

## Uvifot-fotométer alkalmazhatósága nukleinsavak mérésénél növényi objektumokon

MOLNÁR ILONA

*Kertészeti és Szőlészeti Főiskola Növényörökléstani  
és Nemesítési Tanszéke, Budapest*

A Kertészeti és Szőlészeti Főiskola Növényörökléstani Tanszékén különböző mutagén anyagokkal kezelt fásnövénnyek leveleiben nukleinsav meghatározásokat végzünk. Vizsgálataink kiterjednek mandula-, őszibarack- és kajszifajok több fajtájára.

A meghatározásokat KOVÁCS [2] által ismertetett Hammerstein-módszer alapján végezzük, s a koncentrációt kezdetben az angol Unicam SP 500 spektrofotométeren mértük (SZALAY [3]). Időközben áttértünk a Magyar Optikai Művek által gyártott Uvifot fotométeren való mérésre, mely tulajdonképpen a spektrofotométernek egyszerűbb konstrukciója, csak meghatározott hullámhosszokon lehet rajta mérni. A spektrofotométer beszerzése elég körülményes, az Uvifot fotométer viszont könnyebben beszerezhető.

Mielőtt véglegesen áttértünk volna az Uvifot fotométeren való mérésre, összehasonlító vizsgálatokat végeztünk. Először is a méréseket spektrofotométeren 260 hullámhosszon végeztük, mivel a NS-ak fényelnyelési görbéjének az ultraibolyában 260 m $\mu$  körül éles maximuma van (KOVÁCS [2]), az Uvifoton pedig csak 254-től kezdődik, illetve a következő már 313 hullámhossz. E célból a spektrofotométeren ellenőrző méréseket végeztünk 254 és 260 hullámhosszokon. A mérések alapján lényeges eltérést nem kaptunk, melyeknek adatai a következők: — azonos anyagok esetében —.

Jