattal ellenőriztük a mintavétel nyugalmi magtömeg eloszlásra gyakorolt hatását. Továbbá illeszkedésvizsgálattal jellemeztük, hogy az időszakos mintavételek milyen mértékben szolgáltattak azonosnak tekinthető eloszlású populációkat. Vizsgálatunknál feltételeztük, hogy a csertölgy termésének tömegeloszlása normáeloszlást követ.

A függelékben közölt nyugalmi állapotú makkegyedek tapasztalati tömeg gyakoriságainak egymással és normális eloszlással való összehasonlítása 8 osztályra vonatkozóan történt [220].

Egyidejűleg időszakosan vizsgáltuk a csíráztatások nyugalmi tömegeloszlását és hipotetikus, 100 egyedre vonatkozó normál-eloszlást. A tapasztalati gyakoriságok meghatározása előtt, a normáeloszlással való összehasonlíthatóság végett a makk egyedek tömegeit az átlagos tömegértékkel és annak szórásával korrigáltuk:

$$\mu_i \equiv \frac{m_i - \bar{m}}{s},$$

ahol  $\mu_i$  - az  $i$ -edik makk egyed korrigált tömege,  
 $m_i$  - az  $i$ -edik makk egyed terméshéj nélküli, nyugalmi tömege,  
 $\bar{m}$  - a csíráztatott makk tétel átlag tömege,  
 $s$  - az átlagos makk tömeg szórása.

Ezután meghatároztuk az egyes makk tételek ún. korrigált tapasztalati gyakorisági eloszlását, melyeket a 2. táblázatban tüntettünk fel. Statisztikai értékelésünkönél azt vizsgáltuk, hogy a normális eloszlással kiegészített korrigált gyakorisági eloszlások között milyen valószínűségi feltételezés mellett nincs szignifikáns különbség.

**2. táblázat** 7×8 mezős kontingencia táblázat 7 számú minta 8 osztályos gyakorisági eloszlásának homogenitás vizsgálatára

		Korrigált tapasztalati gyakorisági eloszlások ( $f_{ij}$ )							
Osztályok	Normál eloszlás	1998 dec.	1999 jan.	1999 feb.	1999 jún.	2000 jan.	2000 júl.	Összesen $n_i$	
[ -∞ ; -1,25 ]	10,56	7	3	9	4	3	5	41,56	$n_a$
[-1,25;-0,75]	12,1	19	10	8	6	10	5	70,1	$n_b$
[-0,75;-0,25]	17,47	16	8	16	14	7	13	91,47	$n_c$
[-0,25;0,25]	19,74	24	12	12	12	9	8	96,74	$n_d$
[ 0,25;0,75]	17,47	10	8	10	3	10	6	64,47	$n_e$
[ 0,75;1,25]	12,1	11	4	6	6	3	7	49,1	$n_f$
[ 1,25;1,75]	6,55	4	2	8	3	4	4	31,55	$n_g$
[ 1,75; +∞ ]	4,01	8	3	2	3	2	2	24,01	$n_h$
Összesen $n_i$	100	99	50	71	50	48	50	468	
	$n_1$	$n_2$	$n_3$	$n_4$	$n_5$	$n_6$	$n_7$		

### $\chi^2$ - érték kiszámítása:

A gyakoriságok négyzeteit egyenként elosztjuk a sorösszeggel. A kapott hányadosokat oszloponként összegezzük. Az oszlopösszeget jelöljük  $G_j$  - vel.

$$\frac{f_{1a}^2}{n_a} + \frac{f_{1b}^2}{n_b} + \dots + \frac{f_{1k}^2}{n_k} = G_1, \quad \frac{f_{2a}^2}{n_a} + \frac{f_{2b}^2}{n_b} + \dots + \frac{f_{2k}^2}{n_k} = G_2, \quad \text{stb.}$$

2. táblázat adataira vonatkozóan:

$$\frac{10,56^2}{41,56} + \frac{12,1^2}{70,1} + \dots + \frac{4,01^2}{24,01} = G_1, \quad \frac{7^2}{41,56} + \frac{19^2}{70,1} + \dots + \frac{8^2}{24,01} = G_2, \quad \text{stb.}$$

stb.

Ezután a  $G_1, G_2, \text{stb.}$  értékeket egyenként elosztjuk a saját oszlopösszegükkel, és a hányadosokat összegezzük:

$$\frac{G_1}{n_1} + \frac{G_2}{n_2} + \dots + \frac{G_7}{n_7} = A$$

Végül az összegzéssel megkapott  $A$  értékből levonunk 1-et, és a maradékot megszorozzuk az összes vizsgált egyed számával. Az így kapott érték a  $\chi^2$  - érték [204]. Tehát:

$$\chi^2 = (A - 1) \times n$$

A bemutatott számítás menetét az I. táblázatra alkalmazva:

$$\chi^2 = (1,069 - 1) \times 468 = 32,2$$

### Szignifikancia vizsgálat

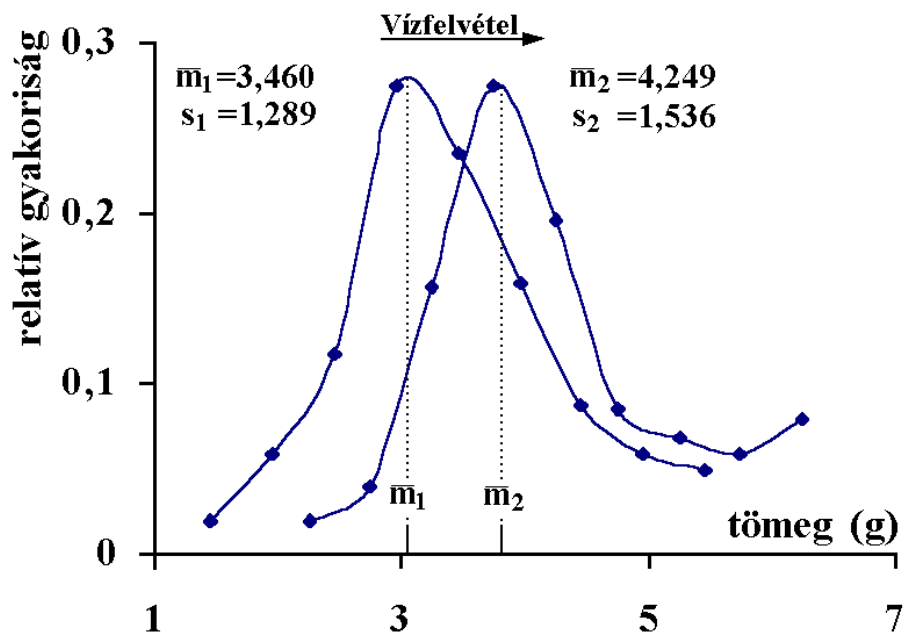
A kiszámított  $\chi^2$  - értékeket összehasonlítjuk a függelék VII. táblázatában megadott kritériumi  $\chi^2$  - értékekkel. A szabadsági fokok száma:  $FG = (v - 1)(k - 1)$ . ( $v$  - gyakorisági eloszlások száma;  $k$  - osztályok száma).

$FG = (7-1)(8-1) = 42$  szabadsági fokra és  $P = 80\%$  valószínűségi szintre, az F-VIII. táblázatból lineáris interpolációval számolt kritérium **33,8** nagyobb, mint a számított kritérium érték. Tehát a hipotetikus normális eloszlás és a hat vizsgált korrigált tapasztalati gyakorisági eloszlás nem tekinthető egymástól szignifikánsan eltérőnek.

### 5.3. Csírázás hatása a tömegeloszlásra

A csertölgy makk tömegnövekedése arányos a csírázás során felvett víz mennyiségével. Időszakos csíráztatási kísérleteinknél vizsgáltuk, hogy a csírázó magvak fajlagos vízfelvétele függvénye-e a makk egyed tömegének, illetve méretének. A magvak tömegnövekedésének a tömegeloszlás momentumaira gyakorolt hatásának vizsgálatához naponta mértük a magvak tömegeit. A vízfelvételhez kapcsolódóan származtattuk

a csírázást jellemző eloszlási momentumokat (átlag érték, szórás). A makktétel csírázás alatti szórásértékeinek szignifikáns változása a különböző tömegmérési időpontokhoz tartozó, a változó mennyiségű vízfelvételt visszatükröző tapasztalati tömegeloszlások összehasonlításával ellenőrizhető.



**26. ábra** A csírázást kísérő tömegnövekedés hatása csertölgymakk tömegeloszlására

Abban az esetben, ha a fajlagos vízfelvétel mérettől független, akkor a csíráztatott makkpopuláció eloszlásában csak a tömeg változhat meg szignifikánsan. A különböző tömegmérési időpontokat jellemző szórásértékeknek, adott feltételezési valószínűség mellett azonosnak tekinthetőnek kell lenniük. A megfogalmazott hipotézis eldöntése 8 osztályos tapasztalati gyakorisági eloszlások összehasonlításán keresztül történt [204]. Az összehasonlítás végrehajthatóságához a csírázó makkok tömegnövekedését átlagos tömegekre vonatkozó korrekcióval küszöböltük ki.

$$\mu_i \equiv m_i - \bar{m},$$

ahol  $\mu_i$  - az  $i$ -edik makk egyed korrigált tömege,  
 $m_i$  - az  $i$ -edik makk egyed terméshéj nélküli tömege,  
 $\bar{m}$  - a csíráztatott makktétel átlagos tömege.

A statisztikai számítás menetét a függelék F-VI. táblázatában közölt, 2000 január havában végrehajtott csíráztatási kísérlet tömegmérési adatain mutatjuk be. Az adatokból származtatott korrigált tapasztalati tömeggyakoriságokat a 3. táblázat tartalmazza.

**3. táblázat** A csíráztatás hatása a korrigált tapasztalati tömeggyakoriságokra.  
5×8 mezős kontingencia táblázat gyakorisági eloszlások homogenitás vizsgálatára

Osztályok	Korrigált tapasztalati tömeggyakoriságok ( f <sub>ii</sub> )					Összesen n <sub>i</sub>	
	2000. jan.17.	2000. jan.18.de.	2000. jan.18.du.	2000. jan.19.	2000. jan.20.		
[ -∞ ; -1,25 ]	3	2	2	2	2	11	n <sub>a</sub>
[-1,25; -0,75]	10	11	12	11	11	55	n <sub>b</sub>
[-0,75; -0,25]	7	8	7	9	9	40	n <sub>c</sub>
[-0,25; 0,25]	9	8	7	6	6	36	n <sub>d</sub>
[ 0,25; 0,75]	10	9	10	10	10	49	n <sub>e</sub>
[ 0,75; 1,25]	3	5	5	5	5	23	n <sub>f</sub>
[ 1,25; 1,75]	4	3	3	3	3	16	n <sub>g</sub>
[ 1,75; +∞ ]	2	2	2	2	2	10	n <sub>h</sub>
	48	48	48	48	48	240	
	n <sub>1</sub>	n <sub>2</sub>	n <sub>3</sub>	n <sub>4</sub>	n <sub>5</sub>		

$\chi^2$  - érték kiszámítása: Az 5.2. fejezetben közölt módon.

$$\chi^2 = (1,013 - 1) \times 240 = 3,12$$

#### Szignifikancia vizsgálat

A kiszámított  $\chi^2$  - értékeket összehasonlítjuk a függelék F-VIII. táblázatában megadott kritériumi  $\chi^2$  - értékekkel. A szabadsági fokok száma:  $FG = (\nu - 1)(k - 1)$ . ( $\nu$  - gyakorisági eloszlások száma;  $k$  - osztályok száma).

$FG = (5-1)(8-1) = 28$  szabadsági fokra és  $P = 99\%$  valószínűségi szintre, a 3. táblázat kritériuma **13,6** nagyobb, mint a számított kritérium érték. A fent bemutatott statisztikai értékelés menete alapján, az időszakos csíráztatási kísérletekre számított  $\chi^2$  - értékeket a 4. táblázat tartalmazza.

**4. táblázat** Az időszakos csíráztatási kísérletek korrigált tapasztalati gyakorisági tömegeloszlásokra vonatkozó homogenitás vizsgálata

P = 99%	Időszakos csíráztatási kísérletek					
	1998 dec.	1999 jan.	1999 feb.	1999 jún.	2000 jan.	2000 júl.
Szabadsági fok	28	32	28	32	28	32
$\chi^2$ - kritérium	13.6	16.44	13.6	16.44	13.6	16.44
Számított $\chi^2$ - értékek	19.43	10.88	9.08	5.29	3.02	5.29

A 4. táblázat adataiból megállapítható, hogy az 1998. decemberi mérési adatok kivételével a csíráztatási kísérletekben különböző mérési időpontokhoz tartozó korrigált tapasztalati gyakorisági tömegeloszlások 99% - os feltételezési valószínűség mellett sem tekinthetők szignifikánsan eltérőknek. Hangsúlyozandó, hogy a makkegyedek tömegének korrekciója csak az átlagos makktömegre vonatkozott.

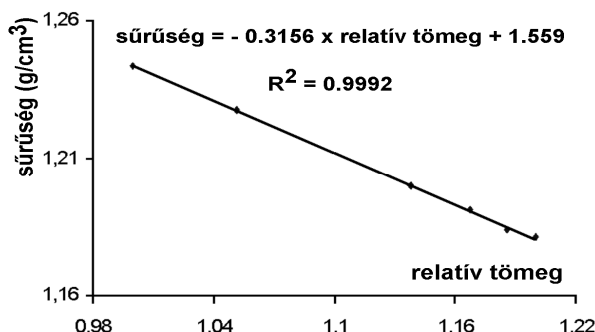


Tehát a korrigált tapasztalati gyakorisági eloszlások homogenitás vizsgálatában tapasztalt, majdnem azonosnak tekinthető illeszkedés alapján kijelenthető, hogy a csírázást kísérő vízfelvétel az eloszlások szórását szignifikánsan nem változtatja meg. A hat csíráztatási kísérlet közül öt esetben kijelenthető, hogy a csírázást állandónak tekinthető fajlagos vízfelvétel jellemezte.

#### 5.4. A sűrűség és a tömeg korrelációja

A Függelék II.-VII. táblázataiban közölt mérési adatok alapján megállapítható, hogy a csírázó csertölgy makk tömegnövekedését a sűrűségnek a csökkenése kíséri. A 5.3. fejezetben statisztikailag bizonyított vízfelvétel fajlagos állandósága miatt a makk-egyedek abszolút tömegnövekedése mérettől függő. A sűrűség csökkenése viszont mérettől független. A tömeg extenzív, a sűrűség intenzív (fajlagos) fizikai tulajdonság. Az említett fizikai sajátságok állapothatározói típuseltérése kiküszöbölhető, ha a makkegyedek tömegeit a nyugalmi állapotú makktömegekre vonatkoztatott tömegekként, un. relatív tömegekként fejezzük ki. A relatív tömeg definíció szerint a csírázó makk tömegének és a csírázás kezdeti (nyugalmi) tömegének a hányadosa. A relatív tömeg a sűrűséghez hasonlóan mérettől független tulajdonság, fajlagos mennyiség. A csírázásnál értéke azt fejezi ki, hogy mekkora mértékű az egységnyi makk tömegre jutó tömegnövekedés.

A tömegnövekedés és a sűrűségcsökkenés korrelációjának vizsgálatánál az egyedek tömegeit relatív tömegekként fejeztük ki. A csírázást jellemző sűrűség és relatív tömeg adatpárokra jó közelítéssel egyenes illeszthető. Egy csíráztatott makk relatív tömeg függvényében történő sűrűségváltozását mutatja be a 27. ábra.



**27.ábra** Csírázó makk sűrűségének változása a relatív tömeg függvényében

Az egyes makkegyedek adataira alkalmazott lineáris regresszió eredményei (meredekség, meredekség szórása, tengelymetszet, tengelymetszet szórása, az illeszkedés határozottsági foka) a Függelék IX.-XIV. táblázataiban található. A táblázatokban közölt - sorszám szerint makkegyedekre jellemző - sűrűség-relatív tömeg értékpárokra illesztett egyenesek paraméterei növekvő határozottsági fokok szerint rendezettek. A táblázatok ily módon történő szerkesztésével hangsúlyozzuk azt a tapasztalati megfigyelésünket, hogy a  $H \geq 0,97$  értékekkel rendelkező makkokból ép csemeték fejlődtek. Tehát ennek a kritériumnak megfelelő makkegyedek nem csak csíra-, hanem életképeseknek is bizonyultak. Életképes makkegyedekre meghatároztuk az illesztett egyenesek meredekségeinek átlagát és szórását.

Az egyenesek meredeksége fizikai sajátságként kifejezi a makkegyedek egységnyi tömegnövekedésére jutó sűrűségcsökkenését, ami megfelel az illesztett egyenesek differenciahányadosainak ( $\Delta\rho/\Delta RT$ ;  $\rho$  - sűrűség;  $RT$  - relatív tömeg). Az átlagos  $\Delta\rho/\Delta RT$  értékeket (lásd 5. táblázat) egymással összehasonlítottuk.

**5. táblázat** A csírázó makk egységnyi relatív tömegnövekedésére eső sűrűségcsökkenése

	1998 dec.	1999 jan.	1999 feb.	1999 jún.	2000 jan.	2000 júl.
<b>mintaszám</b>	<b>43</b>	<b>37</b>	<b>67</b>	<b>45</b>	<b>26</b>	<b>35</b>
<b>átlagos <math>\Delta\rho/\Delta RT</math></b>	<b>-0.343</b>	<b>-0.339</b>	<b>-0.312</b>	<b>-0.344</b>	<b>-0.346</b>	<b>-0.335</b>
<b>szórás</b>	<b>0.0443</b>	<b>0.0217</b>	<b>0.0638</b>	<b>0.0545</b>	<b>0.0692</b>	<b>0.0790</b>
<b>szórás-négyzet</b>	<b>0.00196249</b>	<b>0.00047089</b>	<b>0.00407044</b>	<b>0.00297025</b>	<b>0.00478864</b>	<b>0.006241</b>

(\*A mintaszám a  $H = 0.97$  határozottsági foknál nagyobb értékű csírázó makkegyedek száma)

Statisztikai összehasonlítás eredménye szerint az 1999 jan. csíráztatás átlagos  $\Delta\rho/\Delta RT$  értékének szórása kivételével a többi szórásérték 95 %-os feltételezési valószínűség mellett szignifikánsan azonosnak tekinthető. Így a statisztikailag azonos szórásokhoz tartozó átlagos  $\Delta\rho/\Delta RT$  értékek egymással összevethetők.  $P = 95\%$  feltételezési valószínűség mellett az átlagos  $\Delta\rho/\Delta RT$  értékek azonos, a makkegyedek csíráztatási időpontjától függetlennek tekinthető,  $\Delta\rho/\Delta RT$  várhatóérték (az illesztett egyenes meredekségének várhatóértékét) becsléseinek tekintendők. A makkegyedek átlagos  $\Delta\rho/\Delta RT$  értékeire levont statisztikai következtetés alapján feltételezhető, hogy az egységnyi relatív tömegnövekedésre jutó sűrűségcsökkenés állandósága a csírázó csertölgy makk biológiai sajátsága. A csírázó csertölgy makk fejlődési állapotai összetartozó tömeg és sűrűség értékekkel jó közelítéssel jellemezhetők.

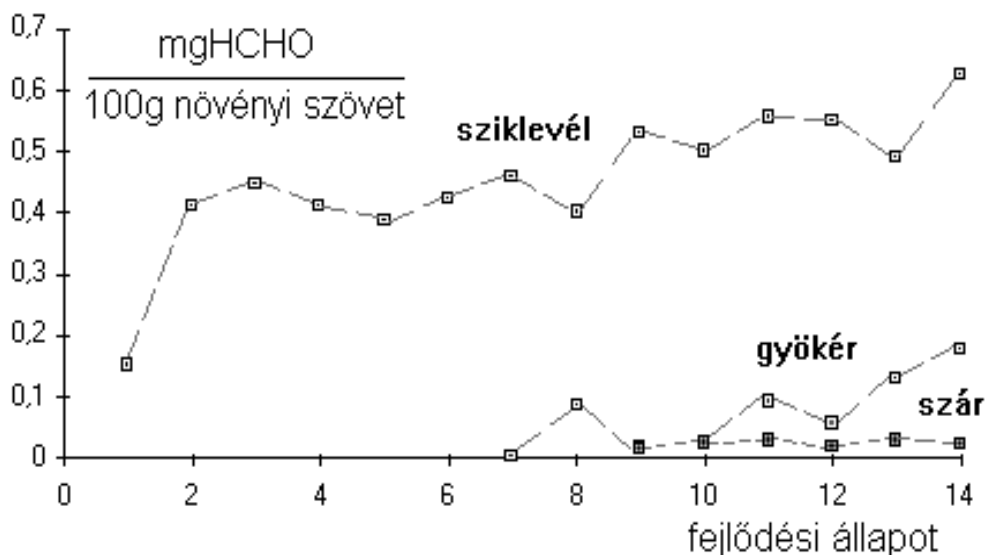
## 6. Az ontogenezis és a környezeti hatások fizikai és kémiai indikátorai

A ontogenezis vezérelt anyagcsere-folyamatait az egyedek fizikai és kémiai jellemzői visszatükrözik. Mennyiségek változásának nyomon követésével képet alkotunk a biológiai folyamat bruttó anyag- és energia forgalmáról, a fejlődési állapotok domináns metabolizmusáról és azok részfolyamatairól. A csírázás folyamatának teljes körű biológiai feltérképezéséhez a genom ismerete mellett az összes lehetséges jellemző egyidejű mérésére lenne szükség. Több ezer jellemző összehangolt, egyidejű analízisére jelenleg, gyakorlatilag nincs lehetőség. Ennek ellenére néhány kiválasztott paraméterre szűkített vizsgálatokkal - amelyek ha átfogó képet nem is szolgáltatnak - hozzájárulhatunk a csírázás folyamatának megismeréséhez.

A csertölgy ontogenezisének transzmetilezési szempontú biológiai állapotváltozásait, az endogén formaldehidtartalommal és generátoraival, ill. a relatív tömegsűrűség függvény kapcsolattal, kataláz aktivitással és MALDI spektrumokkal jellemeztük. A választott indikátorok vizsgálatával a haszon növényekre alkalmazott formaldehid ciklus kutatási eljárásokat a csertölgyre, mint erdei fafajra kiterjesztettük.

### 6.1. A morfogenezis jellemzése az endogén formaldehidtartalommal

Vizsgálataink kezdetén tanulmányoztuk, hogy **(1)** a csertölgy csíranövény egyedfejlődését az endogén formaldehid tartalom determinisztikusan követi-e ill. **(2)** a növényi szövetek morfogenezise előidéző-e változásokat a *N*-, *S*- és *O*-atomokhoz kötött, hidroxil-metil csoport készletben. A 28. ábrán a csertölgy csíranövény különböző szöveiben (sziklelevél, szár és gyökér) a fejlettségi állapotokat jellemző formaldehid tartalmak láthatók [207].

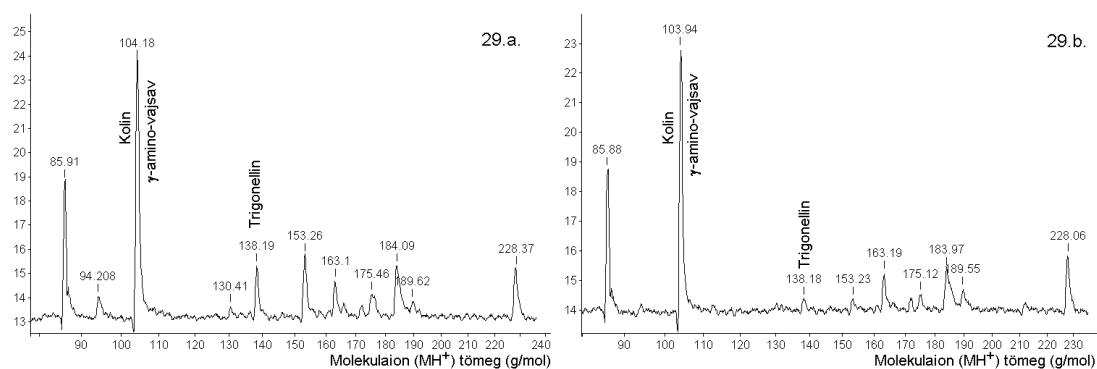


**28. ábra** Formaldehid tartalom változása csertölgy csemeték különböző szöveiben (Fejlődési állapotok: 1.- száraz, nyugalmi állapotú makk; 2-4.- Nedvesített makk; 5-7.- csírázó növesztő makk; 8.- kifejlett gyökérszövet gyökérszörökkel; 9-10.- epikotilból kifejlődő rügyecske; 11-13.- első levél megjelenése; 14.- oldallevelek megjelenése)

A 28. ábrából megállapítható, hogy a nyugalmi állapotú makk szikleveleiben jelentős a formaldehidtartalom, ami néhány órás áztatás hatására több, mint 100%-al megemelkedik, s a csírázást kísérően lassan növekedik. A gyökér- és a szárszövet morfológiájának kezdetén formaldehid tartalom az alkalmazott folyadékkromatográfiás elválasztás kimutatási határa felett ( $0,005 \text{ mgHCHO}/100 \text{ g minta}$ ) nem volt érzékelhető. A szövetek kialakulása során mindegyiknél tapasztalható egy indukciós maximum, ami után a formaldehid tartalom monoton emelkedik.

Az endogén formaldehid tartalmának emelkedésén keresztül megállapítottuk, hogy a csíranövény szöveti struktúráinak kialakulását a demetilációs folyamatok aktivitás-növekedése jellemzi [207].

A csermakk formaldehid ciklusának jellegzetes komponenseinek ( $\gamma$ -amino-vajsav, kolin, trigonellin) jelenlétét a MALDI spektrumok is megerősítik. A 104 molekulaion tömegértéknél összetett jelet képző kolin és  $\gamma$ -amino-vajsav csúcsmagasságának szignifikáns változása nem érzékelhető. A trigonellin jelintenzitása - hüvelyes növények magvainak csírázásához hasonlóan [103] - viszont jelentősen csökken (29. ábra.).



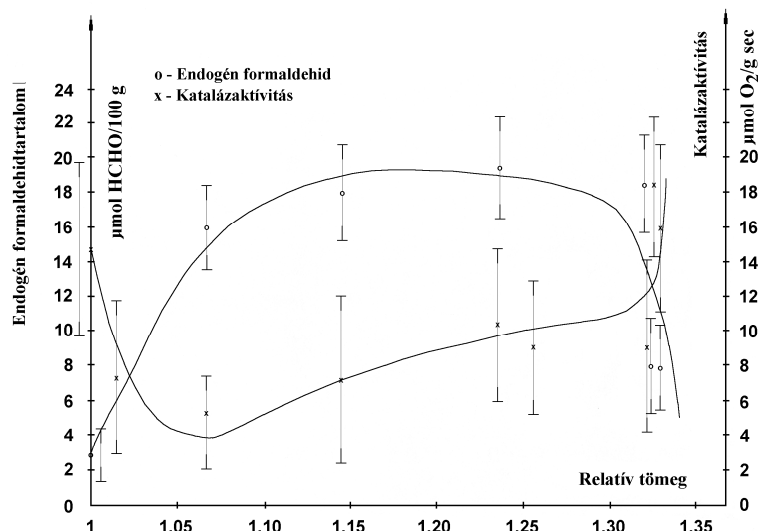
**29. ábra** Nyugalmi (29.a. ábra) és csírázó (29.b. ábra) csermakk MALDI spektrumok

## 6.2. A duzzadás jellemzése

A duzzadás folyamatát az endogén formaldehidtartalom és a katalázaktivitás relatív tömeg függvényében történő változásaival jellemeztük. A katalázenzim (EC 1.11. 1.6.) aktivitás mérését állandó felületű sziklevel korongokra (0.09-0.11 g) gázvolumetriássan hajtottuk végre [221]. A katalázaktivitás egyidejű mérésével képet kaptunk arról, hogy a duzzadás transzmetilezésében bekövetkező eredő intenzitás változás redukzív vagy oxidatív folyamatok előtérbe kerülése mellett megy végbe. A biológiai rendszer növekvő bruttó hidrogén-peroxid szükségletét a katalázaktivitás csökkenése jelzi.

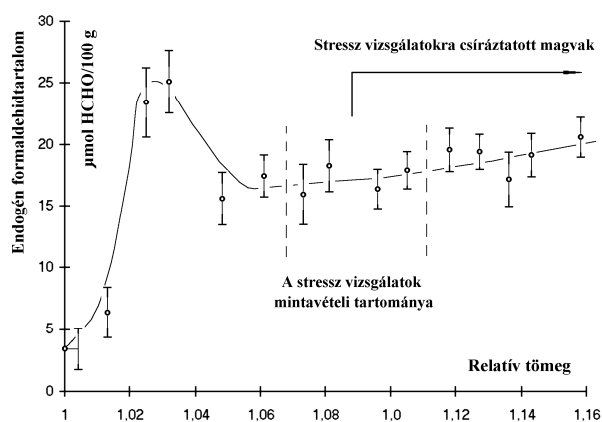
A makk imbibicióban a katalázaktivitás és az endogén formaldehidtartalom ellentétes irányban változik (30. ábra). Az endogén formaldehidtartalom emelkedése a sziklevek redukciós potenciáljának csökkenése mellett valósul meg [222]. A változások tendenciájában tapasztalható kapcsolat ellenére erős statisztikai korreláció nem értelmezhető a két paraméter között.

A katalázaktivitás csökkenését nem csak a demetilezés fokozódása, hanem egyéb hidrogén-peroxid szubsztrátú metabolizmusok (pl. a szénhidrátok oxidációja) együttesen indukálják. A demetilezés intenzívebbé válása a katalázaktivitás csökkenéséhez hozzájárul.



**30. ábra** A duzzadás hatása az endogén formaldehidtartalomra és a katalázaktivításra

A vezérelt transzmetilezési mechanizmusok eredményeként fiziológias ill. stressz indukciós állapotváltozásokban az endogén formaldehidtartalom periodikus ingadozása kimutatható [192, 223]. A duzzadást kísérő periodikus változás feltérképezéséhez a Shannon-féle mintavételi törvény [224] alapján csíráztatási kísérletet végeztünk. 1 % tömegnövekedési mintavételi lépésként meghatároztuk az endogén formaldehidtartalom változását (31. ábra). A Shannon-féle mintavételi szabály alapján megállapítottuk, hogy a duzzadás kezdeti szakaszában az endogén formaldehidtartalom  $\lambda \geq 2 \cdot 1\%$  jellemző tömegnövekedési periodicitás (frekvencia  $\geq 1/\lambda$ ) tartományban ingadozik. A sziklevek endogén formaldehid tartalma a relatív tömeg (RT) függvényében 2-3 %-os tömegnövekedésig meredeken emelkedik, utána csökken, 7-12 % -nál állandósul, majd ismét emelkedik (31. ábra).



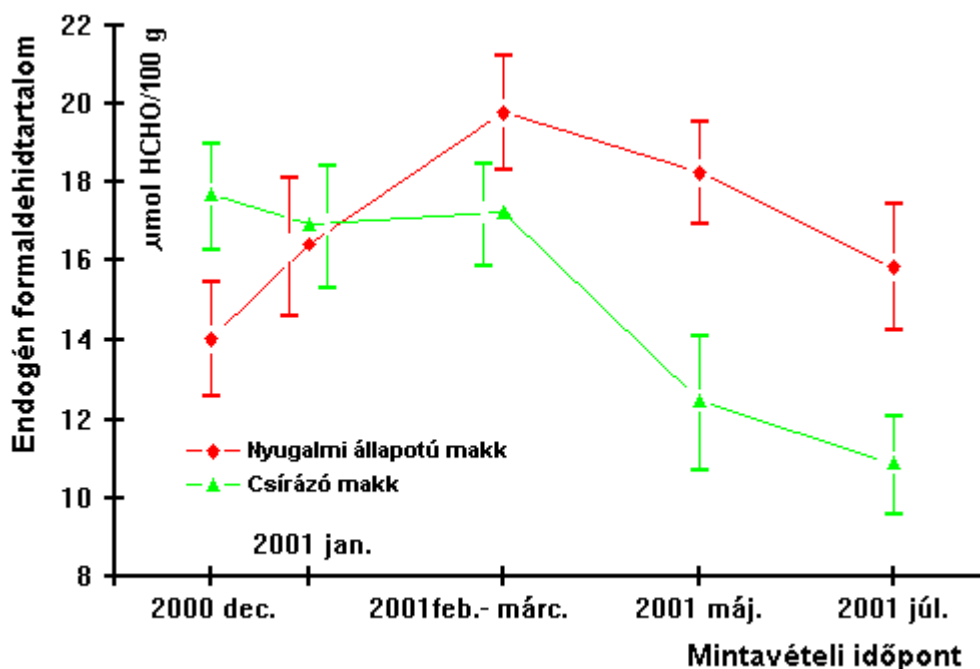
**31. ábra** Az endogén formaldehid tartalma változása csertölgy makk csírázásának korai szakaszában

A duzzadásnál tapasztalt endogén formaldehidtartalom változást stresszvizsgálatok tervezéséhez is felhasználtuk. Stressz kísérleteinkhez csíráképes, 10 % tömegnövekedésű (közel azonos formaldehidtartalommal rendelkező) magvakat válogattunk ki, így az endogén formaldehidtartalom meghatározás szórását csökkentettük. (A csíráképes, kb. 10 %-os tömegnövekedésű makk esetében a gyököcske kifejlődése megfigyelhető.)

### 6.3. A tárolás hatása a szaporítóanyagra

A ciklikusan jelentkező, jó termésből származó makk kezelésével és tárolásával régóta foglalkoznak a szakemberek. A begyűjtéstől az őszi, ill. tavaszi vetésig tartó tárolás, kezelés sokféle módja ismert, ezek maximum 6-8 hónapig tartó életképesség megőrzést biztosítanak. A feltárt élettani folyamatok alapján az utóbbi évtizedekben a tárolás biztonságosabbá vált, az alkalmazott tárolási megoldásokat a makk gázcsereje és vízvesztése alapján minősítették [225, 226]. Kimutatták, hogy a nyugalmi állapotú makk intenzív légzést végez és a vízvesztésre is érzékeny. A jelentős minőségromlás nélküli, alacsony hőmérsékletű (0-10 °C) tárolás alapfeltétele a szikkasztott makk gázcserejének biztosítása és nedvességtartalmának kb. 35-40 % közötti értéken tartása.

A tárolás formaldehid ciklusra gyakorolt hatásának vizsgálatához hűtőkamrában, 1 °C-on és 100 % relatív páratartalom mellett tárolt csermakkot használtunk. A 2000 december és 2001 július közötti időszakban meghatároztuk a nyugalmi állapotú (hűtőkamrában tárolt) és 10 % tömegnövekedésig csíráztatott makk endogén formaldehid tartalmát (32. ábra).



32. ábra A tárolás hatása a nyugalmi állapotú és a csíráztatott csermakk endogén formaldehid tartalmára

A nyugalmi állapotú makk endogén formaldehid tartalma a vegetációs időszak kezdetéig emelkedik, majd azt követően csökken. A csíráztatott makk esetében márciusig - az alkalmazott analitikai módszerrel - nem érzékelhető az endogén formaldehidszint szignifikáns változása. Értéke júliusra szignifikánsan lecsökkent.

Mérési eredményeink értékelésénél meg kell említenünk azt a tapasztalatot, hogy a 2000. év őszen begyűjtött csermakk termés mennyisége, a megelőző évekhez viszonyítva országosan kiugróan alacsony volt. A termés volumenének nagymértékű csökkenése valószínűleg az 1998. és az 1999. évek aszályos nyarainak, a szárazság stresszhatásának tulajdonítható. Feltehetően ezzel magyarázható az a tapasztalat, hogy az előző években mért endogén formaldehid tartalmaknál a begyűjtött makk tételt már nyugalmi állapotban is jelentősen magasabb endogén formaldehid értékek jellemzik. A környezeti hatások által megemelt endogén formaldehid tartalmak ellenére tendenciaként megállapítható, hogy a nyugalmi állapotú makk a vegetáció kezdetekor maximális endogén formaldehidképző potenciállal rendelkezik. A tavaszi vetésen túli tárolás során az endogén formaldehidszint csökken, ami a hosszabb időtartamú maktárolás alatt bekövetkező minőség csökkenéssel kapcsolatban lehet.

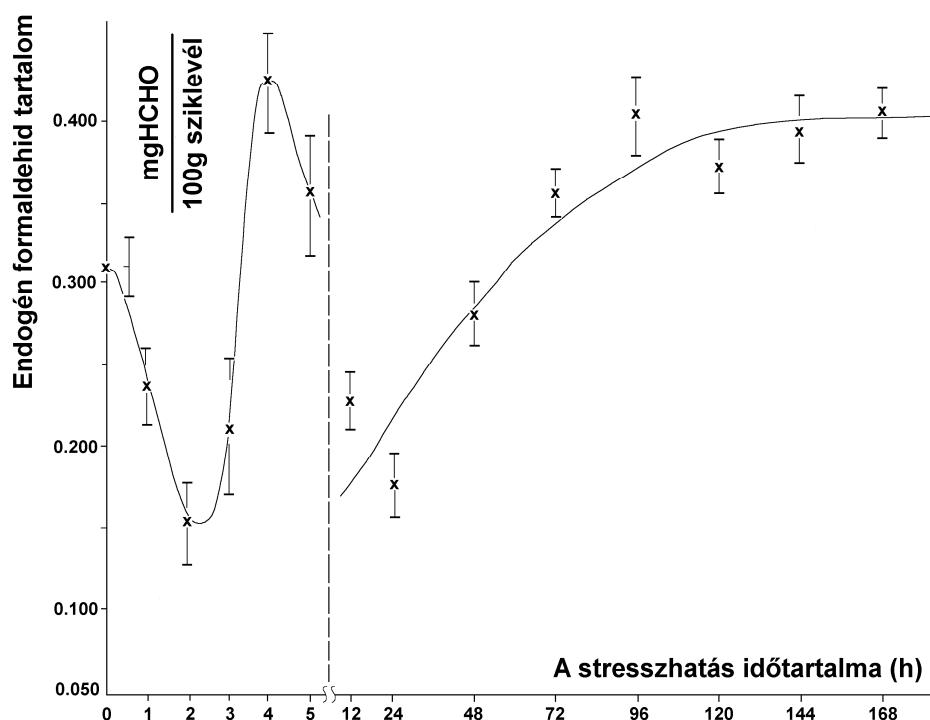
#### 6.4. A stresszhatás

A kiszáradásra és a relatív oxigénhiányra érzékeny makk életképességének megőrzésére számos tárolási technológiát (polietilén zacskós, halomban, prizmában, rakatban, veremben, magkunyhóban ill. hűtőkamrában való tárolás, stb.) alkalmaznak [226-228]. Ezek közös sajátossága a makk egyenletes gázcseréjének és nedvességtartalmának adott határok között tartása. A környezet paramétereinek (hőmérséklet, levegő páratartalma, szélsebesség, stb.) hirtelen változásából eredő stresszhatás nem zárható ki teljesen sem a természetes körülmények között áttelelő, sem a tárolt makk tételek esetében (pl. magkunyhó és rakat). A korai fagy, gyors felmelegedés, az esős és a száraz, szeles időszakok a nyugalmi állapotú makk élettani folyamatait zavarhatják. A növényi rezisztencia aktiválása feltételezhető a makk tételek kezelésénél is. A terméshéj növényvédő szerekkel történő sterilizálásánál a sérült, repedt terméshéjú makk sziklevei a hatóanyagokat abszorbeálhatják. A sziklevek penészesedésének visszaszorítására alkalmazott vizes közegű hőkezelés (41 °C) hősokkot válthat ki. A repedt héjúak gyorsabb ütemű vízvesztése a szárazság elleni rezisztenciát indukálhatja. A tárolt makkot a leg gondosabb tárolási-kezelési eljárások alkalmazása ellenére számos stresszt okozó hatás érheti. Ezek és a környezet katabolitikus folyamataiban keletkező bomlástermékek közvetlen hatást fejthetnek ki a nyugalmi állapotú és csírázó makk egyedek formaldehid ciklusára.

Általunk leggyakoribbnak ítélt abiotikus környezeti hatások (hideg- és hősokk, szárazság ill. a formaldehid ciklus metabolitok által bekövetkező zavarása) transzmetilezésre gyakorolt hatását elsősorban az endogén formaldehidtartalom változásával jellemeztük. Vizsgálatainkban megállapítottuk, hogy a különböző környezeti hatásoknak kitett makk endogén formaldehid tartalma determinisztikusan követi a *Selye-féle stressz-szindróma fázisait*.

### 6.4.1. A hidegsokk

Terméshéjuk eltávolítása után, a 10 % relatív tömegnövekedésig csíráztatott csertölgy makkok 2-3 órás időtartamú hideg sokk ( $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) hatására endogén formaldehid tartalmukat a kiindulási állapot felére csökkentik [229]. Helyi minimum elérése után a formaldehid szint a kontrollt jóval meghaladó értéken maximumot ér el, majd értéke csökken (33. ábra).

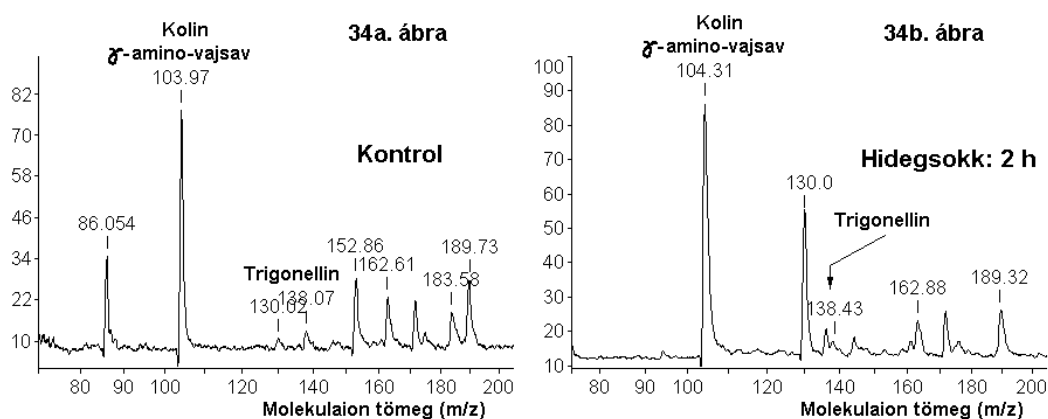


**33. ábra** Hidegsokk hatása a csírázó csertölgy magvak endogén formaldehid tartalmára [230]

A biotikus stressz alarm fáziséhoz hasonlóan [192], de ellentétes kitéréssel **a formaldehid tartalom oszcillál**; néhány nap elteltével, a rezisztencia tartományban a kiindulásinál magasabb értéken állandósul.

A fagyasztott makk kontrol állapotát és alarm fázisát eltérő MALDI spektrumok jellemzik. A kolin, a  $\gamma$ -amino-vajsav és a trigonellin jelenlétét a 104 és 138 molekulaion tömegű csúcsok is tükrözik. Csúcsaik intenzitásában a hidegsokk hatása szignifikánsan nem érzékelhető. A spektrumok azonban a 86 és 130 molekulaion tömegértékeknél ( $m/z$ ) jelentősen különbözöek. A kontrol állapotban 86, az alarm fázisban 130  $m/z$  értékeknél tartalmaz nagy intenzitású csúcsokat. A két, még nem azonosított komponens molekulatömege közötti különbség 44. Abban az esetben, ha a nagyobb molekulatömegű a kisebbnek származéka, akkor feltételezhető, hogy a 86-os  $m/z$  értékű a hidegsokk hatására karboxileződik, vagy egyidejűleg metileződik és hidroximetileződik (34. ábra).

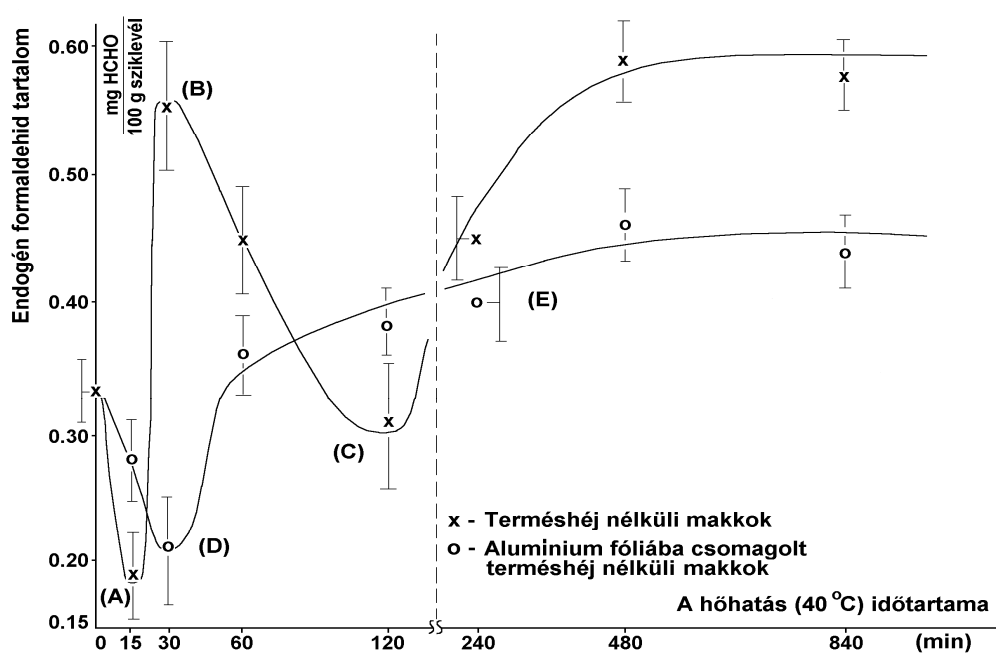




**34. ábra** Kontrol állapotú és hidegsokk alatti csírázó makk MALDI spektrumai (a - kontrol; b - két óra időtartamú hidegsokk) [229]

#### 6.4.2. A hő sokk és a szárazság

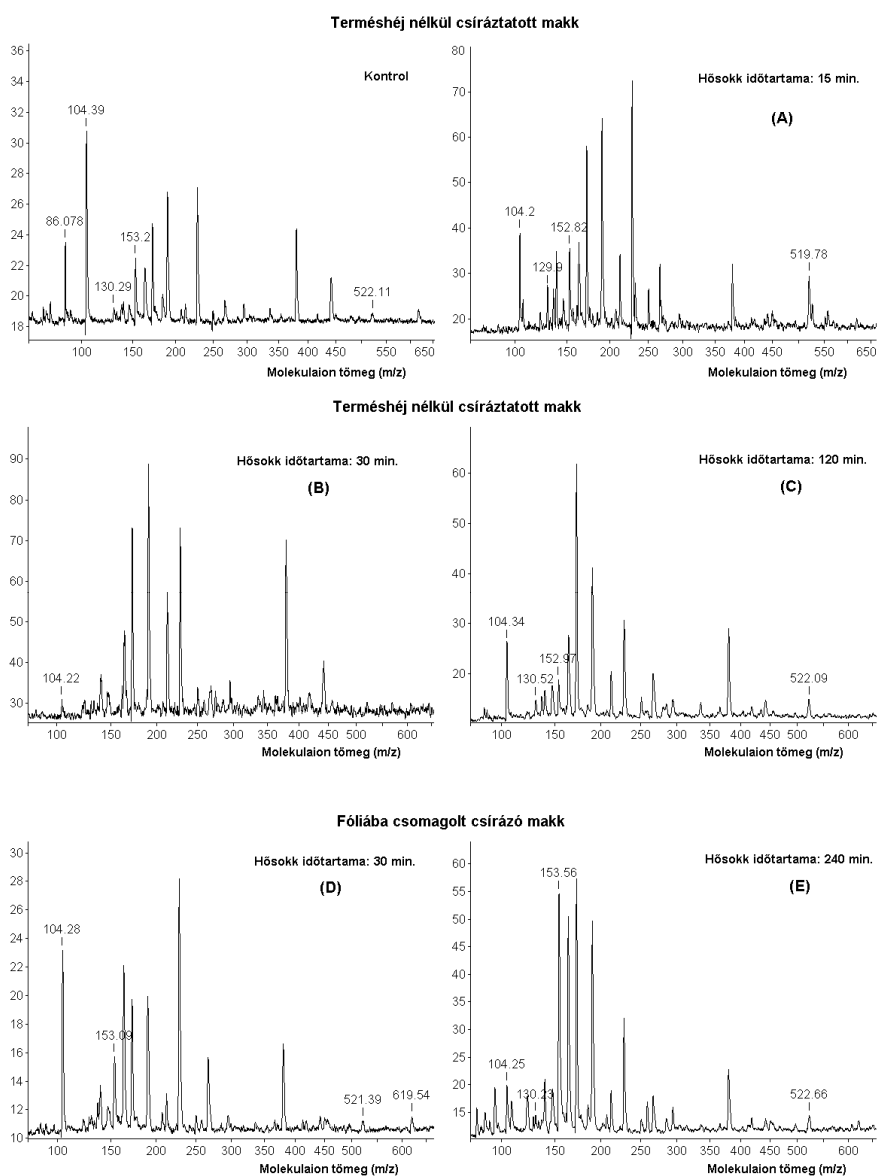
A környezetinél magasabb hőmérséklet (40 °C) esetén a terméshéj nélkül csíráztatott, majd fóliába csomagolt csertölgő makkok alarmfázisát jellemző HCHO helyi minimum (D) időben hamarabb bekövetkezik (kb. 30 perc), majd azt követően emelkedik, s néhány óra múlva a kontrollt meghaladóan állandósul [230]. (Az alumínium fólia helyettesítette a terméshéj kiszáradás gátló szerepét.) Ez a jelenség összhangban van a hő sokknak kitett babnövény vizsgálati eredményeivel [152, 191]. A fiziológiailag optimális hőmérsékletnél alacsonyabb ill. magasabb értékeknél a három órás tároláshoz tartozó formaldehid tartalmak mind a babnövény mind a csertölgő makkok esetében csökkennek ill. növekednek.



**35. ábra** Hő sokk hatása a csíráztatott csertölgő magvak endogén formaldehid tartalmára [230]

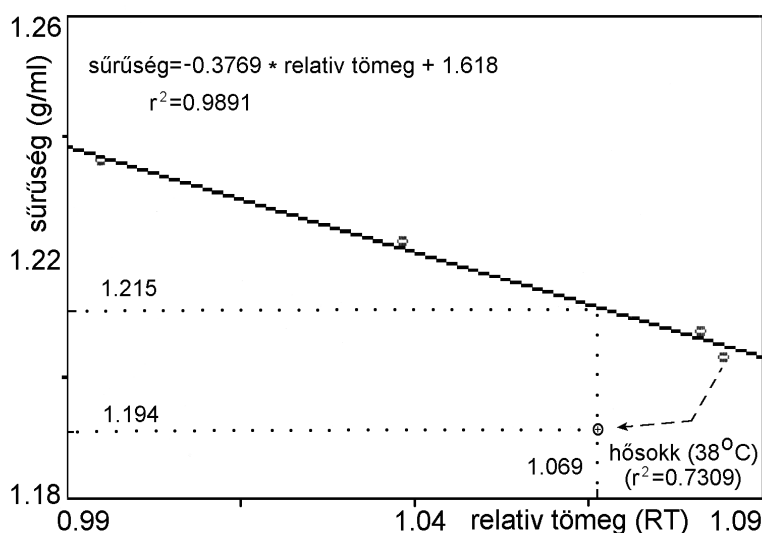
Az alumínium fólia nélkül kiváltott hősokra adott válasz az előbbieken tárgyalt esethez képest jellegében megváltozik. A formaldehid szint minimuma (A) előbb jelenik meg (15 perc), amelyet egy meredeken emelkedő maximum (B) és azután, egy második helyi minimum (C) követ. Több órás hőhatás eredményeként a formaldehid tartalom a fóliába csomagolt makkoknál magasabb szintre áll be. Az alarm reakcióban a formaldehid tartalom ez esetben is periodikusan változik. A két helyi minimum egymástól független, de a hő sokk által fáziseltéréssel kiváltott stressztényezők eredménye. Feltételezésünk alapján az első formaldehid minimum (A) a megemelt hőmérsékletre, a második (C) az egyre jelentősebbé váló vízvesztésre (kiszáradásra) adott alarmválasz. (35. ábra)

A 36. ábrán az endogén formaldehidtartalommal jellemzett állapotok MALDI spektrumai láthatók. Az egyes spektrumok között molekulaion tömegértékekben és a csúcsok intenzitásában jelentős az eltérés. A 0 - 650 m/z tartományban érzékelt, még nem azonosított anyagok spektrumbeli megjelenése és eltűnése is visszatükrözi azt a tapasztalatot, hogy a növények a környezeti hatásokra időben nagyon gyorsan válaszolnak.

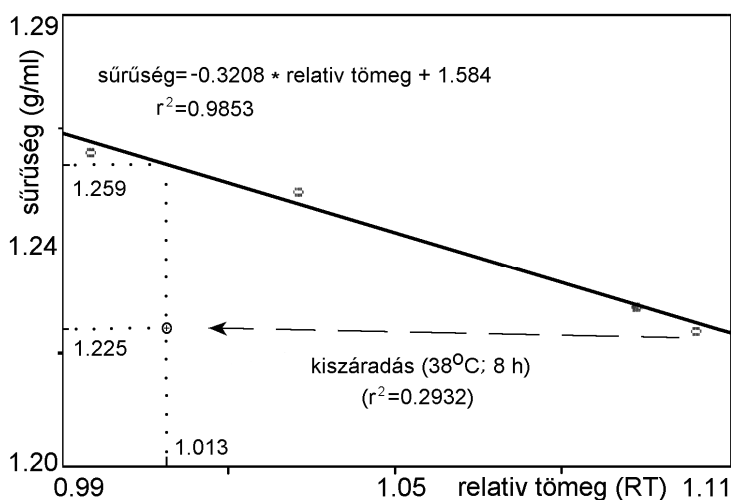


**36.ábra** Hőhatásnak kitett csírázó makk MALDI spektrumai [230]

A csírázó magvak biokémiai jellemzőinek stressz hatásra történő változása mellett a cser makk fizikai paramétereiben is szignifikáns eltéréseket tapasztaltunk. A stressz bekövetkezését megelőzően a makk csírázását összehangolt relatív tömegnövekedés és a sziklevek sűrűségcsökkenése jellemzi. A stresszesemény bekövetkezésekor a csírázó makk tömeg- és sűrűségváltozása közötti korreláció megszűnik. Stressz hatására a csírázást jellemző anyagcsere folyamatokban minőségi és sebességi változások jelennek meg. A makk szikleveleiben tárolt tápanyag egy része (pl. a szénhidrátok) a stresszhez történő alkalmazkodás miatt intenzívebben hasznosulnak. Ezért jelentősen megváltozhat, ill. megváltozik a stressz előtti állapothoz viszonyított makk szárazanyag-tartalom, majd ennek következményeként a sziklevek sűrűsége is. Adott időtartamú stressz elteltével a makk relatív tömeg-sűrűségérték párijai nem illeszkednek a csírázást fiziológiásan jellemző sűrűség-relatív tömeg egyenesekhez (37.a. és 37.b. ábrák). A sűrűség és relatív tömeg értékpár megváltozásán keresztül a csírázó makk stresszre specifikus élettani funkciókat valósít meg, ami indirekt módon bizonyítja az adott egyedek életképességét.



**37.a. ábra** Csírázó csertölgy makk sűrűség és tömeg értékeinek változása hősokk (8 h) hatására

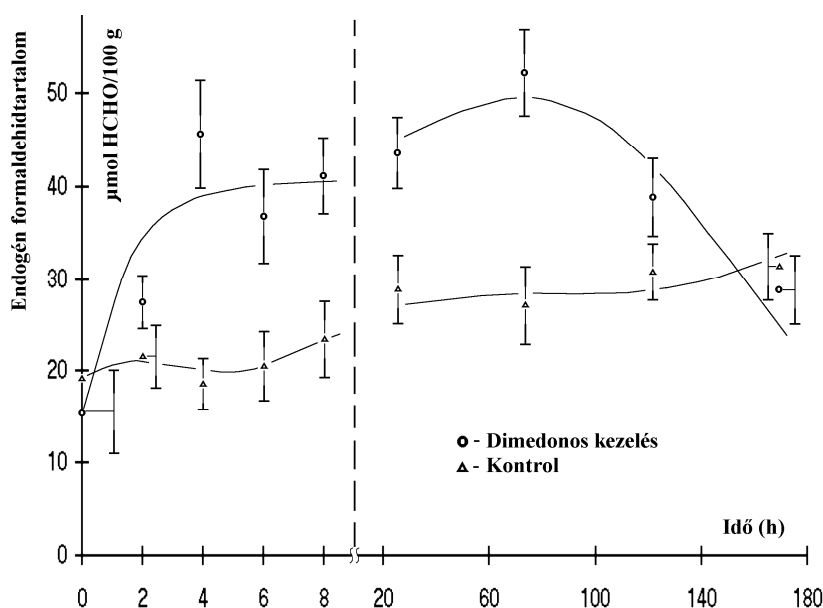


**37.b. ábra** Csírázó csertölgy makk sűrűség és tömeg értékeinek változása szárazság stressz hatására.

A kontrollként alkalmazott, embriómentes sziklevek is képesek imbibícióra, de ezek az embrió által gyakorolt szabályozási funkciók hiányában jellegzetes relatív tömeg-sűrűség értékpár eltéréseket nem adnak. Az embrió mentes életképtelen makk stressz utáni relatív tömeg-sűrűség értékpárjai nem illeszkednek a tapasztalt, duzzadást jellemző sűrűség-relatív tömeg egyenesekhez.

### 6.4.3. Dimedon stressz

A hideg- és a hősokk vizsgálatokban az endogén formaldehidtartalom változása még tisztázatlan mechanizmusoknak a következménye. Feltehetően a környezet több anyagcsere részfolyamat egyidejű zavarásának eredményeként, közvetetten gyakorolt hatást a transzmetilezésre. A formaldehid ciklus komponenseinek ill. azokkal reagáló anyagok *in vivo* alkalmazásával a transzmetilezés közvetlen módon is zavarható. A csírázó csertölgy makk formaldehid ciklusába történő közvetlen beavatkozás tanulmányozására a dimedonos kezelést választottuk. A dimedonos közegbe (állandó dózisú pufferált dimedon oldatba; dózis =  $0.501 \pm 0,004$  ml dimedon oldat/1 g terméshéj nélküli csermakk; koncentráció:  $4 \cdot 10^{-3}$  g/ml; pH = 3.30) helyezett, előzetesen 10 % tömegnövekedésig csíráztatott magvak endogén formaldehidet generáló vegyületek mennyiségét az *in vivo* jelenlévő dimedon csökkenti. A dimedon az endogén formaldehidet felszabadító, hidroximetil-csoporttal rendelkező generátorokkal formaldemeton képződése közben reagál. A fiziológiai folyamatokhoz szükséges hidroximetil-csoport készlet csökkenésének kompenzálására valószínűleg a biológiai rendszer az további N, S és O-atomokhoz kötött metil-csoportokat oxidál hidroximetil-csoportokká. Dimedon hatására megemelkedik az endogén formaldehidtartalom. A dimedonos stressz megnöveli a csírázó csertölgy makk endogén formaldehidképző potenciálját [231]. A dimedon, mint stresszor a *Datura innoxia* kallusz kultúrák stresszhatásához [193] hasonló módon növeli meg a sziklevek endogén formaldehidtartalmát.



38. ábra A dimedon hatása a csírázó csertölgy makk endogén formaldehidtartalmára

A stressz kezdetén a formaldehidtartalom emelkedik. A helyi maximum elérését követő 4. nap után a formaldehidszint lecsökken (38. ábra). A hideg- és hősokk vizsgálatokkal összevetve megállapítható, hogy a stresszt jelző formaldehidszint szélsőérték időben később jelentkezik.

## Összefoglalás

A magyarországi erdőgazdálkodás távlati fejlődését a tervezett és a folyamatban lévő erdőtelepítések biztosítják. A jövőbeli telepítési programok jelentősen növelni fogják a szaporító anyag iránti keresletet, ami az ellenőrzött, minőségi és mennyiségi csemetetermesztést előtérbe helyezi. Szükség van az államilag minősített alapanyag (mag) mennyiségi részarányának növelésére ill. a szaporító anyagok tartós, lehetőleg minőségromlás nélküli tárolására. Az őshonos állományalkotó tölgyek (és a bükk) esetében rendkívül fontos, megoldandó feladat a ciklikusan jelentkező, kiemelkedő magtermések vegetációs időszakokat átfogó, minél nagyobb hatékonyságú, a csíra- és az életképesség megőrzését biztosító tárolási módszerek kidolgozása ill. alkalmazása.

Az enzimekatalizált szubsztitúciós reakciók csoportjába tartozó transzmetilezés a növényi és az állati sejtek közös, általános sajátága. A metilezési-demetilezési folyamatokban számos kulcsfontosságú metabolit és makromolekuláris összetevő vesz részt. A DNS, RNS, fehérjék, metabolitok és egyéb kis molekulatömegű anyagok metilezése áttételesen hatással van a gének aktivitására, a riboszómák hatékonyságára, a makromolekulák fiziko-kémiai sajátosságaira, térszerkezetére, stabilitására ill. a közöttük kialakuló kölcsönhatásokra, az enzimek és szubsztrátjaik biológiai aktivitására, stb. A biológiailag aktív anyagok metil-csoportjainak transzfere a formaldehid cikluson keresztül endogén formaldehid közti termék keletkezése közben valósul meg. A formaldehid ciklus paramétereinek (endogén formaldehidképző potenciál, donorok, akceptorok ill. metilezett termékek minősége és mennyisége, stb.) változásán keresztül a sejtek transzmetilezési folyamatait a környezeti hatások érzékenyen befolyásolják. Az endogén formaldehid mérésével a transzmetilezésben bekövetkező változás nyomon követhető. Az endogén formaldehidtartalom változása követi a stressz-szindróma fázisait.

**1.** Kísérleteink tervezéséhez tanulmányoztuk a formaldehid és a dimedon ad-duktképző reakcióját. A reakcióban keletkező származék vegyület (formaldemeton) elválasztására egy fordított fázisú folyadékkromatográfiás elválasztást (RP-HPLC) dolgoztunk ki. Ez az új analitikai módszer - az egyedfejlődési állapotoktól függetlenül - alkalmasnak bizonyult a nyugalmi állapotú és a csírázó csermakk formaldehidtartalmának gyors és pontos meghatározására.

A metanolos mintaelőkészítés (dimedon formaldehid generátorokkal, metanolban végbemenő reakciója) kinetikai modellezésével kimutattuk, hogy a mintaelőkészítési reakció másodrendű kinetikát követ, de a vizes közegtől eltérő sebességi állandó értékek mellett. A metanol jelenléte, a vizes közegben tapasztalathoz képest a reakció mechanizmusát nem módosítja. Meghatároztuk a mintaelőkészítés pH-tól és koncentrációtól függő analízis idejét.

**2.** Módszert dolgoztunk ki a sziklevel extraktum kis molekulatömegű, formaldehid generátorokat is magában foglaló komponenseinek MALDI analízisére.

**3.** A csíráztatási kísérletekben a makk tömege és sűrűsége között lineáris függvénykapcsolatot tapasztaltunk. A csírázás makktömegekre gyakorolt hatásának vizsgálatában megállapítottuk, hogy a makk egyedfejlődésére mérettől független, fajlagos vízfelvétel jellemző. A tömegnövekedés és az azt kísérő sűrűségcsökkenés lineáris korrelációja azt jelzi, hogy az egységnyi relatív tömegnövekedésre eső sűrűségcsökkenés a csírázó csertölgy makk általános biológiai sajátossága. Bizonyítottuk, hogy a csertölgy makk csírázását kísérő fizikai tulajdonságok determinisztikus változása a biológiai rendszer lényegéből fakad. Ezen felismerés alapján az egyedfejlődési állapotokat **relatív tömeg** (nyugalmi állapothoz viszonyított tömeg) és **sűrűség** értékekkel definiáltuk. Értékeik egyértelműen jellemzik a csírázási állapotot. A csírázó csertölgy makk tömege és sűrűsége alapján tervezett mintavétellel az azonos fejlődési állapotú makkegyedek kiválaszthatók. Ily módon a csíráztatási kísérletek egymással statisztikailag összevethetők.

Az egyedfejlődési állapot relatív tömeg és sűrűség értékekkel történő definiálása lehetővé tette az endogén formaldehidtartalomban környezeti hatásokra bekövetkező periodikus változáson (ciklikus) leképezését és bizonyítását.

**4.** Az endogén formaldehid tartalmának emelkedésén keresztül megállapítottuk, hogy a csíranövény szöveti struktúráinak kialakulását a demetilezési folyamatok aktivitás-növekedése jellemzi.

A makk imbibicióban a kataláz aktivitás és az endogén formaldehidtartalom ellentétes irányban változik. Az endogén formaldehidtartalom emelkedése a sziklevelek kataláz aktivitásának csökkenése mellett valósul meg. A változások tendenciájában tapasztalható kapcsolat ellenére erős statisztikai korreláció nem értelmezhető a két paraméter között. A kataláz aktivitás csökkenését nem csak a demetilezés fokozódása, hanem egyéb hidrogén-peroxid szubsztrátú metabolizmusok (pl. a szénhidrátok oxidációja) együttesen indukálják. A demetilezés intenzívebbé válása hozzájárul a redukciós potenciál csökkenéséhez.

**5. A tárolás hatásának vizsgálatában** azt tapasztaltuk, hogy a nyugalmi állapotú makk endogén formaldehid tartalma a vegetációs időszak kezdetéig emelkedik, majd azt követően csökken. A csíráztatott makk esetében márciusig - az alkalmazott analitikai módszerrel - nem érzékelhető az endogén formaldehidszint szignifikáns változása. Ezt követően értéke júliusra szignifikánsan lecsökken.

Tendenciaként megállapítható, hogy a nyugalmi állapotú makk a vegetáció kezdetekor maximális endogén formaldehidképző potenciállal rendelkezik. A tavaszi vetésen túli tárolás során az endogén formaldehidszint csökken, ami a hosszabb időtartamú makktárolás alatt bekövetkező minőség csökkenéssel kapcsolatban lehet.

**6. Hidegsokk hatására,** a biotikus stressz alarm fázisához hasonlóan, de ellentétes kitéréssel a csermakk endogén formaldehidtartalma oszcillál, majd néhány nap elteltével, a rezisztencia tartományban a kiindulásinál magasabb értéken állandósul.

**7. Több órás hőhatás** eredményeként az endogén formaldehidtartalom a terméshéj nélküli, fóliába csomagolt makkoknál magasabb szintre áll be. Az alarm reakcióban a formaldehid tartalom ez esetben is periodikusan változik.

Az endogén formaldehidtartalom alarm fázisban jelentkező két helyi minimuma egymástól független, de a hőterhelés által fáziseltéréssel kiváltott stressztényezők eredménye. Feltételezésünk alapján az első formaldehid minimum a megemelt hőmérsékletre, a második az egyre jelentősebbé váló vízvesztésre (kiszáradásra) adott alarm-válasz. A csírázó magvak biokémiai jellemzőinek stressz hatására történő változása mellett a cser makk fizikai paramétereiben is szignifikáns eltéréseket tapasztaltunk. A stressz bekövetkezését megelőzően a makk csírázását összehangolt relatív tömegnövekedés és a sziklevek sűrűségcsökkenése jellemzi. A stresszesemény bekövetkezésekor a csírázó makk tömeg- és sűrűségváltozása közötti korreláció megszűnik.

**8. Dimedon hatására** (kémiai stressz) megemelkedik az endogén formaldehid tartalom. A dimedon *in vivo* dózisára a sziklevekben a demetiláz fokozódik. A dimedonos stressz megnöveli a csírázó csertölgy makk endogén formaldehidképző potenciálját.

**9.** Saját és szakirodalmi ismeretek alapján megállapítható, hogy stressz hatására felborul a növények formaldehid ciklusát vezérlő demetiláz és metiláz enzimek működésének összhangja. Az időkéseletetés nélküli stresszválaszban a demetiláz vagy a metiláz folyamatok válnak meghatározóvá. A ciklus folyamatdinamikájának stressztényezők általi zavarása előidézi a metil-donorok és akceptorok koncentrációjának jelentős változását és az endogén formaldehidtartalom periodikus ingadozását. Így a csíranövényeket érő stressz leképezhető a ciklus jellemzők (demetiláz-metiláz aktivitás, metil-donorok és akceptorok, endogén formaldehid képző potenciál) összehangolt mérésén keresztül.

A fluktuáló formaldehidtartalomban mutatkozó amplitúdó konvergencia vagy divergencia információt szolgáltat a növények stressztűrő képességéről. A formaldehidszint növekvő amplitúdójú oszcillációja azt jelzi, hogy a sejtek a belső szabályozási mechanizmusokkal egyre nehezebben képesek irányítani a transzmetilázási folyamatokat.

**Kísérleti eredményeinkből következik, hogy az imbibíció alatti makk életképességéről kémiai és fizikai paraméterek mérésén keresztül is információ nyerhető. A csírázó makk biokémiai és fizikai jellemzőinek tapasztalt determinisztikus változása új, alternatív, csíráképeségi-életképességi vizsgálat alapját képezheti.**

## Irodalom

1. **W.K. Paik, E. Polastro, S. Kim**, Cytochrome *c* methylation: enzymology and biologic significance, in *Current Topics in Cellular Regulation*, **16**, B.L. Horecker, E.R. Stadtman, Eds., Academic Press, New York, 1980.
2. **O.M. Rosen, E.G. Krebs**, in *Protein Phosphorylation*, **8**, Cold Spring Harbor Laboratories, Cold Spring Harbor, 1981.
3. **R.C. Hughes**, in *Glycoproteins*, Chapman and Hall, New York, 1983.
4. **R.P. Ambler, M.W. Rees**,  $\epsilon$ -*N*-Methyl-lysine in bacterial flagellar protein, *Nature (London)*, **184**, (1959), 56.
5. **I.K. Park, W.K. Paik**, The Occurrence and Analysis of Methylated Amino Acids, in *Protein Methylation*, W.K. Paik, S. Kim, Eds., CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, 1990, 1.
6. **E. Tyihák, G. Blunden, Y. Ma**, Quantitative estimation of betaines in commercial seaweed extracts using over pressured layer chromatography, *J. Appl. Phycol.*, **6**, (1994), 469.
7. **B. Gersbeck, F. Schönbeck, E. Tyihák**, Measurement of formaldehyde and its main generators in *Erysiphe graminis* infected barley plants by planar chromatographic techniques, *J. Planar. Chromatogr.*, **2**, (1989), 86.
8. **K. Murry**, The Occurrence of  $N^{\epsilon}$ -methyl-lysine on histones, *Biochemistry*, **3**, (1964), 10.
9. **R. J. DeLange, D.M. Fambrough, E.L. Smith, J. Bonner**, Calf and pea histone IV: comparison with the homologous calf thymus histone, *J. Biol. Chem.*, **244**, (1969), 5669.
10. **W.K. Paik, S. Kim**,  $\epsilon$ -*N*-Dimethyllysine in histones, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **27**, (1967), 479.
11. **L. Samson, J. Cairns**, A new pathway for DNA repair in *Escherichia coli*, *Nature*, **267**, (1977), 281.
12. **P. Karran, T. Lindahl**, Adaptive response to alkylating agents involves alteration in situ of  $O^6$ -methylguanine residues in DNA, *Nature*, **280**, (1979), 76.
13. **J.A. Duerre, C.T. Lee**, *In vivo* methylation and turnover of rat brain histones, *J. Neurochem.*, **23**, (1974), 541.
14. **T. Tidwell, V.G. Allfrey, A.E. Mirsky**, The methylation of histones during regeneration of the liver, *J. Biol. Chem.*, **243**, (1968), 707.
15. **H.W. Lee, W.K. Paik**, Histone methylation during hepatic regeneration in rat, *Biochim. Biophys. Acta*, **277**, (1972), 107.
16. **W.K. Paik, S. Kim**, Protein methylase I, *J. Biol. Chem.*, **243**, (1968), 2108.
17. **M.T. Tuck, J.Z. Farooqui, W.K. Paik**, Two histone H1-specific protein-lysine *N*-methyltransferase from *Euglena gracilis*. Purification and characterization, *J. Biol. Chem.*, **260**, (1985), 7114.
18. **J. Valentine, G.W. Pettigrew**, A cytochrome *c* methyltransferase from *Crithidia oncopelti*, *Biochem. J.*, **201**, (1982), 329.
19. **S. Clarke**, Protein carboxyl methyltransferases: two distinct classes of enzymes, *Annu. Rev. Biochem.*, **54**, (1985), 419.
20. **B. Demple, A. Jacobsson, M. Olsson, P. Robins, T. Lindahl**, Repair of alkylated DNA in *Escherichia coli*. Physical properties of  $O^6$ -methylguanine - DNA-methyltransferase, *J. Biol. Chem.*, **257**, (1982), 13776.



21. **E. Tyihák**, Is there a formaldehyde cycle in biological systems? in *Proc. 2<sup>nd</sup> Int. Conf. on the Role of Formaldehyde in Biological Systems*, eds. E. Tyihák and G. Gullner, SOTE Press, Budapest, 1987, 155.
22. **J. L. Manchester, S. L. Chemaly**, S-adenosyl-methionine and ammonium compounds in biochemistry, *South Afr. J. Sci.*, **79**, (1983) 442.
23. **E. Tyihák, L. Albert, Zs. I. Németh, Gy. Kátay, Zs. Király-Véghely, B. Szende**, Formaldehyde cycle and the natural formaldehyde generators and captures, *Acta Biologica Hungarica*, **49** (2-4), (1998) 225.
24. **G.L. Kedderis, P.F. Hollenberg**, Peroxidase Catalysed N-demethylation Reactions, *J. Biol. Chem.*, **259**, (1983), 663.
25. **E. Tyihák, B. Szende, K. Lapis**, Biological Significance of Methylated Derivatives of Lysine and Arginine, *Life Sci.*, **20**, (1977), 385.
26. **E. Tyihák, J. Balla, R. Gáborjányi, E. Balázs**, Increased Formaldehyde Level in Crude Extract of Virus Infected Hypersensitive Tobaccos, *Acta Phytopathol. Acad. Sci. Hung.*, **13**, (1978), 29.
27. **E. Tyihák, L. Trézl, I. Rusznák**, Spontaneous N-Methylation of L-lysine by Formaldehyde, *Pharmazie*, **35**, (1980), 18.
28. **E. Tyihák, L. Trézl, P. Kolonits**, The Isolation of N-formyl-L-lysine and its Identification by OPLC and NMR Spectroscopy, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **3**, (1985), 343.
29. **C. Kozmutza, E. M. Evleth, L. Trézl**, Theoretical Investigation of the Reaction of CH<sub>2</sub>O with Arginine, *Coll. Abstr. of "Stress of Life: Stress and Adaptation from Molecules to Man". International Congress*, Budapest, July 1-5., (1988), 182.
30. **S. Huszti, E. Tyihák**, Formation of Formaldehyde from S-adenosyl-L-(methyl-<sup>3</sup>H) methionine during Enzymatic Transmethylation of Histamine, *FEBS Letters*, **209**, (1986), 362.
31. **É.Sárdi, E.Tyihák**, Simple determination of formaldehyde in dimedone adduct form in biological samples by high performance liquid chromatography, *Biomed.Chromatogr.*, **8**, (1994), 313.
32. **E. Tyihák, É. Szőke**, Measurement of formaldehyde and some fully N-methylated substances in tissue cultures of *Datura innoxia*, *Plant Growth Regulation*, **20**, (1996), 317.
33. **L. Stryeer**, *Biochemistry*, 3th ed., V. H. Freeman & Co., New York, 1988, 614.
34. **L. Stryeer**, *Biochemistry*, 3th ed., V. H. Freeman & Co., New York, 1988, 678.
35. **J. Darnell, H. Lodish, D. Baltimore**, *Molecular cell biology*, Scientific American Books, New York, 1986, 511.
36. **L. Stryeer**, *Biochemistry*, 3th ed., V. H. Freeman & Co., New York, 1988, 713.
37. **M. S. N. Khan, M. Salim, B. E. H. Maden**, Extensive homologies between the methylated nucleotide sequences in several vertebrate rRNAs, *Biochem. J.*, **169**, (1978), 531.
38. **L. Stryeer**, *Biochemistry*, 3th ed., V. H. Freeman & Co., New York, 1988, 740.
39. **L. Stryeer**, *Biochemistry*, 3th ed., V. H. Freeman & Co., New York, 1988, 720.
40. **I.K. Park, W.K. Paik**, The occurrence and analysis of methylated amino acids, in *Protein Methylation*, eds.: W.K. Paik and S. Kim, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1990, 1.
41. **G. H. Dixon, E.P.M. Candido, B. M. Honda, A. J. Louie, A. R. Macleod, M. T. Sung**, The biological roles of post-synthetic modifications of basic nuclear proteins, *Ciba Found. Symp.*, **28**, (1975), 229.

42. **B. M. Honda, G. H. Dixon, E.P.M. Candido**, Sites of *in vivo* histone methylation in developing trout testis, *J. Biol. Chem.*, **250**, (1975), 8681.
43. **R. J. DeLange, J. A. Hooper, E. L. Smith**, Histone III. III. Sequence studies on the cyanogen bromide peptides, complete amino acid sequence of calf thymus histone III., *J. Biol. Chem.*, **248**, (1973), 3261.
44. **J. A. Hooper, E. L. Smith, K. R. Sommer, R. Chalkley**, Histone III. VI. Amino acid sequence of histone III. of the testes of the carp, *Letiobus bubalus*, *J. Biol. Chem.*, **248**, (1973), 3275.
45. **J. A. Duerre, H. R. Buttz**, Histone methylation and gene regulation, in *Protein Methylation*, eds. W. K. Paik and S. Kim, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1990, 125.
46. **R. Desrosiers, R. M. Tanguay**, Methylation of *Drosophila* histone at proline, lysine and arginine residues during heat shock, *J. Biol. Chem.*, **163**, (1988), 4686.
47. **L. Bohm, C. Crane-Robinson**, Proteases as structural probes for chromatin: the domain structure of histones, *Biosci. Rep.*, **4**, (1981), 365.
48. **L. Bohm, G. Briand, P. Sautiere, C. Crane-Robinson**, Proteolic digestion studies of chromatin core-histone structure: identification of the limit peptides of histones H3 and H4., *Eur. J. Biochem.*, **119**, (1981), 67.
49. **E. Kaltschmidt, H. G. Wittman**, Ribosomal proteins. VII. Two dimensional gel electrophoresis fingerprinting of ribosomal proteins, *Anal. Biochem.*, **36**, (1970), 401.
50. **J. Lhoest, C Colson**, Ribosomal protein methylation, in *Protein Methylation*, eds. W. K. Paik and S. Kim, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1990, 155.
51. **S. Kim, B. Lew, F. N. Chang**, Enzymatic methyl esterification of *Escherichia coli* ribosomal protein, *J. Bacteriol.*, **130**, (1977), 839.
52. **C. Terhorst, W. Möller, R. Laursen, B. Wittman-Liebold**, The primary structure of an acidic protein from 50S ribosomes of *Escherichia coli* which is involved in GTP hydrolysis dependent on elongation factor G and T., *Eur. J. Biochem.*, **34**, (1973), 138.
53. **R. Chen, J. Brosius, B. Wittman-Liebold, W. Schäfer**, Occurrence of methylated amino acids as N-termini of proteins from *Escherichia coli* ribosomes, *J. Mol. Biol.*, **11**, (1977), 173.
54. **T. A. Muranova, A. V. Muranov, L. F. Markova, Y. A. Ovchinnikov**, The primary structure of ribosomal protein L3 from *Escherichia coli* 70S ribosomes, *FEBS Lett.*, **96**, (1978), 301.
55. **M. J. Dognin, B. Wittman-Liebold**, The primary structure of L11, the most heavily methylated protein from *Escherichia coli* ribosomes, *FEBS Lett.*, **84**, (1977), 342.
56. **J. Lhoest, Y. Lobest, E. Costers, C. Colson**, Methylated proteins and amino acids in the ribosomes of *Saccharomyces cerevisiae*, *Eur. J. Biochem.*, **141**, (1984), 585.
57. **M. Reporter**, Methylation of basic residues in structural proteins, *Mech. Age. Adv.*, **1**, (1973), 114.
58. **M. Klagsbrun, A. V. Furano**, Methylated amino acids in the proteins of bacterial and mammalian cells, *Arch. Biochem. Biophys.*, **172**, (1975), 468.
59. **N. J. Coppard, B. F. C. Clark, F. Cramer**, Methylation of elongation faktor 1 $\alpha$  in mouse 3T3B and 3T3B/SV40 cells, *FEBS Lett.*, **164**, (1983), 330.

60. **R. Amons, W. Pliujms, K. Roobol, W. Möller**, Sequence homology between EF-1 $\alpha$ , the chain of elongation factor 1 from *Artemia salina* and elongation factor EF-Tu from *Escherichia coli*, *FEBS Lett.*, **153**, (1983), 37.
61. **R. M. Kamp, B. R. Srinivasa, K von Knoblauch, A. R. Subramanian**, Occurrence of a methylated protein in chloroplast ribosomes, *Biochemistry*, **26**, (1986), 5866.
62. **J. H. Alix, D. Hayes, J. F. Lontie, C. Colson, A. Glatigny, F. Lederer**, Methylated amino acids in ribosomal proteins from *Escherichia coli* treated with ethionine and from a mutant lacking methylation of protein L11, *Biochemie*, **61**, (1979), 671.
63. **J. Pichon, J. Marvaldi, G. Marchis-Mouren**, The *in vivo* order of protein addition in the course of *Escherichia coli* 30S and 50S subunit biogenesis, *J. Mol. Biol.*, **96**, (1975), 125.
64. **U. Fabian**, Identification of proteins located in the neighborhood of the binding site for the elongation factor EF-Tu on the *Escherichia coli* ribosomes, *FEBS Lett.*, **71**, (1976), 256.
65. **F. N. Chang**, Temperature-dependent variation in the extent of methylation of ribosomal proteins L7 and L12 in *Escherichia coli*, *J. Bacteriol.*, **135**, (1978), 1165.
66. **F. N. Chang, C. Buszilowicz**, Groth temperature dependent variation in the methylation of ribosomal proteins in *Escherichia coli*, in *Transmethylation*, eds. E. Usdin, R.T. Borhardt and C. R. Creveling, Elsevier, Holland, 1979, 573.
67. **F. N. Chang, I. J. Navickas, C. Au, C. Budzilowicz**, Identification of the methylated ribosomal proteins in HeLa cells and the fluctuations of methylation of methylation during the cell cycle, *Biochim. Biophys. Acta*, **518**, (1978), 89.
68. **C. J. Goldenberg, G. L. Eliceiri**, Methylation of ribosomal proteins in HeLa cells, *Biochim. Biophys. Acta*, **479**, (1977), 220.
69. **F. L. Siegel, P. L. Vincent, T. L. Neal, L. S. Wright, A. A. Heth, P. M. Rowe**, Calmodulin and protein methylation, in *Protein Methylation*, eds. W. K. Paik and S. Kim, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1990, 33.
70. **W. Y. Cheung**, Calmodulin plays a key role in cellular regulation, *Science*, **207**, (1980), 213.
71. **P.R. Vuillet**, Direct activation of tyrosine hydrolase by calmodulin, *Proc. West. Pharmacol. Soc.*, **28**, (1985), 27.
72. **R. J. DeLorenzo**, Calmodulin in neurotransmitter release and synaptic function, *Fed. Proc.*, **41**, (1982), 2265.
73. **C. O. Brostrom, Y. C. Huang, B. M. Breckenridge, D. J. Wolf**, Identification of a calcium-binding protein as a calcium-dependent regulator of brain adenylate cyclase, *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, **74**, (1975), 64.
74. **J. Darnell, H. Lodish, D. Baltimore**, *Molecular cell biology*, Scientific American Books, New York, 1986, 689.
75. **D. M. Roberts, W. H. Burgess, D. M. Watterson**, Comparison of the NAD kinase and myosin light chain kinase activator properties of vertebrate, higher plant and animal calmodulins, *Plant Physiol.*, **75**, (1984), 796.
76. **P. M. Rowe, L. S. Wright, F. L. Siegel**, Calmodulin N-methyltransferase. Partial purification and characterization, *J. Biol. Chem.*, **261**, (1986), 7060.

77. **D. M. Roberts, P. M. Rowe, F. L. Siegel, T. J. Lukas, D. M. Watterson**, Trimethyllysine and protein function. Effect of methylation and mutagenesis of lysine 115 of calmodulin in NAD kinase activation, *J. Biol. Chem.*, **261**, (1986), 1491.
78. **C. Gangon, S. Kelly, V. Manganiello, M. Vaughn, C. Ody, W. Strittmatter, A. Hoffman, F. Hirata**, *Nature*, **291**, (1981), 515.
79. **B. A. Johnson, E. L. Langmack, D. W. Aswad**, Partial repair of deamidation-damaged calmodulin by protein carboxyl methyltransferase, *J. Biol. Chem.*, **262**, (1987), 12283.
80. **R.H. Garrett, C.M. Grisham**, *Biochemistry*, Sanders College Publishing., Forth Worth, Canada, 1995, 119.
81. **W. Neupert, G. Schatz**, How proteins are transported into mitochondria, *Trends in Biochem. Sci.*, **6**, (1979), 1.
82. **L. Strye**, *Biochemistry*, 3th ed., V. H. Freeman & Co., New York, 1988, 408.
83. **P. DiMaria, E. Polastro, R. J. DeLange, S. Kim, W. K. Paik**, Studies on cytochrome *c* methylation in yeast, *J. Biol. Chem.*, **254**, (1979), 4645.
84. **E. Durban, S. Nochumson, S. Kim, W. K. Paik, S. K. Chan**, Cytochrome *c*-specific protein-lysine methyltransferase from *Neurospora crassa*, *J. Biol. Chem.*, **253**, (1978), 1427.
85. **S. Nochumson, E. Durban, S. Kim, W. K. Paik**, Cytochrome *c*-specific protein methylase III from *Neurospora crassa*, *J. Biol. Chem.*, **165**, (1977), 11.
86. **J. Z. Farooqui, M. Truch, W. K. Paik**, Purification and characterization of enzymes from *Euglena gracilis* that methylate methionine and arginin residues of cytochrome *c*, *J. Biol. Chem.*, **260**, (1985), 537.
87. **F. Blaise, W. K. Paik**, Cytochrome *c* methylation, in *Protein Methylation*, eds. W. K. Paik and S. Kim, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1990, 59.
88. **C.-S. Kim, F. Kueppers, P. DiMaria, J. Z. Farooqui, S. Kim, W. K. Paik**, Enzymatic trimethylation of residue-72 lysine in cytochrome *c*, *Biochim. Biophys. Acta.*, **622**, (1980), 144.
89. **W. K. Paik, J. Z. Farooqui, T. Roy, S. Kim**, Determination of pI values of variously methylated amino acids by isoelectric focusing, *J. Chromatogr.* **256**, (1983), 331.
90. **J. Z. Farooqui, P. DiMaria, S. Kim, W. K. Paik**, Effect of methylation on the stability of cytochrome *c* of *Saccharomyces cerevisiae* *in vivo*, *J. Biol. Chem.*, **256**, (1981), 5041.
91. **K. S. Park, B. Frost, M. Tuck, L. L. Ho, S. Kim, W. K. Paik**, Enzymatic methylation of *in vivo* synthesized apocytochrome *c* enhances its transport into mitochondria, *J. Biol. Chem.*, **262**, (1987), 14702.
92. **B. Henning, W. Neuppert**, Biogenesis of cytochrome *c* in *Neurospora crassa*, in *Methods in Enzymology*, Vol. 97, Academic Press, New York, 1983, 261.
93. **G. Michal**, Biochemical pathways, *Biochemica*, Boehringer Mannheim GmbH, Würzburg, Germany, 3<sup>rd</sup> ed., Part 1, 1993.
94. **L. Strye**, *Biochemistry*, 3th ed., V. H. Freeman & Co., New York, 1988, 1026.
95. **G. Farkas**, Növényi biokémia, *Akadémiai Kiadó*, Budapest, 1978, 9.
96. **A.D. Hanson, D. A. Gage, Y. S. Hill**, Plant one-carbon metabolism and its engineering, *Trends in Plant Science*, **5 (5)**, (2000), 206.

97. **U. Willeke, V. Heeger, M. Meise, H. Newmann, I. Schindelmeiser, K. Vordemfelde, W. Barz**, Mutually exclusive occurrence and metabolism of trigonelline and nicotinic acid arabinosiderigoll in plant cell cultures, *Phytochemistry*, **18**, (1979) 105.
98. **J. R. Beers**, The species distribution of some naturally-occurring quaternary ammonium compounds, *Comp. Biochem. Physiol.* **21**, (1967) 11.
99. **P. Handler, W. J. Dean**, The inhibition of rat growth by nicotinamide, *J. Biol. Chem.* **146**, (1942) 357.
100. **D. G. Lynn, K. Nakanishi, L. S. Patt, J. L. Occolowitz, M. S. Almeida, L. S. Evans**, Isolation and characterization of the first mitotic cycle hormone that regulates cell proliferation, *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, (1978) 7759.
101. **L. S. Evans, M. S. Almeida, D. G. Lynn, K. Nakanishi**, Chemical characterization of a hormone that promotes cell arrest in G2 in complex tissues, *Science*, **203**, (1979) 1122.
102. **L. S. Evans, W. A. Tramontano**, Is trigonelline a plant hormone? *Am. J. Botany*, **68(9)**, (1981) 1282.
103. **L. R. Ory, F. R. Rittig**, Bioregulators, chemistry and uses, *ACS Symposium Series*, **257**, American Chemical Society 1984.
104. **H. R. Godavari, E. R. Waygood**, Nicotinamide adenine dinucleotide metabolism in plants. I. Intermediates of biosynthesis in wheat leaves and the effect of benzimidazole, *Can. J. Botany*, **48**, (1973) 2267.
105. **J. Preiss, P. Handler**, Intermediates in the synthesis of diphosphopyridine nucleotide from nicotinic acid, *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, (1957) 4246.
106. **W. A. Tramontano, C. M. Harnett, D. G. Lynn, L. S. Evans**, Relationship between trigonelline concentration and promotion of cell arrest in G2 in cultured roots of *Pisum sativum*, *Phytochemistry*, **21**, (1982) 1201.
107. **T. Takemoto, K. Daigo, N. Takagi**, Studies on the hypotensive constituents of marine algae. I. New basic amino acid "laminine" and other basic constituents isolated from *Laminaria angustata*, *Yakugaku Zasshi*, **84** (1964) 1176.
108. **G. Stotz, B. Szende, K. Lapis, E. Tyihák**, The effect of  $\epsilon$ -N-DL-trimethyl-lysine on human lymphocyte cultures, *Exp. Pathol.*, **9** (1974) 317.
109. **Zs. Suba, B. Szende, J. Takáts, K. Lapis, G. Elek**,  $\epsilon$ -N-trimethyllysine: a natural cell component with mitogenic activity, *Neoplasma*, **27** (1980) 11.
110. **K. Lapis, B. Szende, L. Kovács, K. Simon**, The effect of  $\epsilon$ -N-trimethyllysine (TML) treatment on the regeneration of bone marrow and intestinal mucosa in mice, *Exp. Pathol.*, **24** (1983) 97.
111. **G. Kovács, E. Tyihák, I. Rusznák, L. Trézl, D. Földes, B. Szabó, I. Bódi, Sz. Császár, M. Szopko, M. Gombár**, Hungarian Patent 182.677, 1984; and e.g. U.S. Patent 4.532.214, 1985.
112. **E. Tyihák, L. Trézl, I. Rusznák, G. Kovács, B. Szabó, Sz. Császár, M. Gombár, D. Földes**, Hungarian Patent 190.357, 1985.
113. **I. Rusznák, T. Szarvas, M. Gombár, I. Terbe**, New results in the application of Formetol, in *Proc. 2nd Int. Conf. The Role of Formaldehyde in Biological Systems*, eds. E. Tyihák and G. Gullner, SOTE Press, Budapest, 1987, 219.
114. **A. Jeney, G. Gyapay, B. Szende, L. Burics, E. Tyihák**, Methylation-like reaction of [ $^3$ H-methyl]-N-5-trimethyllysine (TML) to chromatin components, *Biochem. Pharmacol.*, **29** (1980) 2729.

115. **B. Szende, A. Jeney, I. Benedeczký, K. Lapis**, Investigation of the mode of action of  $\epsilon$ -amino-trimethyllysine, *Adv. Tumor. Prev. Detect.*, **3**, (1976) 122.
116. **Y. Kakimoto, S. Akazawa**, Isolation and identification of  $N^G$ ,  $N^G$ - and  $N^G$ ,  $N^G$ -dimethyl-arginine,  $N^\epsilon$ -mono-, di- and trimethyllysine, and glycosyl- and galactosyl-hydroxylysine from human urine, *J. Biol. Chem.*, **245**, (1970) 5751.
117. **I. Csuka, B. Szende, F. Antoni, K. Lapis**, Effect of O-methylesters of amino acids on macrophages, in *Proc. 2nd Int. Conf. The Role of Formaldehyde in Biological Systems*, eds. E. Tyihák and G. Gullner, SOTE Press, Budapest, 1987, 27.
118. **E. Tyihák, I. Rusznák, L. Trézl**, Antagonistic behaviour in spontaneous reactions of L-lysine and L-arginine with formaldehyde and their biological significance, in *Proc. Hung. Annu. Meet. Biochem.*, Miskolc, Hungary, 1975; *Chem. Abstr.*, **85**, 118, 182, 1976.
119. **L. Trézl, I. Rusznák, E. Tyihák, T. Szarvas, A. Csiba, B. Szende**, Antagonistic behaviour in spontaneous reactions of L-lysine and L-arginine with formaldehyde and their biological significance, in *Proc. 2nd Int. Conf. The Role of Formaldehyde in Biological Systems*, eds. E. Tyihák and G. Gullner, SOTE Press, Budapest, 1987, 147.
120. **E. Tyihák, L. Trézl, P. Kolonits**, The isolation of  $N^\epsilon$ -formyl-L-lysine from the reaction between formaldehyde and L-lysine and its identification by OPLC and NMR spectroscopy, *J. Pharm. Med. Anal.*, **3**, (1985) 343.
121. **E. Tyihák, L. Trézl, I. Rusznák**, Spontaneous  $N^\epsilon$ -methylation of L-lysine by formaldehyde, *Pharmazie*, **35**, (1980) 18.
122. **L. Trézl, I. Rusznák, E. Tyihák, T. Szarvas, B. Szende**, Spontaneous  $N^\epsilon$ -methylation and  $N^\epsilon$ -formylation reactions between L-lysine and formaldehyde inhibited by L-ascorbic acid, *Biochem. J.*, **214**, (1983) 289.
123. **A. Csiba, L. Trézl, E. Tyihák, H. Gráber, E. Vári, G. Téglás, I. Rusznák**, Assumed role of L-arginine in mobilization of endogenous formaldehyde, *Acta Physiol. Acad. Sci., Hung.*, **59**, (1982) 35.
124. **A. Csiba, L. Trézl, E. Tyihák, T. Szarvas, I. Rusznák**,  $N^G$ -hydroxymethyl-L-arginines: new serum and urine components: their isolation and characterization by ion-exchange TLC, in *Proc. Int. Symp. TLC with Special Emphasis on OPLC*, Szeged, Hungary, 1984, ed.: E. Tyihák, Labor MIM, Budapest, 1986, 146.
125. **B. Szende, K. Lapis, K. Simon**, Combined effect of cytostatic drugs and  $\epsilon$ -N-L-trimethyllysine in healthy and transplanted tumor bearing mice, *Neoplasma*, **29**, (1982) 427.
126. **E. Tyihák, B. Szende, L. Trézl**, Biological effects of methylated amino acids, in *Protein Methylation*, eds. W. K. Paik and S. Kim, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1990, 363.
127. **R. L. Chelvarajan, F. F. Fannin, L. P. Bush**, Study of Nicotine Demethylation in *Nicotinaneotophora*, *J. Agric. Food chem.*, **41**, (1983), 85.
128. **L. Z. Benet, D. L. Kroetz, L. B. Sheiner**, Pharmacokinetics: The dynamics of drug absorption, distribution and elimination. In: J. G. Hardmann, L. E. Libird, P. B. Matimoll, R. W. Ruddon (eds), *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 9th Edition, McGraw-Hill, New York, 1995, 13.

129. **M.A. Correia**, Drug biotransformation. In: B.G. Katzung (ed.), *Basic and clinical Pharmacology*, 7<sup>th</sup> Edition, Appleton and Lange, Stamford, CT, 1998, 53.
130. **L. Samson, J. Cairns**, A new pathway for DNA repair in *Escherichia coli*, *Nature*, **262**, (1977), 281.
131. **E. Tyihák**, Study of formaldehyde cycle in budding and apoptosis of trees by personal OPLC, In *Chomatography*. O. Kaiser et all eds.: 333-342. InCom Sonderband. Düsseldorf, Germany, (1997).
132. **D.W. Ribbons**, Stoichiometry of O-demethylase activity in *Pseudomonas aeruginosa.*, *FEBS Letters*, **8**, (1970), 101.
133. **D.W. Ribbons**, Requirement of two proten fractions for O-demethylase activity In *Pseudomonas tetosteroni.*, *FEBS Letters*, **12**, (1971), 161.
134. **F. H. Bernhardt, H. Staudinger, V. Ulrich**, The properties of p-anisate O-demethylase in cell-free extracts of *Pseudomonas sp.*(German), *Z. Physiol. Chem.*, **351**, (1970), 467.
135. **F. H. Bernhardt, H. Pachowsky, H. Staudinger**, A 4-methoxybenzoate O-demethylase from *Pseudomonas putida*. A new type of monooxygenáz system., *Europ. J. Biochem.*, **57**, (1975), 241.
136. **L. Egging, H. Sahm**, Degradation of coniferyl alcohol and other lignin-related aromatic compounds by *Nocardia sp.* DSM 1069., *Arch. Microbiol.*, **126**, (1980), 141.
139. **E. Malarczyk**, Substrate induction of veratrivic acid O-demetylase in *Nocardia sp.*, *Acta Biochim. Polon.*, **31**, (1984), 383.
140. **E. Malarczyk**, Transformation of phenolic acids by *Nocardia*, *Acta Mikribiol. Polon.*, **38**, (1989), 45.
141. **B. Demple, B. Sedwick, P. Robins, N. Totty, M.D. Watfield, T. Lindahl**, Active site and complete sequence of the suicidal methyltransferase that counters alkylation mutagenesis, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **82**, (1985), 2688.
142. **B. Sedgwick, P. Robins, N. Totty, T. Lindahl**, Functional domains and methyl acceptor sites of the *Escherichia coli* Ada protein, *J. Biol. Chem*, **263**, (1988), 4430.
143. **L. Stryeer**, *Biochemistry*, 3rd ed., V. H. Freeman & Co., New York, 1988, 583.
144. **R.H. Garrett, C.M. Grisham**, *Biochemistry*, Sanders College Publishing., Forth Worth, Canada, 1995, 851.
145. **M. K. Campbell**, *Biochemistry*, Saunders College Publishing, Philadelphia, 1995, 520.
146. **G. Gombkötő, M. Sajgó**, *Biokémia*, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 1985, 347.
147. **E. Tyihák, G. Gullner, L. Trézl**, Formaldehyde cycle and possibility of formation of singlet oxygen in plant tissues. in *Proceedings of the International Symposium on Oxygrn Free Radicals and Scavangers in the Natural Sciences*, Gy. Mózsik, I. Emerit, J. Fehér, B. Matkovics, Á. Vincze Eds., Akadémiai Kiadó, Budapest, (1993), 21.
148. **E. Tyihák, L. Trézl, B. Szende**, Formaldehyde cycle and the phases of stress syndrome, in *Stress of Life: From Molecules to Man*, P. Csermely ed., Annals of the New York Academy of Sciences, **851**, (1998), 259.

149. **G. Blunden, S.M. Gordon, B.E. Smith, R.L. Fletcher**, Quaternary Ammonium Compounds in Species of the Fucaceae (phaeophyceae) from Britain, *Br. Phycol. J.*, **20**, (1985), 105.
150. **L. Hullán, L. Trézl, T. Szarvas, A. Csiba**, The hidrazine derivative aminoguanidine inhibits the reaction of tetrahydrofolic acid with hydroxymethylarginine biomolecule, *Acta Biologica Hungarica*, **49 (2-4)**, (1998), 265.
151. **N. Kucharczyk, J.T. Yang, K. K. Wong, R. D. Sofia**, The Formaldehyde-donating Activity of  $N^5, N^{10}$ -methylene Tetrahydrofolic Acid in Xenobiotic Biotransformation, *Xenobiotica*, **14**, (1984), 667.
152. **G. Gullner, E. Tyihák**, Hydrogen Peroxide Dependent *N*-demethylase Activity in the Leaves of Normal and Heat-shoked Bean Plants, *Plant. Sci.*, **52**, (1987), 21-27.
153. **J. M. Greenberg, J. K. Walker**, Formaldehyde, *Kieger R.E., Publ. Co.*, Huntington, New York, 1964.
154. Internal Agency for Research on Cancer, *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, **63**, Wood Dust and Formaldehyde. (World Health Organization, Genova), 1995.
155. **J.A. Swenberg, W.D. Kerns, R. I. Mitchell, E. J. Gralla, K. I. Pavkov**, *Cancer Res.*, **4**, (1980), 3398.
156. **J. Thronthike, W. S. Beck**, *Cancer Res.*, **37**, (1977), 1125.
157. **J. Burgyán, T. Szarvas, E. Tyihák**, Increased Formaldehyde Production from L-methionine ( $S$ - $^{14}CH_3$ ) by Crude Enzyme of TMV-infected Tobacco Leaves, *Acta Phytopath. Acad. Sci. Hung.*, **17**, (1982), 11.
158. **É Sárdi, E. Tyihák**, Relationship between dimedone concentration and formaldehyde captured in plant tissues, *Acta Biologica Hungarica*, **49 (2-4)**, (1998), 291.
159. **Tyihák E.**, Formaldehid ciklus az élővilágban, *Biokémia*, **26**, (2002), 2.
160. **P. M. Warnecke, T.H. Bestor**, *Curr. Opin. Oncol.*, **12**, (2000), 68.
161. **H. K. Lichtenthaler, C. Buschmann, M. Döll, H. J. Fietz, T. Bach, U. Kozel, D. Meier, U. Rahmsdorf**, Photosynthetic activity, chloroplast ultrastructure, and leaf characteristics of high-light plants and of sun and shade leaves, *Photosynthesis Research*, **2**, (1981), 115.
162. **H. K. Lichtenthaler, D. Meier**, Regulation of chloroplast photomorphogenesis by light intensity and light quality, in *Chloroplast Biogenesis*, H. Ellis, Ed., Cambridge University Press, Cambridge, 1984.
163. **D. Meier, H. K. Lichtenthaler**, Ultrastructural development of chloroplast in radish seedlings grown at high and low light conditions and in the presence of the herbicide bentazon, *Protoplasma*, **107**, (1981), 195.
164. **H. K. Lichtenthaler**, Differences in morphology and chemical composition of leaves grown at different light intensities and qualities. in *Control of Leaf Growth*, N.R. Baker, W.J. Davies, K.C. Ong, Eds., Cambridge University Press, Cambridge, 1984.
165. **H. Selye**, *In vivo* : The case for Supramolecular Biology, Liveright Publishing Co., New York, 1966.
166. **H. Selye**, *The stress of Life*, McGraw Hill, New York, 1956.
167. **W. Larcher**, Stress bei Pflanzen, *Naturwissenschaften*, **74**, (1987), 158.



168. **H.K. Lichtenthaler**, *In vivo* chlorophyll fluorescence as a tool for stress detection in plants, in *Applications of Chlorophyll Fluorescence*, H.K. Lichtenthaler, Ed., Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, 1988.
169. **H. K. Lichtenthaler**, Vegetation Stress: an Introduction to the Stress Concept in Plants, *J. Plant. Physiol.* **148**, (1996), 4.
170. **R. G. Alscher and J. Cumming**, Stress responses in plants. Adaption and acclimation mechanisms. *Wiley Liss. Inc.*, New York, 1990, (the most chapters)
171. **H. Bergmann**, Physiologische Wirkungen von biogenen Aminen bei Pflanzen. in *Biogene Amine in der Ernährung*, ed. D. Beutling, Springer-Verlag, Berlin, 1996, 31.
172. **H. Bergmann, B. Machelett, V. Leinhos, H. Eckert**,: Effect natural amino alcohols on stress tolerance and food quality in stressed crops. *Agri-Food Quality, Royal Soc. Chem. (UK)*, Special publications **179**, (1996), 71.
173. **K.-H. Kogel, U. Beckhove, J. Dreschers, S. Münch, Y. Romme**, Acquired resistance in barley. *Plant Physiol.* **106**, (1994), 1269.
174. **C. J. Baker, E. W. Orlandi**, Active oxygen in plants pathogenesis, *Annu. Rev. Phytopathology*, **33**, (1995) 299.
175. **C. J. Lamb, R. A. Dixon**, The oxidative burst in plant disease resistance, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **48**, (1997), 251.
176. **B. Messner, P. Schröder**, Burst amplifying in cell suspension cultures of spruce (*Picea abies* L. Karst): Modulation of elicitor-induced release of hydrogen peroxide (oxidative burst) by ionophores and salicylic acid, *J. Appl. Bot.*, **73**, (1999), 6.
177. **E. F. Elstner, W. F. Osswald, H. Volpert, H. Schempp**, Phenolic antioxidants. *Acta Horticulturae*, **381**, (1994), 304..
178. **W. Feucht, E. Christ, D. Treutter**, Flavonols as defense barrier of the fruit surface. *J. Appl. Bot.*, **68**, (1994), 122.
179. **G. De Jaeger, N. Boyer, T. Gaspar**,: Thigmomorphogenesis in *Bryonia divica*: Changes in soluble wall peroxidases, phenyl-alanine ammonia lyase activity, cellulose, lignin content and monomeric constituents, *Plant Growth Regul.* **3**, (1985), 133.
180. **L. M. Lagrimini**,: Wound induced deposition of polyphenols in transgenic plants overexpressing peroxidase, *Plant Physiol.*, **96**, (1991), 577.
181. **V. Leinhos, H. Bergmann**, Effect of amino alcohol application rhizobacteria and mycorrhiza inoculation on the growth, the content protein and phenolics and the protein pattern of drought stress lettuce (*Lactuca sativa* L. cv. Amerikanischer Brauner), *J. Appl. Bot.*, **6**, (1995), 153.
182. **V. Leinhos, S. Tiroke, H. Bergmann**,: Influence of osmotic stress and amino alcohol treatment on protein content, protein pattern and growth of germinating barley, *J. Appl. Bot.*, **70**, (1996), 199.
183. **W. Boland, T. Koch, T. Krumm, J. Piel**, A. Jux, Induced biosynthesis of insect semiochemicals in plant. in *Insect-plant interactions and induced plant defence*, Wiley Chichester, Novartis Foundation Symposium, **223**, (1999), 110.
184. **A. W. Galston**, Polyamines as modulators of plant growth development and response to stress, *Proc. Plant Growth Regulation Soc.*, **11**, (1984), 124.

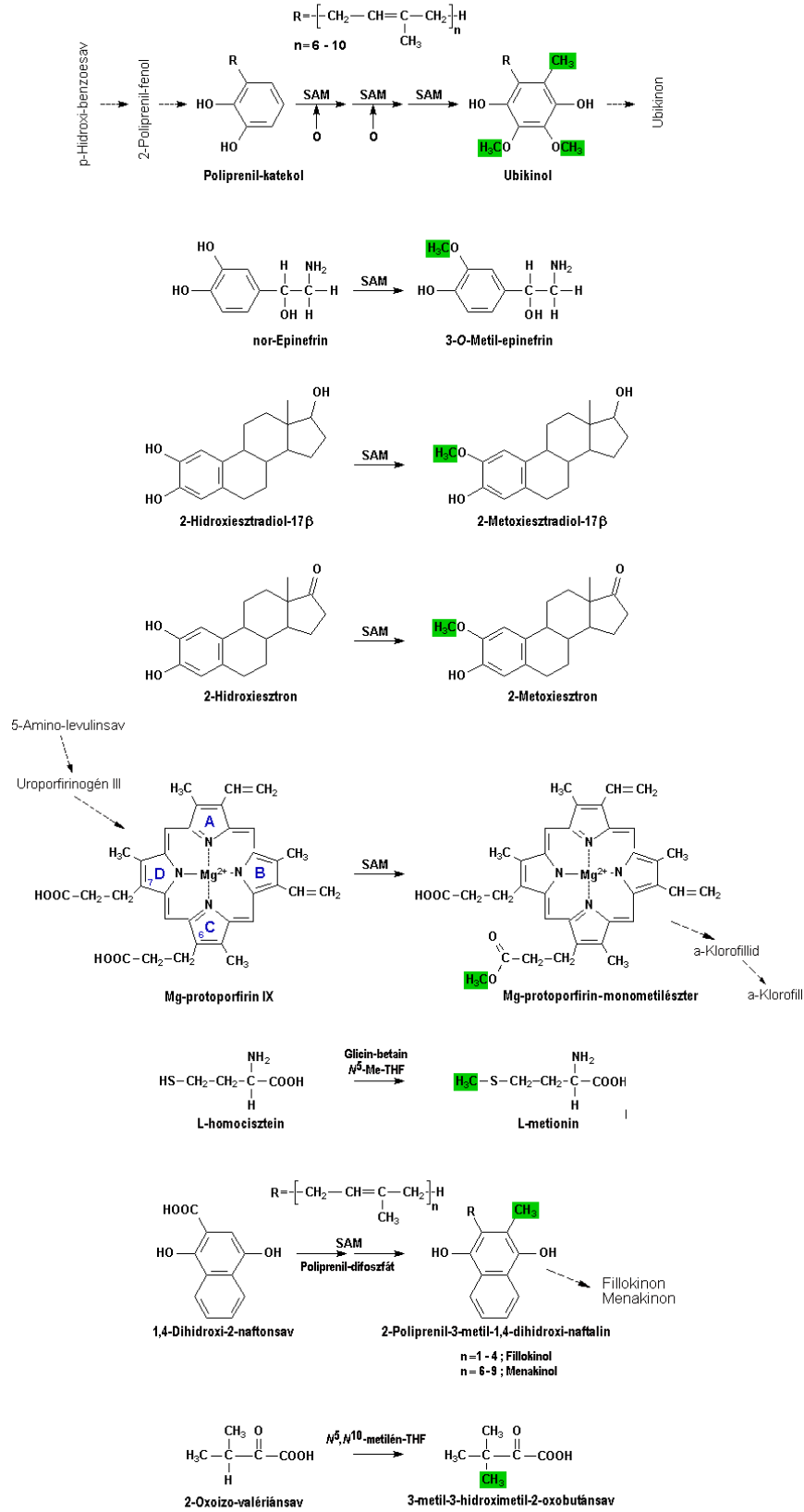
185. **J. Gershenzon**, Changes in levels of plant secondary metabolites under water and nutrient stress, in *Phytochemical adaptations to stress*, eds.: B. N. Timmermann, C. Steelink, and F. A. Loewus, Plenum Press, New York, 1984, 273.
186. **A. D. Hanson, W. D. Hitz**, Metabolic responses of mesophytes to plant water deficits, *Annu. Rev. Plant Physiol.*, **33**, (1982), 163.
187. **J. Horváth, P. R. Van Hasselt**, Inhibition of chilling induced phytooxidative damage to leaves of *Cucumis sativus* L. by treatment with aminoalcohols, *Planta*, **164**, (1985), 83.
188. **S. S. Lin, R. S. Pearce**, Changes in lipids of bean seeds and corn (*Zea mays*) caryopses aged in contrasting environments, *Ann. Bot.* **62**, (1990), 451.
189. **J. E. Mullet, M. S. Whitsitt**, Plant cellular responses to water deficit, in *Plant Growth Regul.*, ed.: E. Belhassen, **20**, (1996), 119.
190. **H. Bergmann, B. Lippmann, V. Leinhos, S. Tiroke, B. Machelett**, Activation of stress resistance in plants and consequences for product quality, *J. Appl. Bot.*, **73**, (1999), 153.
191. **E. Tyihák, Z. Király, G. Gullner, T. Szarvas**, Temperature-dependent Formaldehyde Metabolism in Bean Plants. The Heat Shock Response, *Plant. Sci.*, **59**, (1989), 133.
192. **É. Sárdi, E. Tyihák**, Change of biotransformation steps of formaldehyde cycle in water-melon plants after infection with *Fusarium oxysporum*, *Acta Biologica Hungarica*, **49** (2-4), (1998), 353.
193. **I. László, É. Szóke, E. Tyihák**, Relationship between abiotic stress and formaldehyde concentration in tissue culture of *Datura innoxia* Mill., *Plant Growth Regulation*, **25**, (1998), 195.
194. **H. Bergmann, H. Eckert, K. Kachel, D. Roth**, Der Einfluß von Ethanolamin auf den Kornertrag von Sommergerste bei unterschiedlichen klimatischen Wasserbilanzen, *Arch Acker- und Pflanzenbau u. Bodenk.*, **27**, (1983), 127.
195. **T. Ishigami, Z. Suzuki**, The elongation promotion of pea stem sections by indole together with ethanolamine, *Z. Pflanzenphysiol.*, **63**, (1970), 460.
196. **H. Bergmann, H. Eckert, C. Weber, D. Roth**, Einfluß von Monoethanolamin auf den Kornertrag und den N-Haushalt von Getreide, *J. Agronomy Crop Science*, **166**, (1991), 117.
197. **H. Bergmann, S. Tiroke, V. Leinhos, H. Eckert**, Effect natural amines on yield and fertilizer efficiency in cereals under unfavourable environments, in *FAO-Rep. Sustainable Agriculture, Food, Energy and Industry*, James & James, Sciences Publishers, London, (1998), 531.
198. **DFG-Bericht**, Der Einfluß biogener Aminoalkohole sowie ausgewählter Aminoalkoholderivate auf die Entwicklung von Perlhirse (*Pennisetum americanum* L. Leeke) bei Trockenheit und Salzbelastung, *II B B8 - Be 1552/2-4 und 2-5*.
199. **H. Bergmann, B. Machelett, V. Leinhos**, Effect of natural amino alcohols on stress tolerance and amino acids pattern in stressed barley, *Amino acids*, **7**, (1994), 327.
200. **P. Szabó, P. Csóka, I. Czirok, L. Fejes, Gy. Jancsó, K. Madas, A. Szepesi**, Magyarország erdőállományainak főbb adatai 1996. Állami Erdészeti Szolgálat, Budapest, (1996).

201. **R.R. Miksh, D.W. Anton, L.Z.Fanning, C.D.Hollowell, K.Revzan, J.Glanville**, Modified pararosaniline method for the determination of formaldehyde in air, *Anal.Chem.*, **53**, (1981), 2118.
202. **F.F. Andrawes**, Detection of traces of formaldehyde in pure air by gas chromatography and helium ionization detection, *J.Chromatogr. Sci.*, **22**, (1984), 506.
203. **É. János, J. Balla, E. Tyihák, R. Gáborjányi**, Gas-liquid chromatographic analysis of dimedone derivatives of formaldehyde and other aliphatic aldehydes on capillary columns, *J.Chromatogr.*, **191**, (1980), 239.
204. **C.A. Benassi**, High performance liquid chromatographic determination of free formaldehyde in cosmetics preserved with Dowicilil 200, *J.Chromatogr.*, **502**, (1990), 193.
205. **K.Matsuhisa, K.Ohzeki**, Determination of trace amounts of formaldehyde by ion-exchange resin thin-layer spectrometry, *Analyst* **111**, (1986), 1175.
206. **E.Tyihák, Z.Király, G.Gullner, T.Szarvas**, Temperature-dependent formaldehyde metabolism in bean plants. The heat shock response, *Plant.Sci.*, **59**, (1989), 133.
207. **L. Albert, Zs. I. Németh, T. Barna, Sz. Varga, E. Tyihák**, Measurement of endogenous formaldehyde in the early development stages of European Turkey oak (*Quercus cerris* L.), *Phytochemical Analysis*, **9**, (1998), 227.
208. **L. R. Snyder**, Classification of the solvent properties of common liquids, *J. Chromatogr. Sci.*, **16** (1978), 223.
209. **F. Szokoli, Zs. Németh, J. Inczedy**, Selection of optimal pH and solvent composition for the separation of organic acids using three-dimensional diagrams and a computer program, *Chromatographia*, **29** (5/6), (1990), 265.
210. **Zs. I. Németh**, Kromatográfiás jelfeldolgozás optimális elválasztási paraméterek meghatározása céljából, *Egyetemi Doktori Disszertáció*, Veszprémi Egyetem, (1996).
211. **Zs. I. Németh, Gy. Kiss**, Optimization of separation in RP-HPLC by peak tracking using the PRIMA method, *Balaton Conference on high performance separation techniques*, (1995), Siófok, szeptember 6-8.
212. **Zs. Németh**, The peak tracking role of the PRIMA method in liquid chromatography, *ACH - Models in Chemistry*, **131**, (1994), 835.
213. **I. László, É. Szóke, Zs. I. Németh, L. Albert** Plant tissue culture as a model for study of diversity in formaldehyde bounding, *Acta Biologica Hungarica*, **49** (2-4), (1998), 247.
214. **L. Albert, Zs. I. Németh, T. Hofmann, J. Koloszar, Sz. Varga, I. Csepregi**, Variation of the Chemical Parameters, Endogenous Formaldehyde Content and Catalase Activity in the Red- Heartwooded Beech (*Fagus Sylvatica* L.) Wood, *5<sup>th</sup> International, Jubilee Conference on ROLE OF FORMALDEHYDE IN BIOLOGICAL SYSTEMS*, October 9-13, 2000 Sopron, Hungary.
215. **T. Rétfalvi, Zs.I. Németh, I. Sarudi, L. Albert**, Alteration of endogenous formaldehyde level for mercury accumulation in different pig tissues, *Acta Biologica Hungarica*, **49** (2-4), (1998), 375.
216. **T. Rétfalvi, Cs. Hancz, T. Molnár, Zs. I. Németh, L. Albert**, The effect of the confinement stress on the levels of endogenous formaldehyde, cortisol and glucose in the blood of common carp, *5<sup>th</sup> International, Jubilee Conference on ROLE OF FORMALDEHYDE IN BIOLOGICAL SYSTEMS*, October 9-13, 2000 Sopron, Hungary.

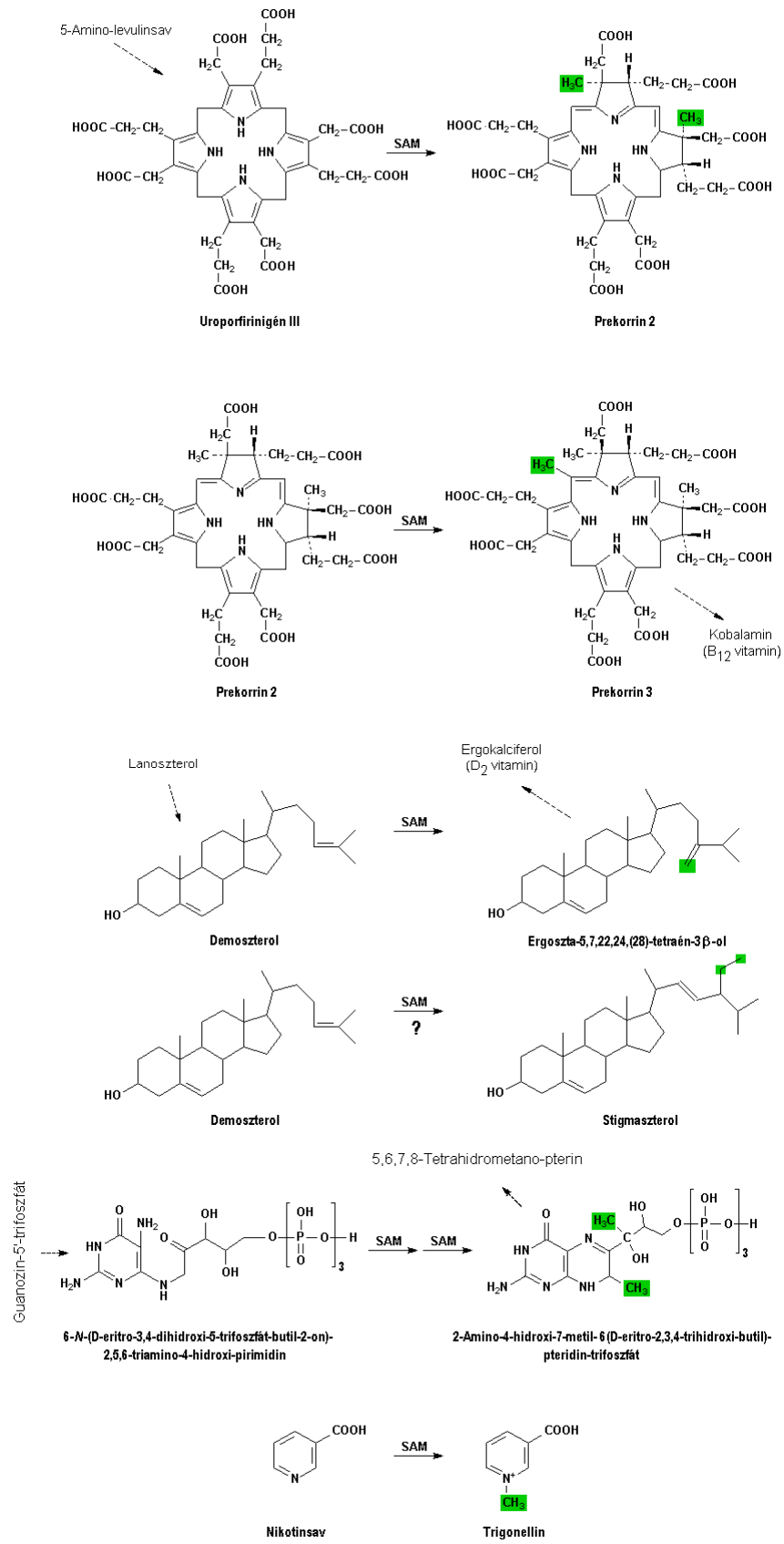
217. **T. K. Rózylo, R. Siembida, Zs. I. Németh, L. Albert, E. Tyihák** HPLC-OPLC-MS investigation of change of formaldehyde and its generators in human teeth of different physiological stage, *Biomed. Chromatogr*, **14**, (2000), 173.
218. **Zs. I. Németh, T. Hofmann, L. Albert, E. Tyihák**, Analogies and differences in the reactions of dimedone with formaldehyde and special fromaldehyde generators, *5<sup>th</sup> International, Jubilee Conference on ROLE OF FORMALDEHYDE IN BIOLOGICAL SYSTEMS*, October 9-13, 2000 Sopron, Hungary.
219. **D. Spencer, T. Henshall**, The kinetics and mechanism of the reaction of formaldehyde with dimedone. Part I., *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, (1955), 1943.
220. **Sváb J.**, Biometriai módszerek a mezőgazdasági kutatásban, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, (1967), 428.
221. **Botz L., Majerné-Bogdács M., Szabó L., Técsi L. I.**, Növényélettani gyakorlatok, Egyetemi jegyzet, Janus Pannonius Tudományegyetem, Pécs, (1995), 127.
222. **Zs. I. Németh, L. Albert, Sz. Varga, M. Balaskó**, Changes of catalase activity and endogenous formaldehyde level in the germinating acorns of *Quercus cerris* L., *5<sup>th</sup> International, Jubilee Conference on ROLE OF FORMALDEHYDE IN BIOLOGICAL SYSTEMS*, October 9-13, 2000 Sopron, Hungary.
223. **A. Jarosz-Wilkolazka, M. Fink-Boots, E. Malarczyk, A. Leonowicz**, Formaldehyde as a proof and response to various kind of stress in some *Basidiomycetes*, *Acta Biologica Hungarica*, **49** (2-4), (1998), 393.
224. **Inczédy J.**, Folyamatos és automatikus analízis, Egyetemi jegyzet, *Veszprémi Egyetem*, (1978), 65.
225. **Marjai Z.**, Adatok a tölgyemakk tartós tárolására való előkészítéséhez., *Az erdő*, **8**, (1988), 333.
226. **Marjai Z.**, Tölgyemakktárolási kísérletek, különös tekintettel az edényzetre, *Az erdő*, **5**, (1989), 202.
227. **Varga Sz., Barna T.**, Lombos fafajok magjainak középtávú tárolási problémái, Biológiai alapok a kertészetben és erdészetben. Budapest 1994 dec. 1-2., szerk. Csűrös M., *Országos Mezőgazdasági Minősítő Intézet*, Budapest, 1994.
228. **Barna T., Varga Sz.**, Az erdészeti maggazdálkodás követendő útjai Magyarországon, *EFE Tud. Ülésszaka*, 1993. márc. 10, (1993), 21.
229. **L. Albert, Zs.I. Németh, Sz. Varga**, Changes in formaldehyde contents of germinating acorns of *Quercus cerris* L. under low temperature stress conditions, *Acta Biologica Hungarica*, **49** (2-4), (1998), 369.
230. **L. Albert, Zs.I. Németh, Sz. Varga**, The effect of heat shock on the formaldehyde cycle in germinating acorns of European Turkey oak, *Acta Biologica Hungarica*, **49** (2-4), (1998), 363.
231. **Zs. I. Németh, L. Albert, Sz. Varga**, Relationship between dimedone shock and formaldehyde level in the germinating acorns of European Turkey oak, *5<sup>th</sup> International, Jubilee Conference on ROLE OF FORMALDEHYDE IN BIOLOGICAL SYSTEMS*, October 9-13, 2000 Sopron, Hungary.

## **Függelék**

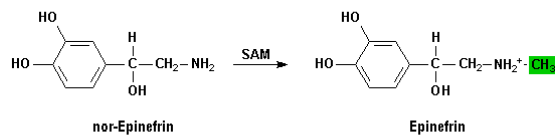
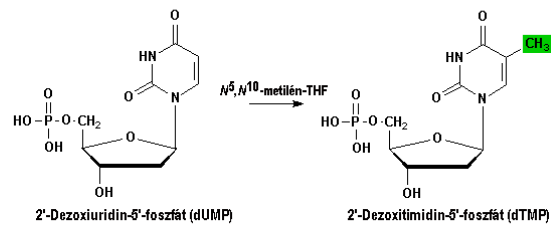
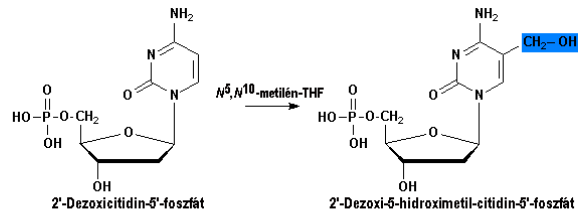
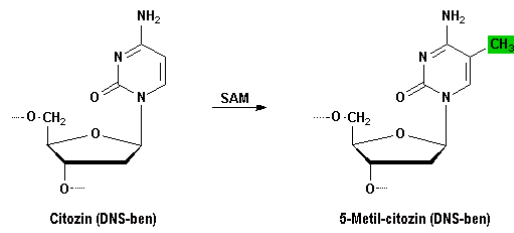
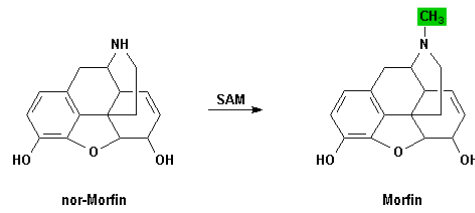
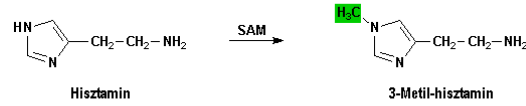
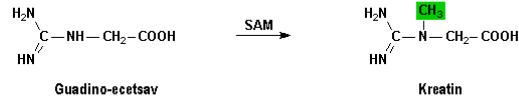
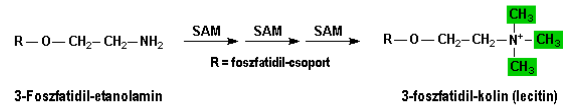
**F-I/A.**



## F-I./B.



## F-I./C.





## F-II.

## Csírázó csertölgy makkok tömeg és sűrűség adatai

Dátum 1998.december												
Sorszám	1		2		3		4		5		7	
	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )
1	2,221	1,252	2,414	1,209	2,574	1,177	2,627	1,135	2,659	1,150	2,646	1,129
2	2,336	1,226	2,457	1,215	2,511	1,206	2,545	1,204	2,533	1,198	2,555	1,201
3	2,359	1,206	2,527	1,185	2,613	1,176	2,639	1,171	2,665	1,168		
4	2,476	1,210	2,604	1,197	2,646	1,190	2,671	1,188	2,662	1,189	2,642	1,189
5	2,518	1,221	2,600	1,207	2,615	1,202	2,627	1,200	2,613	1,201	2,632	1,195
6	2,518	1,224	2,668	1,207	2,723	1,198	2,762	1,192	2,755	1,188	2,796	1,173
7	2,702	1,227	2,860	1,208	2,921	1,200	2,951	1,190	2,918	1,195	2,934	1,196
8	2,780	1,203	2,900	1,189	2,945	1,178	2,970	1,141	3,033	1,153		
9	2,796	1,232	2,915	1,219	3,045	1,204	3,159	1,193	3,173	1,192	3,255	1,183
10	2,807	1,229	3,027	1,205	3,132	1,191	3,190	1,185	3,190	1,185	3,243	1,178
11	2,831	1,261	3,078	1,227	3,174	1,215	3,243	1,206	3,223	1,207	3,242	1,208
12	2,835	1,240	3,038	1,216	3,118	1,208	3,165	1,201	3,174	1,192	3,163	1,189
13	2,924	1,257	3,117	1,239	3,198	1,229	3,263	1,221	3,260	1,221	3,282	1,218
14	2,925	1,224	3,123	1,204	3,186	1,194	3,222	1,189	3,189	1,195	3,200	1,193
15	2,943	1,236	3,078	1,231	3,150	1,221	3,193	1,215	3,189	1,216	3,220	1,209
16	3,001	1,258	3,272	1,231	3,448	1,209	3,535	1,202	3,532	1,200	3,564	1,198
17	3,022	1,224	3,144	1,214	3,161	1,211	3,165	1,210	3,153	1,209	3,141	1,212
18	3,057	1,261	3,420	1,219	3,584	1,204	3,626	1,188	3,630	1,186	3,663	1,172
19	3,076	1,263	3,348	1,233	3,565	1,212	3,679	1,201	3,668	1,203	3,722	1,196
20	3,078	1,215	3,212	1,202	3,280	1,195	3,337	1,187	3,337	1,181	3,378	1,182
21	3,095	1,214	3,258	1,196	3,318	1,189	3,351	1,182	3,336	1,183	3,386	1,176
22	3,113	1,225	3,270	1,211	3,312	1,207	3,323	1,194	3,337	1,191	3,369	1,183
23	3,153	1,219	3,308	1,204	3,368	1,197	3,412	1,194	3,395	1,194	3,440	1,185
24	3,169	1,183	3,378	1,161	3,446	1,155	3,520	1,159	3,522	1,154	3,510	1,145
25	3,170	1,207	3,353	1,195	3,420	1,016	3,463	1,182	3,404	1,185	3,452	1,181
26	3,201	1,230	3,296	1,222	3,334	1,218	3,351	1,216	3,350	1,215	3,351	1,214
27	3,242	1,279	3,579	1,238	3,835	1,217	3,968	1,201	3,963	1,198	4,004	1,189
28	3,325	1,234	3,508	1,218	3,537	1,214	3,552	1,210	3,538	1,210	3,559	1,206
29	3,366	1,237	3,675	1,216	3,777	1,206	3,843	1,199	3,822	1,198	3,870	1,198
30	3,378	1,234	3,462	1,224	3,507	1,217	3,526	1,210	3,540	1,210	3,524	1,209
31	3,403	1,265	3,672	1,241	3,794	1,226	3,871	1,220	3,863	1,220	3,861	1,222
32	3,446	1,248	3,695	1,225	3,828	1,212	3,883	1,206	3,869	1,206	3,903	1,202
33	3,449	1,282	3,678	1,264	3,921	1,239	4,061	1,224	4,034	1,225	4,075	1,220
34	3,515	1,240	3,697	1,224	3,752	1,217	3,797	1,214	3,802	1,213	3,817	1,212
35	3,562	1,289	3,800	1,264	3,970	1,243	4,090	1,244	4,288	1,225	4,231	1,229
36	3,577	1,211	3,732	1,201	3,781	1,197	3,815	1,192	3,803	1,191	3,834	1,191
37	3,578	1,264	3,994	1,231	4,177	1,214	4,255	1,206	4,264	1,204	4,322	1,201
38	3,584	1,243	3,872	1,221	4,009	1,208	4,056	1,203	4,096	1,191	4,073	1,193
39	3,604	1,236	3,725	1,223	3,777	1,218	3,785	1,213	3,800	1,204	3,765	1,208
40	3,613	1,208	3,755	1,197	3,798	1,185	3,824	1,181	3,797	1,189	3,777	1,215
41	3,636	1,240	3,819	1,223	3,892	1,215	3,915	1,211	3,854	1,214	3,906	1,213
42	3,647	1,211	3,840	1,197	3,897	1,190	3,925	1,184	3,889	1,188	3,945	1,183
43	3,693	1,260	3,943	1,234	4,076	1,223	4,140	1,216	4,150	1,215	4,193	1,205
44	3,693	1,222	3,860	1,212	3,931	1,205	3,963	1,196	4,008	1,187	3,998	1,186
45	3,696	1,237	3,935	1,218	4,016	1,209	4,066	1,203	4,033	1,203	4,057	1,204
46	3,698	1,253	3,964	1,224	4,076	1,212	4,107	1,204	4,163	1,199		
47	3,701	1,262	4,061	1,240	4,233	1,220	4,303	1,214	4,307	1,210	4,340	1,205
48	3,770	1,236	4,019	1,213	4,156	1,201	4,205	1,196	4,259	1,186		
49	3,855	1,208	4,041	1,196	4,100	1,191	4,129	1,189	4,120	1,188	4,134	1,185
50	3,870	1,266	4,144	1,237	4,308	1,224	4,423	1,216	4,455	1,213	4,522	1,201

## F-II. (folytatás)

## Csírázó csertölgy makkok tömeg és sűrűség adatai

Dátum 1998.december												
Sorszám	1		2		3		4		5		7	
	tömeg (g)	sűrűsé g (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűsé g (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűsé g (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )
51	3,885	1,224	4,035	1,212	4,113	1,205	4,146	1,203	4,034	1,209	4,062	1,207
52	3,890	1,282	4,130	1,258	4,343	1,236	4,414	1,228	4,483	1,223	4,463	1,223
53	3,914	1,210	4,186	1,195	4,352	1,181	4,458	1,175	4,466	1,174	4,511	1,172
54	3,919	1,230	4,053	1,234	4,090	1,230	4,111	1,231	4,107	1,231	4,129	1,227
55	3,927	1,269	4,457	1,223	4,618	1,203	4,604	1,201	4,577	1,203	4,554	1,206
56	3,929	1,229	4,095	1,218	4,142	1,213	4,170	1,207	4,166	1,208	4,168	1,205
57	3,954	1,220	4,108	1,208	4,175	1,200	4,216	1,195	4,172	1,196	4,221	1,192
58	3,957	1,256	4,292	1,224	4,400	1,217	4,447	1,212	4,442	1,211	4,480	1,209
59	3,994	1,247	4,357	1,217	4,480	1,206	4,524	1,203	4,505	1,203	4,522	1,204
60	4,023	1,260	4,260	1,243	4,393	1,228	4,472	1,222	4,483	1,221	4,571	1,214
61	4,026	1,235	4,371	1,207	4,453	1,199	4,482	1,195	4,417	1,196	4,465	1,190
62	4,032	1,195	4,172	1,191	4,225	1,184	4,248	1,182	4,223	1,182	4,212	1,183
63	4,036	1,239	4,309	1,213	4,384	1,201	4,409	1,202	4,443	1,198	4,429	1,198
64	4,127	1,211	4,306	1,203	4,400	1,195	4,476	1,189	4,492	1,189	4,562	1,183
65	4,132	1,210	4,302	1,199	4,355	1,187	4,369	1,181	4,339	1,181	4,301	1,185
66	4,135	1,251	4,460	1,225	4,670	1,208	4,798	1,201	4,805	1,198	4,850	1,190
67	4,146	1,257	4,380	1,239	4,482	1,228	4,498	1,224	4,487	1,224	4,552	1,221
68	4,192	1,223	4,369	1,213	4,419	1,210	4,482	1,207	4,508	1,206	4,406	1,211
69	4,196	1,229	4,409	1,208	4,519	1,194	4,554	1,181	4,589	1,169	4,572	1,192
70	4,221	1,247	4,445	1,229	4,564	1,219	4,648	1,213	4,643	1,212	4,699	1,207
71	4,260	1,221	4,548	1,197	4,680	1,188	4,748	1,179	4,815	1,178	4,799	1,180
72	4,281	1,235	4,797	1,202	4,929	1,192	4,991	1,189	4,941	1,187	4,959	1,188
73	4,323	1,241	4,620	1,220	4,760	1,208	4,853	1,202	4,874	1,198	4,879	1,198
74	4,325	1,230	4,415	1,221	4,436	1,218	4,453	1,213	4,464	1,215	4,449	1,217
75	4,326	1,255	4,636	1,229	4,732	1,221	4,818	1,214	4,811	1,213	4,850	1,207
76	4,411	1,256	4,753	1,230	4,881	1,221	4,939	1,215	4,941	1,212	4,961	1,212
77	4,621	1,215	4,851	1,200	4,902	1,199	4,913	1,196	4,201	1,236	4,943	1,191
78	4,626	1,242	5,069	1,209	5,222	1,199	5,275	1,188	5,330	1,180		
79	4,634	1,241	4,885	1,223	4,944	1,215	4,988	1,210	4,926	1,214	4,938	1,216
80	4,657	1,232	4,766	1,224	4,823	1,218	4,850	1,213	4,873	1,211		
81	4,812	1,219	4,952	1,206	5,003	1,202	5,028	1,209	5,061	1,208	5,023	1,211
82	4,857	1,257	5,223	1,231	5,399	1,217	5,511	1,208	5,519	1,208	5,592	1,203
83	4,860	1,201	5,047	1,190	5,151	1,184	5,239	1,179	5,225	1,180	5,307	1,174
84	4,883	1,217	4,972	1,209	5,036	1,204	5,061	1,202	5,043	1,202	5,015	1,204
85	4,900	1,227	5,130	1,209	5,196	1,207	5,210	1,204	5,241	1,201	5,218	1,204
86	4,950	1,261	5,242	1,241	5,439	1,223	5,582	1,213	5,559	1,215	5,668	1,208
87	5,024	1,276	5,362	1,259	5,633	1,241	5,820	1,228	5,868	1,224	6,027	1,211
88	5,070	1,254	5,673	1,218	5,896	1,203	6,023	1,193	5,996	1,192	6,069	1,189
89	5,096	1,232	5,220	1,220	5,274	1,214	5,273	1,210	5,257	1,210	5,219	1,212
90	5,275	1,232	5,457	1,225	5,520	1,218	5,578	1,213	5,598	1,208	5,608	1,204
91	5,322	1,229	5,588	1,215	5,707	1,207	5,780	1,205	5,777	1,203	5,830	1,193
92	5,566	1,222	5,781	1,214	5,875	1,205	5,964	1,200	5,922	1,202	5,979	1,200
93	5,620	1,235	5,884	1,218	6,018	1,211	6,039	1,209	6,087	1,205	6,036	1,205
94	5,725	1,221	5,963	1,219	6,045	1,215	6,076	1,211	6,094	1,207	6,131	1,205
95	5,730	1,271	5,950	1,255	6,222	1,238	6,419	1,222	6,624	1,214	6,544	1,213
96	5,888	1,236	6,173	1,222	6,266	1,213	6,345	1,207	6,312	1,207	6,354	1,206
97	6,031	1,239	6,359	1,222	6,655	1,205	6,829	1,198	6,874	1,196	6,988	1,188
98	6,073	1,219	6,487	1,194	6,602	1,182	6,657	1,175	6,570	1,174	6,658	1,172
99	6,354	1,258	6,682	1,242	6,893	1,229	7,021	1,222	7,020	1,224	7,115	1,218
<b>Átlag</b>	<b>3,911</b>		<b>4,143</b>		<b>4,249</b>		<b>4,306</b>		<b>4,301</b>		<b>4,344</b>	
<b>Szórás</b>	<b>0,920</b>		<b>0,960</b>		<b>0,984</b>		<b>1,001</b>		<b>1,005</b>		<b>1,020</b>	

## F-III.

## Csírázó csertölgy makkok tömeg és sűrűség adatai

Dátum 1999. január												
	4		5		6		7		8		11	
Sorszám	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )
1	2,307	1,270	2,605	1,230	2,684	1,219	2,707	1,208	2,797	1,202	2,785	1,200
2	2,581	1,221	2,813	1,195	2,876	1,185	2,903	1,178				
3	2,805	1,231	2,986	1,222	3,128	1,224	3,208	1,206	3,254	1,198	3,280	1,195
4	3,099	1,275	3,324	1,250	3,618	1,217	3,631	1,211	3,642	1,212	3,657	1,208
5	3,158	1,283	3,403	1,257	3,603	1,235	3,679	1,222	3,722	1,218	3,773	1,208
6	3,178	1,248	3,306	1,242	3,395	1,233	3,424	1,223	3,451	1,225	3,368	1,232
7	3,269	1,269	3,533	1,262	3,718	1,239	3,739	1,232	3,782	1,230	3,734	1,227
8	3,399	1,258	3,748	1,226	3,846	1,216	3,891	1,206				
9	3,431	1,271	3,742	1,245	3,866	1,231	3,887	1,224	3,981	1,219	3,993	1,215
10	3,460	1,250	3,886	1,207	4,036	1,196	4,080	1,189	4,125	1,189	4,125	1,188
11	3,515	1,259	3,945	1,220	4,074	1,207	4,106	1,202	4,128	1,201	4,140	1,198
12	3,525	1,243	3,874	1,222	4,022	1,207	3,999	1,202	4,049	1,204	3,953	1,209
13	3,541	1,261	3,882	1,226	4,047	1,210	4,122	1,202	4,199	1,198	4,235	1,192
14	3,671	1,236	3,968	1,212	4,092	1,202	4,139	1,194	4,189	1,192		
15	3,772	1,229	4,024	1,210	4,100	1,201	4,092	1,199	4,102	1,199	4,102	1,197
16	3,792	1,275	4,225	1,238	4,413	1,220	4,415	1,217	4,424	1,217	4,382	1,218
17	3,847	1,262	4,235	1,229	4,354	1,219	4,380	1,214	4,406	1,213	4,413	1,212
18	3,868	1,259	4,258	1,219	4,421	1,205	4,488	1,195				
19	3,869	1,254	4,168	1,228	4,257	1,219	4,279	1,214	4,323	1,213	4,322	1,212
20	4,009	1,250	4,338	1,222	4,418	1,215	4,465	1,211				
21	4,117	1,248	4,639	1,208	4,832	1,194	4,889	1,188	4,978	1,184		
22	4,225	1,225	4,597	1,198	4,705	1,190	4,757	1,183				
23	4,227	1,248	4,543	1,227	4,673	1,217	4,672	1,213	4,679	1,213	4,671	1,212
24	4,249	1,281	4,563	1,253	4,735	1,237	4,842	1,225	4,944	1,219	5,008	1,211
25	4,340	1,215	4,643	1,193	4,779	1,182	4,824	1,174				
26	4,468	1,269	4,827	1,241	5,026	1,226	5,121	1,218	5,181	1,216	5,196	1,214
27	4,492	1,228	4,681	1,217	4,705	1,215	4,680	1,213	4,653	1,217	4,584	1,221
28	4,501	1,235	4,866	1,213	5,097	1,197	5,161	1,190	5,257	1,186	5,268	1,183
29	4,504	1,264	4,892	1,233	5,092	1,217	5,139	1,209	5,175	1,234	5,173	1,207
30	4,505	1,247	5,057	1,205	5,227	1,196	5,169	1,195	5,235	1,194	5,198	1,196
31	4,611	1,238	4,966	1,212	5,214	1,196	5,208	1,192	5,313	1,190	5,280	1,190
32	4,619	1,261	5,191	1,218	5,356	1,207	5,367	1,202	5,376	1,202	5,362	1,199
33	4,659	1,261	4,970	1,243	5,177	1,227	5,242	1,220	5,279	1,218	5,162	1,224
34	4,703	1,238	5,003	1,216	5,110	1,209	5,148	1,198	5,192	1,193	5,198	1,188
35	4,742	1,264	5,047	1,246	5,308	1,226	5,298	1,225	5,273	1,227	5,146	1,234
36	4,743	1,248	5,151	1,215	5,315	1,202	5,331	1,198	5,340	1,199	5,315	1,000
37	4,756	1,244	5,026	1,224	5,063	1,227	5,078	1,215	5,152	1,214	5,091	1,216
38	4,804	1,237	5,117	1,216	5,278	1,207	5,322	1,201	5,401	1,196		
39	5,015	1,266	5,646	1,225	5,873	1,211	5,928	1,205	6,019	1,202	6,072	1,198
40	5,051	1,234	5,382	1,217	5,543	1,209	5,509	1,206	5,576	1,205	5,520	1,208
41	5,063	1,267	5,631	1,232	5,871	1,216	5,948	1,209	5,999	1,207	6,023	1,202
42	5,358	1,275	5,893	1,246	6,263	1,221	6,315	1,212	6,389	1,212	6,275	1,215
43	5,381	1,248	5,782	1,226	6,037	1,209	6,044	1,207	6,088	1,206	6,051	1,207
44	5,708	1,261	6,128	1,238	6,479	1,217	6,612	1,207	6,676	1,206	6,735	1,201
45	5,750	1,225	6,214	1,204	6,378	1,195	6,459	1,188	6,541	1,183	6,605	1,171
46	5,906	1,241	6,149	1,233	6,292	1,225	6,312	1,221	6,346	1,220	6,320	1,220
47	6,006	1,261	6,361	1,243	6,634	1,228	6,642	1,224	6,762	1,220	6,668	1,224
48	6,528	1,251	6,910	1,233	7,014	1,227	7,078	1,220	7,109	1,221	7,169	1,215
49	6,564	1,245	7,046	1,221	7,207	1,213	7,255	1,209	7,290	1,206	7,249	1,203
50	8,390	1,260	9,361	1,218	9,661	1,205	9,762	1,198				
<b>Átlag</b>	<b>4,402</b>		<b>4,771</b>		<b>4,938</b>		<b>4,975</b>		<b>5,019</b>		<b>5,015</b>	
<b>Szórás</b>	<b>1,118</b>		<b>1,208</b>		<b>1,243</b>		<b>1,252</b>		<b>1,073</b>		<b>1,104</b>	

## F-IV.

## Csírázó csertölgy makkok tömeg és sűrűség adatai

Dátum 1999. február-március												
Sorszám	25		26		27		28		1		2	
	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )
1	2,181	1,260	2,348	1,236	2,675	1,194	2,782	1,180	2,850	1,170	2,881	1,167
2	2,289	1,243	2,406	1,228	2,605	1,200	2,673	1,191	2,714	1,184	2,747	1,181
3	2,455	1,245	2,569	1,231	2,831	1,198	2,953	1,186	3,044	1,176		
4	2,472	1,264	2,607	1,249	2,926	1,210	3,083	1,190	3,163	1,179	3,198	1,173
5	2,478	1,281	2,590	1,264	2,841	1,230	2,992	1,214	3,081	1,203	3,123	1,197
6	2,516	1,196	2,684	1,177	2,891	1,157	2,990	1,143	3,061	1,132	3,100	1,129
7	2,552	1,247	2,658	1,233	2,869	1,204	2,985	1,192	3,086	1,181	3,129	1,175
8	2,616	1,271	2,781	1,250	3,055	1,214	3,230	1,198	3,398	1,181	3,458	1,174
9	2,741	1,258	2,843	1,246	3,094	1,216	3,252	1,199	3,363	1,188	3,424	1,180
10	2,832	1,239	3,030	1,216	3,233	1,196	3,307	1,186	3,307	1,183	3,397	1,176
11	2,945	1,262	3,145	1,240	3,452	1,206	3,600	1,193	3,690	1,183	3,723	1,180
12	3,078	1,264	3,233	1,246	3,538	1,212	3,659	1,201	3,763	1,188	3,813	1,185
13	3,121	1,257	3,219	1,248	3,537	1,213	3,757	1,195	3,915	1,180	3,968	1,176
14	3,157	1,268	3,280	1,254	3,616	1,218	3,809	1,203	3,943	1,188	3,998	1,184
15	3,201	1,226	3,333	1,215	3,449	1,202						
16	3,206	1,244	3,320	1,233	3,594	1,202	3,773	1,187	3,875	1,153	3,938	1,141
17	3,286	1,255	3,569	1,226	3,827	1,204	3,927	1,194	3,988	1,188	4,017	1,185
18	3,448	1,280	3,631	1,264	3,955	1,229	4,187	1,212	4,386	1,196	4,454	1,191
19	3,515	1,254	3,619	1,247	3,859	1,223	4,011	1,210	4,132	1,200	4,186	1,195
20	3,559	1,264	3,764	1,247	4,130	1,216	4,305	1,203	4,411	1,192	4,439	1,188
21	3,573	1,277	3,770	1,260	4,190	1,222	4,380	1,206	4,497	1,194	4,553	1,188
22	3,590	1,247	3,771	1,229	4,074	1,202	4,247	1,189	4,373	1,178	4,430	1,173
23	3,624	1,267	3,892	1,244	4,308	1,204	4,445	1,197	4,527	1,187	4,569	1,183
24	3,648	1,254	3,788	1,242	4,070	1,214	4,242	1,202	4,395	1,189	4,463	1,183
25	3,648	1,284	3,770	1,270	3,999	1,249	4,192	1,233				
26	3,649	1,253	3,772	1,242	4,072	1,215	4,251	1,199	4,506	1,181	4,629	1,173
27	3,698	1,269	3,861	1,254	4,250	1,219	4,496	1,200	4,966	1,205	4,704	1,185
28	3,718	1,225	3,876	1,213	4,095	1,194	4,210	1,185	4,308	1,178	4,359	1,174
29	3,727	1,269	3,873	1,255	4,257	1,216	4,442	1,200	4,586	1,181	4,645	1,172
30	3,779	1,244	3,894	1,239	4,009	1,229	4,100	1,221	4,201	1,212	4,279	1,205
31	3,817	1,212	4,015	1,196	4,271	1,177	4,399	1,167	4,512	1,158	4,574	1,153
32	3,850	1,217	4,021	1,212	4,330	1,190	4,456	1,182	4,603	1,173	4,661	1,167
33	3,885	1,257	4,034	1,247	4,344	1,220	4,527	1,205	4,698	1,193	4,786	1,188
34	3,908	1,263	4,011	1,256	4,247	1,234	4,463	1,214	4,672	1,198	4,786	1,186
35	3,982	1,255	4,064	1,249	4,321	1,230	4,576	1,205				
36	4,053	1,258	4,298	1,236	4,644	1,203	4,770	1,191	4,869	1,182	4,914	1,178
37	4,084	1,249	4,213	1,241	4,497	1,217	4,650	1,206	4,810	1,191	4,890	1,185
38	4,132	1,271	4,286	1,261	4,608	1,232	4,901	1,208	5,119	1,193		
39	4,261	1,271	4,474	1,253	4,762	1,229	4,909	1,218	5,021	1,208	5,064	1,205
40	4,342	1,252	4,520	1,239	4,727	1,224	4,853	1,214	4,973	1,205	5,035	1,200
41	4,348	1,248	4,467	1,239	4,715	1,220	4,834	1,211	4,916	1,204	4,962	1,200
42	4,401	1,247	4,619	1,230	4,977	1,202	5,162	1,189	5,293	1,182	5,353	1,177
43	4,432	1,273	4,613	1,259	5,096	1,219	5,284	1,207	5,434	1,196	5,507	1,190
44	4,438	1,241	4,700	1,222	4,979	1,204	5,097	1,195				
45	4,468	1,255	4,708	1,238	5,003	1,216	5,155	1,204	5,309	1,192	5,380	1,186
46	4,480	1,221	4,680	1,208	4,882	1,195	5,019	1,186	5,181	1,175	5,258	1,170
47	4,593	1,248	4,787	1,234	5,158	1,207	5,313	1,197	5,427	1,188	5,488	1,183
48	4,601	1,255	4,784	1,242	5,097	1,216	5,317	1,203	5,534	1,189	5,617	1,184
49	4,630	1,265	4,793	1,251	5,131	1,225	5,362	1,212	5,593	1,198	5,692	1,192
50	4,680	1,286	4,815	1,270	5,376	1,216	5,828	1,193	6,124	1,166	6,208	1,153

## F-IV. (folytatás)

## Csírázó csertölgy makkok tömeg és sűrűség adatai

Dátum 1999. február-március												
	25		26		27		28		1		2	
Sorszám	tömeg	sűrűség	tömeg	sűrűség	tömeg	sűrűség	tömeg	sűrűség	tömeg	sűrűség	tömeg	sűrűség
	(g)	(g/cm <sup>3</sup> )	(g)	(g/cm <sup>3</sup> )	(g)	(g/cm <sup>3</sup> )	(g)	(g/cm <sup>3</sup> )	(g)	(g/cm <sup>3</sup> )	(g)	(g/cm <sup>3</sup> )
53	4,916	1,267	5,109	1,255	5,595	1,221	5,812	1,209	5,941	1,201	5,992	1,197
54	4,965	1,263	5,158	1,249	5,584	1,217	5,823	1,201	5,997	1,191	6,072	1,185
55	5,010	1,247	5,247	1,231	5,489	1,216	5,615	1,208	5,712	1,199	5,759	1,196
56	5,200	1,233	5,348	1,224	5,652	1,203	5,846	1,194	6,014	1,183	6,084	1,178
57	5,300	1,245	5,540	1,238	5,863	1,218	6,035	1,207	6,175	1,199	6,238	1,194
58	5,311	1,255	5,493	1,243	5,743	1,226	5,886	1,217	6,038	1,206	6,109	1,201
59	5,321	1,239	5,526	1,229	5,766	1,213	5,908	1,206	6,031	1,198	6,085	1,195
60	5,403	1,261	5,663	1,251	6,187	1,214	6,431	1,204	6,691	1,192		
61	5,583	1,246	5,811	1,232	6,306	1,211	6,519	1,198	6,727	1,188	6,807	1,183
62	5,624	1,264	5,751	1,257	5,974	1,242						
63	5,663	1,267	5,925	1,250	6,339	1,225	6,512	1,216	6,649	1,207	6,711	1,204
64	5,671	1,262	6,214	1,227	6,712	1,192	7,041	1,180	7,304	1,167	7,412	1,162
65	5,827	1,264	6,081	1,249	6,537	1,221	6,785	1,209	6,979	1,198	7,057	1,192
66	5,852	1,261	6,072	1,248	6,420	1,228	6,600	1,219	6,744	1,209	6,817	1,206
67	5,934	1,261	6,228	1,255	6,747	1,216	7,039	1,199	7,258	1,187	7,349	1,187
68	6,180	1,243	6,299	1,238								
69	6,182	1,225	6,286	1,227								
70	6,551	1,240	6,815	1,230	7,268	1,207	7,478	1,196	7,723	1,185	7,823	1,180
71	7,389	1,220	7,540	1,218								
<b>Átlag</b>	<b>4,187</b>		<b>4,365</b>		<b>4,578</b>		<b>4,742</b>		<b>4,896</b>		<b>4,951</b>	
<b>Szórás</b>	<b>1,144</b>		<b>1,172</b>		<b>1,131</b>		<b>1,165</b>		<b>1,228</b>		<b>1,224</b>	

## F-V.

## Csírázó csertölgy makkok tömeg és sűrűség adatai

Dátum 1999. június												
	14		15		16		17		18		19	
Sorszám	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )
1	1,034	1,307	1,223	1,250	1,293	1,221	1,326	1,207	1,346	1,196	1,374	1,182
2	1,237	1,266	1,436	1,213	1,542	1,190	1,614	1,176	1,644	1,165	1,693	1,154
3	1,727	1,278	1,990	1,230	2,170	1,201	2,248	1,176	2,267	1,184	2,321	1,167
4	1,841	1,276	2,073	1,236	2,226	1,208	2,299	1,201	2,341	1,195	2,397	1,184
5	2,068	1,283	2,346	1,237	2,543	1,197	2,653	1,179	2,700	1,169	2,774	1,157
6	2,077	1,261	2,399	1,209	2,610	1,182	2,703	1,172	2,728	1,167	2,795	1,161
7	2,111	1,337	2,380	1,296	2,555	1,269	2,636	1,253	2,662	1,245	2,689	1,232
8	2,263	1,268	2,551	1,231	2,779	1,199	2,908	1,187	2,989	1,176	3,062	1,169
9	2,314	1,248	2,494	1,221	2,675	1,193	2,754	1,185	2,770	1,179	2,825	1,175
10	2,319	1,325	2,652	1,271	2,903	1,242	2,916	1,233	2,910	1,225	2,903	1,220
11	2,532	1,306	2,929	1,253	3,043	1,231	3,052	1,222	3,047	1,216	3,051	1,208
12	2,567	1,272	2,844	1,236	3,037	1,211	3,142	1,205	3,182	1,196	3,203	1,193
13	2,651	1,335	2,884	1,299	3,127	1,254	3,215	1,235	3,216	1,231	3,204	1,224
14	2,682	1,289	3,033	1,245	3,286	1,214	3,409	1,205	3,451	1,199	3,504	1,192
15	2,691	1,267	2,954	1,239	3,203	1,213	3,331	1,201	3,405	1,178	3,509	1,156
16	2,773	1,294	2,978	1,270	3,204	1,241	3,372	1,225	3,432	1,218	3,515	1,209
17	2,781	1,262	2,992	1,235	3,131	1,216	3,233	1,208	3,278	1,201	3,341	1,194
18	2,818	1,273	3,073	1,241	3,298	1,212	3,443	1,199	3,518	1,192	3,637	1,180
19	2,841	1,267	3,194	1,226	3,455	1,192	3,546	1,187	3,592	1,181	3,633	1,177
20	3,016	1,299	3,143	1,294	3,369	1,263	3,539	1,244	3,601	1,241	3,656	1,236
21	3,030	1,265	3,312	1,238	3,509	1,221	3,612	1,211	3,696	1,202	3,777	1,193
22	3,058	1,305	3,276	1,279	3,565	1,246	3,633	1,236	3,642	1,231	3,669	1,222
23	3,094	1,288	3,382	1,255	3,658	1,222	3,818	1,208	3,862	1,202	3,971	1,190
24	3,136	1,295	3,398	1,269	3,718	1,205	3,831	1,174	3,890	1,161	3,972	1,185
25	3,160	1,288	3,380	1,265	3,622	1,237	3,776	1,224	3,836	1,217	3,902	1,209
26	3,189	1,286	3,407	1,264	3,610	1,241	3,760	1,226	3,817	1,218	3,922	1,205
27	3,205	1,308	3,441	1,278	3,690	1,230	3,825	1,215	3,870	1,200	3,921	1,187
28	3,271	1,285	3,514	1,264	3,849	1,232	3,926	1,222	3,952	1,218	3,985	1,200
29	3,320	1,269	3,678	1,230	3,844	1,212	3,915	1,206	3,961	1,201	4,024	1,195
30	3,337	1,274	3,801	1,223	4,114	1,193	4,276	1,182	4,342	1,175	4,413	1,171
31	3,446	1,305	3,634	1,284	3,838	1,248	4,075	1,219	4,172	1,212	4,324	1,191
32	3,514	1,245	3,870	1,208	3,999	1,191	4,088	1,188	4,148	1,181	4,210	1,173
33	3,562	1,262	3,992	1,224	4,207	1,200	4,369	1,190	4,459	1,183	4,562	1,177
34	3,650	1,292	3,899	1,265	4,142	1,237	4,348	1,224	4,458	1,217	4,557	1,210
35	3,713	1,277	3,931	1,261	4,172	1,239	4,344	1,223	4,466	1,212	4,577	1,205
36	3,721	1,274	4,212	1,237	4,474	1,214	4,624	1,206	4,691	1,194	4,802	1,186
37	3,996	1,280	4,298	1,251	4,615	1,224	4,808	1,211	4,882	1,203	4,980	1,193
38	4,007	1,264	4,334	1,234	4,658	1,201	4,769	1,197	4,801	1,195	4,846	1,190
39	4,095	1,246	4,480	1,213	4,744	1,194	4,855	1,188	4,895	1,182	4,936	1,179
40	4,538	1,267	4,874	1,235	5,199	1,205	5,385	1,194	5,475	1,186	5,537	1,180
41	4,610	1,272	5,150	1,228	5,610	1,195	5,895	1,183	5,977	1,178	6,031	1,173
42	4,768	1,278	5,108	1,251	5,483	1,220	5,661	1,210	5,731	1,206	5,801	1,200
43	4,911	1,294	5,696	1,228	6,079	1,183	6,242	1,181	6,368	1,150	6,493	1,139
44	4,990	1,283	5,523	1,248	5,939	1,219	6,169	1,207	6,029	1,208	6,394	1,189
45	5,020	1,285	5,610	1,250	5,954	1,194	6,124	1,206	6,167	1,210	6,231	1,198
46	5,543	1,247	6,012	1,219	6,314	1,200	6,507	1,194	6,573	1,188	6,637	1,183
47	5,640	1,261	5,953	1,245	6,207	1,229	6,495	1,218	6,642	1,209	6,775	1,201
48	5,704	1,271	6,284	1,235	6,714	1,208	6,916	1,199	7,016	1,193	7,132	1,187
49	6,099	1,261	6,568	1,238	6,905	1,216	7,075	1,209	7,181	1,202	7,268	1,197
50	6,299	1,256	6,716	1,230	7,037	1,211	7,268	1,204	7,358	1,198	7,424	1,192
51	6,489	1,246	7,245	1,211	7,864	1,183	8,154	1,174	8,278	1,169	8,381	1,163
<b>Átlag</b>	<b>3,460</b>		<b>3,795</b>		<b>4,054</b>		<b>4,194</b>		<b>4,249</b>		<b>4,324</b>	
<b>Szórás</b>	<b>1,289</b>		<b>1,390</b>		<b>1,468</b>		<b>1,518</b>		<b>1,536</b>		<b>1,559</b>	

## F-VI.

## Csírázó csertölgy makkok tömeg és sűrűség adatai

Dátum 2000. január										
	18		19.de.		19.du.		20		21	
Sorszám	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )
1	1,832	1,250	1,925	1,994	1,943	1,223	1,967	1,215	1,971	1,212
2	2,186	1,265	2,508	1,233	2,563	1,232	2,705	1,209	2,807	1,197
3	2,381	1,118	2,926	1,138	3,008	1,143	2,981	1,132	3,000	1,131
4	2,711	1,155	3,113	1,151	3,156	1,149	3,269	1,142	3,373	1,142
5	2,799	1,185	3,242	1,182	3,307	1,178	3,481	1,162	3,604	1,151
6	2,845	1,216	2,946	1,205	2,956	1,203	2,975	1,198	2,989	1,198
7	2,884	1,235	3,045	1,219	3,076	1,217	3,116	1,209	3,131	1,205
8	3,027	1,246	3,289	1,217	3,328	1,213	3,419	1,202	3,479	1,193
9	3,059	1,274	3,384	1,238	3,434	1,234	3,517	1,223	3,553	1,219
10	3,142	1,234	3,345	1,213	3,385	1,208	3,467	1,203	3,500	1,198
11	3,143	1,246	3,252	1,236	3,276	1,231	3,343	1,225	3,350	1,219
12	3,266	1,238	3,400	1,225	3,425	1,220	3,471	1,214	3,490	1,211
13	3,333	1,115	3,781	1,115	3,855	1,116	4,018	1,113	4,113	1,107
14	3,518	1,273	3,742	1,259	3,771	1,257	3,862	1,253	3,979	1,246
15	3,550	1,228	3,801	1,205	3,830	1,204	3,906	1,196	3,946	1,195
16	3,585	1,237	3,955	1,213	4,087	1,200	4,350	1,182	4,548	1,173
17	3,599	1,097	4,105	1,080	4,169	1,084	4,358	1,098	4,552	1,121
18	3,725	1,183	3,992	1,170	4,030	1,167	4,154	1,166	4,268	1,170
19	3,972	1,277	4,526	1,233	4,599	1,225	4,742	1,212	4,821	1,201
20	3,984	1,250	4,108	1,239	4,131	1,233	4,182	1,229	4,223	1,227
21	4,433	1,221	4,643	1,210	4,679	1,204	4,762	1,200	4,763	1,196
22	4,548	1,231	4,764	1,219	5,723	1,184	4,877	1,207	4,902	1,199
23	4,683	1,275	5,275	1,234	5,347	1,228	5,482	1,216	5,568	1,210
24	4,794	1,266	4,990	1,258	5,025	1,254	5,138	1,246	5,284	1,233
25	5,048	1,236	5,383	1,216	5,404	1,215	5,488	1,209	5,586	1,202
26	5,126	1,237	5,307	1,227	5,330	1,223	5,405	1,217	5,458	1,216
27	5,173	1,185	5,649	1,183	6,013	1,222	5,869	1,187	5,980	1,190
28	5,294	1,245	5,734	1,218	5,779	1,214	5,869	1,207	5,930	1,205
29	5,310	1,217	5,723	1,205	5,795	1,173	5,949	1,193	6,028	1,180
30	5,421	1,195	5,957	1,199	6,077	1,192	6,280	1,189	6,431	1,175
31	5,573	1,266	6,172	1,228	6,203	1,225	6,284	1,214	6,310	1,220
32	5,601	1,215	5,834	1,211	5,864	1,211	5,927	1,206	5,945	1,206
33	5,608	1,250	6,054	1,224	6,103	1,221	6,259	1,212	6,327	1,206
34	5,827	1,233	5,993	1,224	6,020	1,222	6,070	1,217	6,087	1,216
35	5,853	1,238	6,401	1,209	6,463	1,204	6,572	1,197	6,591	1,195
36	5,904	1,267	6,913	1,214	6,986	1,210	7,105	1,201	7,147	1,198
37	5,933	1,241	6,147	1,230	6,177	1,227	6,245	1,223	6,304	1,218
38	6,093	1,232	6,351	1,219	6,405	1,214	6,508	1,208	6,597	1,197
39	6,171	1,217	6,432	1,217	6,456	1,213	6,517	1,210	6,565	1,208
40	6,315	1,281	6,909	1,247	6,979	1,242	7,129	1,233	7,126	1,232
41	6,728	1,242	7,005	1,229	7,029	1,225	7,112	1,217	7,090	1,215
42	6,959	1,243	7,151	1,237	7,169	1,234	7,217	1,230	7,241	1,228
43	7,355	1,215	7,927	1,188	7,949	1,187	8,024	1,186	8,076	1,181
44	7,381	1,244	7,653	1,229	7,691	1,225	7,801	1,219	7,872	1,212
45	7,452	1,291	8,362	1,214	8,440	1,210	8,541	1,208	8,677	1,198
46	7,866	1,246	8,304	1,227	8,372	1,222	8,503	1,218	8,524	1,217
47	8,318	1,176	9,106	1,177	9,160	1,175	9,315	1,167	9,417	1,163
48	10,746	1,252	11,594	1,226	11,743	1,221	12,072	1,211	12,242	1,206
<b>Átlag</b>	<b>4,876</b>		<b>5,253</b>		<b>5,327</b>		<b>5,408</b>		<b>5,474</b>	
<b>Szórás</b>	<b>1,853</b>		<b>1,969</b>		<b>1,980</b>		<b>2,004</b>		<b>2,013</b>	

## F-VII.

## Csírázó csertölgy makkok tömeg és sűrűség adatai

Dátum 2000. július												
Sorszám	10		11.de.		11.du.		12		13		14	
	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )	tömeg (g)	sűrűség (g/cm <sup>3</sup> )
1	0,959	1,250	1,294	1,182	1,340	1,182	1,396	1,173	1,394	1,172	1,384	1,155
2	2,438	1,265	2,655	1,237	2,722	1,232	2,829	1,214	2,929	1,200	3,003	1,192
3	2,477	1,256	2,852	1,217	2,926	1,209	3,114	1,189	3,266	1,173	3,359	1,166
4	2,513	1,279	3,046	1,196	3,110	1,188	3,228	1,172	3,333	1,150	3,477	1,153
5	2,717	1,241	3,163	1,202	3,263	1,198	3,352	1,184	3,440	1,173	3,514	1,169
6	2,767	1,246	3,178	1,160	3,266	1,160	3,392	1,156	3,501	1,143	3,621	1,126
7	2,914	1,255	3,282	1,211	3,336	1,206	3,440	1,198	3,513	1,190	3,566	1,181
8	3,111	1,239	3,485	1,206	3,551	1,199	3,648	1,193	3,756	1,183	3,823	1,179
9	3,323	1,255	3,724	1,213	3,829	1,206	4,002	1,193	4,140	1,182	4,213	1,175
10	3,346	1,224	3,638	1,200	3,732	1,191	3,893	1,178	3,989	1,167	4,071	1,163
11	3,447	1,281	3,690	1,253	3,778	1,250	3,968	1,227	4,150	1,215	4,264	1,205
12	3,555	1,289	3,899	1,249	3,956	1,246	4,066	1,249	4,166	1,240	4,253	1,234
13	3,579	1,240	3,948	1,222	4,030	1,215	4,192	1,198	4,307	1,187	4,425	1,186
14	3,652	1,284	4,109	1,232	4,222	1,219	4,381	1,202	4,539	1,188	4,661	1,178
15	3,668	1,235	4,073	1,216	4,144	1,210	4,259	1,205	4,352	1,193	4,451	1,190
16	3,698	1,267	4,041	1,238	4,160	1,226	4,306	1,213	4,436	1,202	4,527	1,195
17	3,754	1,236	4,094	1,207	4,176	1,200	4,388	1,185	4,590	1,167	4,721	1,165
18	3,763	1,344	4,209	1,289	4,309	1,277	4,502	1,254	4,660	1,236	4,718	1,226
19	3,799	1,302	4,067	1,277	4,127	1,268	4,241	1,256	4,344	1,248	4,416	1,237
20	3,870	1,245	4,404	1,178	4,506	1,165	4,638	1,094	4,728	1,139	4,810	1,129
21	3,918	1,253	4,086	1,240	4,113	1,239	4,159	1,235	4,224	1,232	4,286	1,227
22	4,000	1,313	4,347	1,285	4,433	1,276	4,579	1,258	4,672	1,243	4,696	1,234
23	4,043	1,243	4,471	1,211	4,617	1,199	4,824	1,129	4,996	1,176	5,090	1,171
24	4,105	1,255	4,392	1,229	4,451	1,224	4,624	1,212	4,768	1,202	4,927	1,191
25	4,238	1,269	5,109	1,200	5,291	1,193	5,556	1,178	5,666	1,170	5,760	1,168
26	4,299	1,262	4,835	1,219	4,912	1,212	5,058	1,204	5,194	1,195	5,273	1,190
27	4,354	1,303	4,732	1,278	4,824	1,272	5,001	1,255	5,228	1,238	5,400	1,227
28	4,371	1,226	5,110	1,200	5,223	1,190	5,411	1,172	5,534	1,162	5,689	1,148
29	4,386	1,198	5,015	1,211	5,103	1,209	5,266	1,207	5,393	1,202	5,471	1,198
30	4,456	1,266	5,030	1,227	5,127	1,218	5,304	1,204	5,445	1,194	5,524	1,189
31	4,566	1,271	4,926	1,247	5,033	1,240	5,274	1,210	5,563	1,189	5,744	1,174
32	4,760	1,239	4,990	1,227	5,033	1,222	5,101	1,215	5,147	1,209	5,210	1,204
33	4,842	1,246	5,452	1,213	5,552	1,205	5,726	1,196	5,873	1,186	5,974	1,181
34	4,899	1,244	5,268	1,218	5,337	1,214	5,474	1,206	5,572	1,197	5,672	1,190
35	5,044	1,280	5,819	1,230	5,928	1,221	6,123	1,206	6,253	1,202	6,337	1,198
36	5,198	1,235	5,693	1,219	5,808	1,211	5,985	1,199	6,159	1,189	6,373	1,185
37	5,357	1,276	5,868	1,247	6,008	1,238	6,233	1,212	6,499	1,193	6,681	1,179
38	5,464	1,297	5,813	1,277	5,917	1,269	6,133	1,257	6,382	1,245	6,598	1,235
39	5,504	1,249	5,823	1,226	5,900	1,221	6,025	1,212	6,144	1,200	6,216	1,200
40	5,618	1,300	6,107	1,260	6,340	1,252	6,504	1,207	6,721	1,207	6,942	1,222
41	5,734	1,253	5,919	1,242	5,951	1,240	6,005	1,235	6,051	1,229	6,137	1,225
42	5,797	1,281	6,300	1,227	6,401	1,214	6,569	1,206	6,683	1,197	6,789	1,181
43	5,969	1,269	6,361	1,253	6,480	1,217	6,703	1,197	6,894	1,199	7,043	1,215
44	6,018	1,261	6,736	1,229	6,882	1,222	7,151	1,208	7,394	1,153	7,556	1,141
45	6,181	1,247	6,791	1,216	6,932	1,211	7,164	1,198	7,380	1,188	7,565	1,180
46	6,534	1,275	7,095	1,223	7,182	1,215	7,385	1,194	7,566	1,177	7,849	1,163
47	6,710	1,228	7,387	1,194	7,525	1,188	7,729	1,179	7,920	1,171	8,067	1,165
48	6,744	1,245	7,298	1,138	7,420	1,198	7,631	1,192	7,821	1,185	7,939	1,187
49	6,883	1,242	7,710	1,204	7,826	1,152	7,961	1,114	8,093	1,118	8,166	1,165
50	7,101	1,264	7,793	1,232	7,925	1,226	8,123	1,217	8,240	1,211	8,345	1,207
<b>Átlag</b>	<b>4,409</b>		<b>4,863</b>		<b>4,959</b>		<b>5,120</b>		<b>5,260</b>		<b>5,372</b>	
<b>Szórás</b>	<b>1,339</b>		<b>1,424</b>		<b>1,443</b>		<b>1,470</b>		<b>1,500</b>		<b>1,530</b>	



## F-VIII.

 $\chi^2$ -értékek

(Sváb J., Biometriai módszerek a mezőgazdasági kutatásban, 477.o.)

FG	P %						
	99	95	90	50	10	5	1
1	0.000157	0.00393	0.0158	0.455	2.71	3.84	6.62
2	0.0201	0.103	0.211	1.39	4.61	5.99	9.21
3	0.115	0.352	0.584	2.37	6.25	8.71	11.3
4	0.297	0.711	1.06	3.36	7.78	9.49	13.3
5	0.554	1.15	1.61	4.35	9.24	11.1	15.1
6	0.872	1.64	2.20	5.35	10.6	12.6	16.8
7	1.24	2.17	2.83	6.35	12.0	14.1	18.5
8	1.65	2.73	3.49	7.34	13.4	15.5	20.1
9	2.09	3.33	4.17	8.34	14.7	16.9	21.7
10	2.56	3.94	4.87	9.34	16.0	18.3	23.2
11	3.05	4.57	5.58	10.3	17.3	19.7	24.7
12	3.57	5.23	6.30	11.3	18.5	21.0	26.2
13	4.11	5.89	7.04	12.3	19.8	22.4	27.7
14	4.66	6.57	7.79	13.3	21.1	23.7	29.1
15	5.23	7.26	8.55	14.3	22.3	25.0	30.6
16	5.81	7.96	9.31	15.3	23.5	26.3	32.0
17	6.41	8.67	10.1	16.3	24.8	27.6	33.4
18	7.01	9.39	10.9	17.3	26.0	28.9	34.8
19	7.63	10.1	11.7	18.3	27.2	30.1	36.2
20	8.26	10.9	12.4	19.3	28.4	31.4	37.6
21	8.90	11.6	13.2	20.3	29.6	32.7	38.9
22	9.54	12.3	14.0	21.3	30.8	33.9	40.3
23	10.2	13.1	14.8	22.3	32.0	35.2	41.6
24	10.9	13.8	15.7	23.3	33.2	36.4	43.0
25	11.5	14.6	16.5	24.3	34.4	37.7	44.3
30	15.0	18.5	20.6	29.3	40.3	43.8	50.9
40	22.2	26.5	29.1	39.3	51.8	55.8	63.7
50	29.7	34.8	37.7	49.3	63.2	67.5	76.2
60	37.5	43.2	46.5	59.3	74.4	79.1	88.4
70	45.4	51.7	55.3	69.3	85.5	90.5	100.4
80	53.5	60.4	64.3	79.3	96.6	101.9	112.3
90	61.8	69.1	73.3	89.3	107.6	113.1	124.1
100	70.1	77.9	82.4	99.3	118.5	124.3	135.8

## F-IX.

1998. december

$$\text{Sűrűség} = M \cdot \text{relatív tömeg} + B$$

M - meredekség; B - tengelymetszet; H - határozottsági fok  
 Mszórás - meredekség szórása; Bszórás - tengelymetszet szórása

Sorszám	M	Mszórás	B	Bszórás	H
54	-3,06E-02	5,60E-02	1,262265	5,81E-02	7,02E-02
25	-0,67696	0,989856	1,882312	1,054939	0,104676
81	-0,19659	0,10991	1,412523	0,11375	0,444365
94	-0,21951	6,85E-02	1,443189	7,19E-02	0,717024
8	-0,63523	0,228171	1,841462	0,240256	0,720968
65	-0,50054	0,126263	1,711589	0,131403	0,796734
24	-0,2661	6,03E-02	1,446952	6,52E-02	0,830868
22	-0,48227	0,105458	1,711276	0,111399	0,838846
39	-0,51655	0,113497	1,753672	0,117894	0,839184
62	-0,24957	5,31E-02	1,445316	5,52E-02	0,8563
40	-0,26129	5,03E-02	1,462896	5,15E-02	0,871345
89	-0,6101	0,115981	1,84183	0,118895	0,872654
69	-0,5474	0,101095	1,779023	0,107828	0,879986
44	-0,41819	7,45E-02	1,643951	7,89E-02	0,887593
90	-0,42519	7,33E-02	1,660585	7,65E-02	0,894514
6	-0,40884	6,86E-02	1,635899	7,37E-02	0,897918
15	-0,27903	4,38E-02	1,517968	4,66E-02	0,909809
2	-0,28321	4,12E-02	1,510224	4,39E-02	0,922543
91	-0,33134	4,64E-02	1,561481	4,94E-02	0,928174
56	-0,36273	4,79E-02	1,59285	5,01E-02	0,929963
12	-0,3869	5,28E-02	1,628393	5,75E-02	0,930608
28	-0,36433	4,80E-02	1,599304	5,06E-02	0,932411
17	-0,28933	0,037896	1,513051	3,93E-02	0,935596
98	-0,47872	0,062713	1,698975	6,72E-02	0,935822
1	-0,59513	7,72E-02	1,851562	8,79E-02	0,937002
30	-0,54379	6,61E-02	1,779077	6,83E-02	0,946243
74	-0,51902	6,18E-02	1,749878	6,32E-02	0,950323
61	-0,36852	4,17E-02	1,603574	0,04529	0,950488
18	-0,41081	4,66E-02	1,675096	0,053411	0,950934
36	-0,29126	3,21E-02	1,502951	3,37E-02	0,951401
38	-0,35165	3,79E-02	1,597244	4,18E-02	0,955317
5	-0,52343	5,23E-02	1,744834	5,40E-02	0,956542
51	-0,31875	3,14E-02	1,54166	3,27E-02	0,961649
7	-0,38174	3,83E-02	1,609543	0,040858	0,961765
20	-0,36014	3,55E-02	1,576382	3,78E-02	0,962618
26	-0,31794	3,07E-02	1,548323	3,18E-02	0,964557
42	-0,34665	3,16E-02	1,558901	3,35E-02	0,96598
23	-0,34844	0,031506	1,568484	3,34E-02	0,966869
49	-0,29637	2,77E-02	1,505329	2,92E-02	0,967117
84	-0,41149	3,35E-02	1,627795	3,43E-02	0,967969
57	-0,40122	3,73E-02	1,622105	3,91E-02	0,96834
47	-0,32519	2,94E-02	1,590128	3,31E-02	0,968557
92	-0,31933	2,98E-02	1,542456	3,13E-02	0,968681
35	-0,30449	2,74E-02	1,589989	3,08E-02	0,96894
41	-0,36798	3,33E-02	1,607664	0,035134	0,969339
					H > 0.97
96	-0,39251	3,41E-02	1,62989	3,61E-02	0,970508
80	-0,45388	3,49E-02	1,6868	3,59E-02	0,975272
78	-0,38626	3,26E-02	1,629881	3,61E-02	0,978605

## F-IX. (folytatás)

Sorszám	M	Mszórás	B	Bszórás	H
93	-0,35693	2,68E-02	1,591464	0,0284	0,978623
79	-0,39847	2,91E-02	1,640083	3,07E-02	0,979476
45	-0,35092	2,45E-02	1,588935	2,63E-02	0,980144
29	-0,27154	1,93E-02	1,509676	2,13E-02	0,980177
4	-0,29818	2,29E-02	1,508955	2,42E-02	0,980443
67	-0,38399	2,70E-02	1,641946	2,88E-02	0,980848
85	-0,35531	2,37E-02	1,582166	2,49E-02	0,98245
64	-0,2677	1,72E-02	1,480007	1,83E-02	0,982734
21	-0,40507	2,56E-02	1,6205	2,72E-02	0,983612
77	-0,263	1,54E-02	1,475842	1,58E-02	0,984899
55	-0,38929	2,32E-02	1,659483	2,64E-02	0,98596
43	-0,37753	2,28E-02	1,637951	2,49E-02	0,985975
72	-0,29139	1,60E-02	1,526684	1,80E-02	0,987842
71	-0,33989	1,94E-02	1,560753	2,11E-02	0,988097
27	-0,36124	1,95E-02	1,639852	2,27E-02	0,988615
48	-0,36997	0,022725	1,606915	0,024626	0,989407
63	-0,41041	2,10E-02	1,649174	2,26E-02	0,989768
50	-0,36051	1,76E-02	1,625359	1,95E-02	0,990431
95	-0,38427	1,81E-02	1,654451	1,98E-02	0,990738
13	-0,31811	1,48E-02	1,576353	0,01606	0,990859
53	-0,25634	1,21E-02	1,467009	1,34E-02	0,990958
66	-0,3325	1,54E-02	1,583601	1,72E-02	0,991836
14	-0,33327	1,52E-02	1,557502	1,64E-02	0,992056
75	-0,37872	1,59E-02	1,634393	1,73E-02	0,992069
34	-0,32621	8,90E-03	1,566095	9,45E-03	0,992974
87	-0,32399	1,35E-02	1,602328	0,015186	0,993683
46	-0,4233	2,02E-02	1,67639	0,021829	0,99382
76	-0,35441	1,25E-02	1,610912	1,36E-02	0,994254
60	-0,34276	1,35E-02	1,603353	1,46E-02	0,994286
33	-0,33883	1,16E-02	1,622503	1,30E-02	0,994948
88	-0,33043	1,16E-02	1,585462	1,33E-02	0,995462
31	-0,32812	1,13E-02	1,593311	1,24E-02	0,995505
86	-0,37296	0,012443	1,634182	1,36E-02	0,995801
83	-0,29184	9,79E-03	1,493239	1,04E-02	0,99603
32	-0,33711	1,09E-02	1,585428	1,20E-02	0,99613
73	-0,33133	9,72E-03	1,572976	1,06E-02	0,996224
99	-0,33899	0,011449	1,597513	1,23E-02	0,996313
68	-0,23292	6,46E-03	1,456013	6,78E-03	0,996541
11	-0,37408	8,65E-03	1,634331	9,58E-03	0,997163
70	-0,3514	9,33E-03	1,598758	0,010029	0,997169
3	-0,29522	7,57E-03	1,50176	8,23E-03	0,997211
10	-0,32799	8,96E-03	1,55762	9,90E-03	0,997228
16	-0,32368	8,19E-03	1,58228	9,28E-03	0,997444
97	-0,31326	7,25E-03	1,551782	7,97E-03	0,997743
37	-0,31184	7,41E-03	1,577063	8,50E-03	0,997832
58	-0,35925	8,22E-03	1,61503	9,01E-03	0,998267
59	-0,33639	6,32E-03	1,583629	6,97E-03	0,998292
9	-0,29631	7,01E-03	1,527702	7,68E-03	0,998589
19	-0,31218	4,43E-03	1,574252	5,07E-03	0,998858
52	-0,39567	6,32E-03	1,677585	6,98E-03	0,999379
82	-0,36148	1,94E-03	1,61898	2,14E-03	0,999672
<b>*Átlag</b>	<b>- 0,343</b>				
<b>*Szórás</b>	<b>0,0443</b>				

(\* - az átlag és szórás értékek H > 0.97 adatokra vonatkoznak.)

F-X.

1999. január

$$\text{Sűrűség} = M \cdot \text{relatív tömeg} + B$$

M - meredekség; B - tengelymetszet; H - határozottsági fok  
 Mszórás - meredekség szórása; Bszórás - tengelymetszet szórása

Sorszám	M	Mszórás	B	Bszórás	H
36	-0,79709	0,806323	2,050731	0,884556	0,196332
29	-0,32061	8,79E-02	1,58276	0,097676	0,768336
3	-0,20732	5,11E-02	1,442674	5,67E-02	0,804576
7	-0,28017	5,37E-02	1,554368	5,97E-02	0,872155
6	-0,29708	4,90E-02	1,547347	5,18E-02	0,900743
37	-0,37173	6,10E-02	1,616425	6,45E-02	0,904187
27	-0,28889	3,99E-02	1,516475	4,12E-02	0,934782
34	-0,44912	0,05601	1,690121	6,03E-02	0,941899
46	-0,29197	3,19E-02	1,533879	3,36E-02	0,949606
45	-0,33419	3,73E-02	1,561888	4,11E-02	0,95214
12	-0,27223	3,04E-02	1,51605	3,37E-02	0,952511
15	-0,34272	3,35E-02	1,572159	0,035792	0,963257
49	-0,35868	3,28E-02	1,604138	3,55E-02	0,967358
					H > 0,97
40	-0,28504	0,020746	1,51959	2,23E-02	0,979489
23	-0,32777	2,40E-02	1,576637	2,60E-02	0,980278
48	-0,35577	2,41E-02	1,607532	2,57E-02	0,982778
2	-0,33358	2,78E-02	1,555619	3,01E-02	0,985699
35	-0,33276	1,89E-02	1,597341	2,04E-02	0,985874
42	-0,34489	2,05E-02	1,621669	2,33E-02	0,986053
25	-0,35322	2,89E-02	1,569176	3,09E-02	0,986871
33	-0,33011	1,91E-02	1,591967	2,08E-02	0,987242
31	-0,32221	1,78E-02	1,559361	1,97E-02	0,987344
9	-0,34017	1,91E-02	1,612477	2,13E-02	0,987616
8	-0,34498	2,53E-02	1,604119	2,77E-02	0,989281
1	-0,33294	1,73E-02	1,603504	1,99E-02	0,989453
32	-0,36067	1,82E-02	1,621677	2,05E-02	0,990479
47	-0,33315	1,61E-02	1,594726	1,75E-02	0,990641
16	-0,35424	1,64E-02	1,630306	1,85E-02	0,991409
30	-0,32813	1,42E-02	1,57452	1,60E-02	0,992142
19	-0,35468	1,63E-02	1,608593	1,78E-02	0,992593
5	-0,37517	0,01601	1,659519	1,81E-02	0,99268
14	-0,31762	0,014984	1,554043	0,016391	0,993069
41	-0,33473	1,30E-02	1,602655	0,014823	0,994026
38	-0,32476	1,31E-02	1,561867	1,42E-02	0,994758
28	-0,3044	0,010389	1,540243	1,16E-02	0,994855
22	-0,32381	1,49E-02	1,549711	1,61E-02	0,995014
43	-0,32917	1,24E-02	1,577976	1,36E-02	0,9951
10	-0,32095	1,02E-02	1,569892	1,17E-02	0,995624
4	-0,36458	1,12E-02	1,639754	1,27E-02	0,996284
11	-0,33468	1,07E-02	1,5939	1,21E-02	0,996294
13	-0,34473	9,77E-03	1,604751	1,11E-02	0,99681

## F-X. (folytatás)

Sorszám	M	Mszórás	B	Bszórás	H
24	-0,39104	1,08E-02	1,672558	1,20E-02	0,997152
17	-0,33986	9,63E-03	1,602399	1,07E-02	0,997576
18	-0,38891	1,41E-02	1,647733	1,56E-02	0,997619
21	-0,31041	8,26E-03	1,557913	9,44E-03	0,997986
26	-0,33708	6,95E-03	1,605612	7,74E-03	0,997987
50	-0,37003	1,07E-02	1,629991	1,19E-02	0,998165
39	-0,32365	7,23E-03	1,589146	8,32E-03	0,998387
44	-0,33412	5,43E-03	1,595588	6,08E-03	0,998594
20	-0,33974		1,589801		0,99965
<b>Átlag</b>	<b>-0,339</b>				
<b>Szórás</b>	<b>0,0217</b>				

(\* - az átlag és szórás értékek  $H > 0.97$  adatokra vonatkoznak.)

## F-XI.

1999. február-március

$$\text{Sűrűség} = M \cdot \text{relatív tömeg} + B$$

M - meredekség; B - tengelymetszet; H - határozottsági fok  
 Mszórás - meredekség szórása; Bszórás - tengelymetszet szórása

Sorszám	M	Mszórás	B	Bszórás	H
56	-8,08E-07	6,23E-07	1,207441	9,30E-03	0,295687
27	-0,2244654	5,25E-02	1,48477	6,18E-02	0,820601
16	-0,432815	4,75E-02	1,681696	0,053702	0,953861
					H > 0.97
69	8,43E-02	1,10E+21	1,141048	1,11E+21	0,9801
67	-0,3428068	2,27E-02	1,60801	2,59E-02	0,982672
57	-0,2978608	1,64E-02	1,546057	1,81E-02	0,987838
60	-0,3019011	1,86E-02	1,563812	2,10E-02	0,989011
50	-0,3863242	1,93E-02	1,668544	2,29E-02	0,990041
64	-0,3247437	1,61E-02	1,583375	1,92E-02	0,99009
32	-0,2434371	1,22E-02	1,463335	0,013684	0,990135
30	-0,3041287	1,30E-02	1,550351	1,39E-02	0,992473
49	-0,3130129	1,22E-02	1,57542	1,37E-02	0,994189
6	-0,289761	1,10E-02	1,486586	1,25E-02	0,99447
62	-0,3541492	2,19E-02	1,618722	2,25E-02	0,995215
10	-0,3188652	1,09E-02	1,557882	0,01227	0,995531
8	-0,2988199	9,75E-03	1,56762	0,011567	0,995803
35	-0,3354828	1,32E-02	1,591557	1,41E-02	0,995979
18	-0,3074073	9,50E-03	1,586131	1,11E-02	0,996032
15	-0,3125744	2,18E-02	1,539359	2,27E-02	0,996276
26	-0,3008393	9,05E-03	1,552581	1,03E-02	0,996314
29	-0,3832776	1,15E-02	1,653103	1,32E-02	0,996443
55	-0,3383579	1,09E-02	1,585655	1,20E-02	0,996494
52	-0,4162656	1,20E-02	1,680921	1,36E-02	0,99671
24	-0,318396	7,06E-03	1,572101	7,95E-03	0,997718
25	-0,3374082	1,13E-02	1,619938	1,21E-02	0,997734
23	-0,3220472	7,36E-03	1,589214	8,62E-03	0,997754
51	-0,364608	1,68E-02	1,608807	1,73E-02	0,997769
33	-0,3052173	7,04E-03	1,562397	7,96E-03	0,997812
42	-0,3249548	7,42E-03	1,571283	8,39E-03	0,997852
61	-0,2817972	6,92E-03	1,527339	7,82E-03	0,997861
68	-0,2316602		1,474373		0,997917
5	-0,3172979	6,74E-03	1,596356	7,79E-03	0,997919
48	-0,3251679	7,99E-03	1,579353	8,98E-03	0,99794
7	-0,3189942	7,83E-03	1,565445	8,86E-03	0,998009
37	-0,3260145	7,68E-03	1,575829	8,52E-03	0,998058
71	-7,88E-02	9,03E+20	1,298275	9,12E+20	0,998077
14	-0,3152719	6,76E-03	1,582083	7,81E-03	0,998174
13	-0,3014962	6,33E-03	1,558011	7,31E-03	0,998174

## F-XI. (folytatás)

Sorszám	M	Mszórás	B	Bszórás	H
38	-0,3364269	6,64E-03	1,608307	7,43E-03	0,99829
3	-0,2884866	6,54E-03	1,532765	7,41E-03	0,998339
19	-0,3144116	4,64E-03	1,568978	5,14E-03	0,998459
20	-0,3044787	5,66E-03	1,569243	6,54E-03	0,998519
4	-0,3074812	6,29E-03	1,572645	7,43E-03	0,998519
12	-0,3309692	6,09E-03	1,593744	6,97E-03	0,998576
22	-0,3134659	5,31E-03	1,559358	6,05E-03	0,998747
54	-0,3493529	5,73E-03	1,611688	6,48E-03	0,998827
9	-0,3105447	5,57E-03	1,568058	6,36E-03	0,998887
53	-0,3210485	3,77E-03	1,588312	4,27E-03	0,998904
63	-0,340008	4,16E-03	1,606502	4,64E-03	0,999
44	-0,3106733	7,93E-03	1,551623	8,60E-03	0,999038
70	-0,3159125	4,69E-03	1,557191	5,22E-03	0,999072
11	-0,31055	3,67E-03	1,571936	4,28E-03	0,999083
34	-0,3456329	5,39E-03	1,609539	6,01E-03	0,999099
17	-0,3121955	3,75E-03	1,566813	4,32E-03	0,999132
59	-0,3106164	4,76E-03	1,550263	5,17E-03	0,999144
43	-0,3430609	4,62E-03	1,615908	5,30E-03	0,999154
2	-0,3155508	3,03E-03	1,55904	3,42E-03	0,999198
47	-0,3351563	4,59E-03	1,58374	5,13E-03	0,999266
39	-0,3463006	3,56E-03	1,616569	3,97E-03	0,999295
45	-0,3376201	4,95E-03	1,593031	5,55E-03	0,999347
31	-0,2947255	4,88E-03	1,506507	5,46E-03	0,999406
65	-0,3358336	1,81E-03	1,599275	2,03E-03	0,999458
21	-0,3211529	3,06E-03	1,598532	3,57E-03	0,999486
40	-0,3254227	2,50E-03	1,577627	2,73E-03	0,999495
28	-0,3010829	1,61E-03	1,526281	1,77E-03	0,999499
58	-0,3587313	5,57E-03	1,613911	6,05E-03	0,999574
46	-0,2932367		1,514214		0,999599
1	-0,2875109	2,61E-03	1,546573	3,15E-03	0,999611
41	-0,3382745	5,03E-03	1,586637	5,46E-03	0,999693
66	-0,3327438		1,593357		0,999807
36	-0,3760044		1,633883		0,999985
<b>*Átlag</b>	<b>- 0,312</b>				
<b>*Szórás</b>	<b>0,0638</b>				

(\* - az átlag és szórás értékek H > 0.97 adatokra vonatkoznak.)

## F-XII.

1999. június

$$\text{Sűrűség} = M \cdot \text{relatív tömeg} + B$$

M - meredekség; B - tengelymetszet; H - határozottsági fok  
 Mszórás - meredekség szórása; Bszórás - tengelymetszet szórása

Sorszám	M	Mszórás	B	Bszórás	H
45	-0,37017	0,062797	1,655537	7,34E-02	0,896343
24	-0,50937	6,92E-02	1,808621	8,10E-02	0,931188
11	-0,42679	5,57E-02	1,735357	6,48E-02	0,936121
28	-0,34878	3,45E-02	1,636374	0,039662	0,962163
15	-0,34636	3,42E-02	1,618437	4,06E-02	0,962393
10	-0,37641	0,035397	1,701876	4,24E-02	0,965747
					H >0.97
7	-0,36191	2,44E-02	1,701381	2,91E-02	0,982174
43	-0,47756	3,17E-02	1,77591	3,86E-02	0,982644
13	-0,50176	0,032577	1,840316	0,037567	0,983535
34	-0,32938	2,08E-02	1,617593	2,38E-02	0,984562
22	-0,39282	2,37E-02	1,699478	2,69E-02	0,985604
20	-0,31905	1,80E-02	1,621077	2,03E-02	0,987371
1	-0,37524	2,11E-02	1,686728	0,025886	0,987662
3	-0,31849	1,67E-02	1,597129	2,06E-02	0,989104
27	-0,53397	2,66E-02	1,845711	3,04E-02	0,990145
50	-0,34491	1,58E-02	1,599468	0,017603	0,991289
41	-0,3118	1,43E-02	1,580125	1,73E-02	0,991539
32	-0,35685	1,54E-02	1,600986	1,75E-02	0,992706
31	-0,45402	1,93E-02	1,759118	2,20E-02	0,992911
36	-0,30009	1,23E-02	1,575033	1,46E-02	0,993516
44	-0,33463	1,32E-02	1,617172	0,015458	0,993666
38	-0,35146	1,35E-02	1,61426	0,015379	0,993928
12	-0,31255	1,19E-02	1,583513	0,013986	0,994303
33	-0,30791	0,011336	1,568307	1,34E-02	0,994464
18	-0,32087	1,18E-02	1,591679	1,39E-02	0,994557
6	-0,28889	1,05E-02	1,547134	1,30E-02	0,99461
30	-0,31919	1,17E-02	1,59034	1,43E-02	0,99464
46	-0,31771	1,15E-02	1,564311	1,31E-02	0,994935
17	-0,33618	1,06E-02	1,597157	0,01194	0,99606
49	-0,3354	1,02E-02	1,597251	1,15E-02	0,99627
42	-0,35833	1,03E-02	1,635198	1,17E-02	0,996332
47	-0,2908	8,02E-03	1,551153	8,95E-03	0,996592
40	-0,38934	1,09E-02	1,654421	1,25E-02	0,996639
19	-0,32631	9,35E-03	1,592835	1,12E-02	0,99673
4	-0,30108	8,58E-03	1,575885	1,03E-02	0,996741
9	-0,33831	9,70E-03	1,585996	1,11E-02	0,996773
51	-0,28037	7,02E-03	1,52521	8,40E-03	0,997373
2	-0,29907	7,46E-03	1,563057	9,25E-03	0,997425



## F-XII. (folytatás)

Sorszám	M	Mszórás	B	Bszórás	H
37	-0,34464	8,51E-03	1,623454	9,81E-03	0,997498
14	-0,3131	7,87E-03	1,60072	9,51E-03	0,997598
16	-0,31887	7,88E-03	1,612264	9,16E-03	0,997607
39	-0,32084	8,15E-03	1,566075	9,30E-03	0,997619
21	-0,28622	6,21E-03	1,551224	7,17E-03	0,998281
8	-0,28348	5,90E-03	1,550378	7,23E-03	0,99829
25	-0,33389	7,15E-03	1,62175	8,20E-03	0,998474
48	-0,33379	6,30E-03	1,60327	7,34E-03	0,998479
5	-0,37284	7,34E-03	1,656812	8,97E-03	0,998505
35	-0,32042	5,63E-03	1,59865	6,39E-03	0,998712
26	-0,35121	6,68E-03	1,638347	7,59E-03	0,998771
23	-0,34388	6,65E-03	1,63102	7,83E-03	0,998912
29	-0,35248	5,59E-03	1,621348	6,40E-03	0,999411
<b>*Átlag</b>	<b>- 0,344</b>				
<b>*Szórás</b>	<b>0,0545</b>				

(\* - az átlag és szórás értékek H > 0.97 adatokra vonatkoznak.)

## F-XIII.

2000. január

$$\text{Sűrűség} = M \cdot \text{relatív tömeg} + B$$

M - meredekség; B - tengelymetszet; H - határozottsági fok  
 Mszórás - meredekség szórása; Bszórás - tengelymetszet szórása

Sorszám	M	Mszórás	B	Bszórás	H
1	-0,7902	6,402433	2,210198	6,739364	5,05E-03
17	7,58E-02	0,083036	1,008674	9,62E-02	0,217502
27	0,128533	0,117636	1,050695	0,130634	0,284694
47	-7,38E-02	5,28E-02	1,251861	5,76E-02	0,393578
13	-2,67E-02	1,88E-02	1,143975	2,16E-02	0,400598
30	-9,15E-02	5,14E-02	1,291846	5,73E-02	0,513882
29	-0,26522	0,126443	1,481322	0,137311	0,594483
39	-0,13027	5,54E-02	1,348493	5,78E-02	0,642015
18	-0,10082	4,10E-02	1,28025	4,44E-02	0,669686
3	6,99E-02	2,62E-02	1,048467	3,15E-02	0,705022
5	-0,11456	3,95E-02	1,306245	4,66E-02	0,736948
32	-0,13829	0,038679	1,353688	4,03E-02	0,81233
22	-0,16845	4,49E-02	1,391854	4,91E-02	0,825129
4	-5,59E-02	0,013738	1,212391	1,59E-02	0,841658
42	-0,34752	7,17E-02	1,591147	7,37E-02	0,894323
41	-0,45438	8,07E-02	1,697901	8,39E-02	0,912765
21	-0,30931	3,91E-02	1,530937	4,11E-02	0,952407
11	-0,37957	4,73E-02	1,626424	4,93E-02	0,954876
7	-0,33099	4,16E-02	1,567059	4,40E-02	0,95639
6	-0,36236	4,24E-02	1,578706	4,38E-02	0,962192
38	-0,40687	0,044602	1,640621	4,68E-02	0,965618
24	-0,32827	3,45E-02	1,597172	3,63E-02	0,969505
					H > 0,97
34	-0,3678	3,37E-02	1,60099	0,03471	0,978702
31	-0,36742	2,95E-02	1,633361	3,24E-02	0,980205
20	-0,3961	2,47E-02	1,645768	2,56E-02	0,982932
2	-0,23761	1,82E-02	1,504701	2,13E-02	0,983244
26	-0,34512	2,43E-02	1,582614	0,025222	0,983625
12	-0,38924	2,50E-02	1,628224	0,026147	0,986548
45	-0,57445	3,26E-02	1,86355	3,64E-02	0,99034
44	-0,46507	2,28E-02	1,70958	2,37E-02	0,990532
19	-0,34592	1,87E-02	1,624327	2,14E-02	0,991186
10	-0,3113	1,58E-02	1,544934	1,69E-02	0,991969
15	-0,3042	1,30E-02	1,53172	1,39E-02	0,992796
14	-0,2058	8,23E-03	1,478368	8,83E-03	0,993015
16	-0,2451	1,17E-02	1,481762	1,34E-02	0,993465
37	-0,36289	1,87E-02	1,604659	1,94E-02	0,993707

## F-XIII. (folytatás)

Sorszám	M	Mszórás	B	Bszórás	H
43	-0,33768	1,38E-02	1,552372	1,47E-02	0,995133
35	-0,33652	1,34E-02	1,575219	1,46E-02	0,995579
25	-0,31492	0,014466	1,55143	1,54E-02	0,995704
28	-0,33774	1,30E-02	1,582827	1,40E-02	0,996373
46	-0,35151	9,31E-03	1,597517	9,85E-03	0,99641
36	-0,32283	9,55E-03	1,590299	1,10E-02	0,997187
23	-0,3401	0,008897	1,615442	1,00E-02	0,997581
8	-0,3479	0,01123	1,594418	0,012287	0,997594
33	-0,33299	0,010525	1,583078	1,14E-02	0,998036
9	-0,33727	7,61E-03	1,611274	8,44E-03	0,998301
40	-0,3769	5,30E-03	1,658287	5,79E-03	0,999368
48	-0,33187	2,60E-03	1,584062	2,83E-03	0,999371
<b>*Átlag</b>	<b>- 0,346</b>				
<b>*Szórás</b>	<b>0,0692</b>				

(\* - az átlag és szórás értékek H > 0.97 adatokra vonatkoznak.)

## F-XIV.

2000. július

$$\text{Sűrűség} = M \cdot \text{relatív tömeg} + B$$

M - meredekség; B - tengelymetszet; H - határozottsági fok  
 Mszórás - meredekség szórása; Bszórás - tengelymetszet szórása

Sorszám	M	Mszórás	B	Bszórás	H
29	9,08E-03	3,13E-02	1,193766	3,65E-02	2,07E-02
48	-0,24845	0,236823	1,466252	0,262865	0,215731
23	-0,32622	0,124105	1,565316	0,143852	0,633187
49	-0,60655	0,206337	1,850628	0,233383	0,683449
43	-0,38115	0,122191	1,644903	0,134799	0,708662
20	-0,53423	0,126664	1,778752	0,14738	0,816468
40	-0,39287	9,27E-02	1,686929	0,105413	0,817821
44	-0,47306	0,089838	1,74931	0,104123	0,874006
12	-0,26169	4,31E-02	1,544465	4,84E-02	0,901725
6	-0,36874	5,34E-02	1,603199	6,37E-02	0,922341
28	-0,25559	3,44E-02	1,488497	4,12E-02	0,932269
1	-0,18183	2,23E-02	1,430957	3,02E-02	0,943563
22	-0,43754	4,50E-02	1,755435	5,02E-02	0,959146
13	-0,24975	2,45E-02	1,492751	2,80E-02	0,963372
32	-0,38005	3,61E-02	1,621722	3,83E-02	0,96541
					H > 0,97
4	-0,35071	3,06E-02	1,624584	3,82E-02	0,970455
36	-0,23974	2,07E-02	1,47707	2,34E-02	0,970746
41	-0,40951	3,19E-02	1,663312	3,32E-02	0,975786
15	-0,2145	1,64E-02	1,451305	1,87E-02	0,977442
37	-0,40765	2,56E-02	1,688795	0,029279	0,984889
5	-0,24892	1,46E-02	1,491295	1,75E-02	0,986831
25	-0,28455	1,53E-02	1,550328	1,91E-02	0,988512
42	-0,5627	3,02E-02	1,841232	0,033453	0,988784
11	-0,31848	1,65E-02	1,597039	1,86E-02	0,98931
46	-0,57469	2,94E-02	1,847163	3,28E-02	0,989559
31	-0,38955	1,98E-02	1,663955	2,26E-02	0,989715
17	-0,28375	1,45E-02	1,51746	1,67E-02	0,989907
9	-0,29314	1,23E-02	1,545588	1,44E-02	0,992852
39	-0,39473	1,50E-02	1,643631	0,016157	0,993005
26	-0,31874	1,18E-02	1,578982	0,013527	0,994326
38	-0,29825	1,11E-02	1,593481	1,23E-02	0,994571
2	-0,32257	1,19E-02	1,588822	1,36E-02	0,994881
7	-0,31832	1,16E-02	1,571923	1,33E-02	0,994888
27	-0,32428	1,13E-02	1,628859	1,28E-02	0,995336
35	-0,32532	1,07E-02	1,604316	1,26E-02	0,995662
24	-0,31578	0,010281	1,568464	1,14E-02	0,995905
14	-0,38867	1,20E-02	1,670712	1,40E-02	0,996045
19	-0,39687	1,15E-02	1,700023	1,27E-02	0,996409
8	-0,2628	7,79E-03	1,500852	8,94E-03	0,996456
10	-0,28576	8,26E-03	1,509741	9,34E-03	0,997085
34	-0,34256	9,14E-03	1,587201	1,00E-02	0,997301

## F-XIV. (folytatás)

Sorszám	M	Mszórás	B	Bszórás	H
33	-0,28052	6,89E-03	1,527091	7,95E-03	0,997593
30	-0,32349	6,66E-03	1,590011	7,71E-03	0,998216
47	-0,3123	5,67E-03	1,539141	6,40E-03	0,998376
21	-0,27136		1,523732		0,998804
45	-0,30093	5,49E-03	1,54726	6,23E-03	0,998965
3	-0,2561	4,05E-03	1,511759	4,92E-03	0,999106
50	-0,324		1,587601		0,99934
16	-0,3239	5,02E-03	1,591086	5,71E-03	0,999364
18	-0,45651	4,04E-03	1,799762	4,69E-03	0,999632
<b>*Átlag</b>	<b>- 0,335</b>				
<b>*Szórás</b>	<b>0,079</b>				

(\* - az átlag és szórás értékek H > 0.97 adatokra vonatkoznak.)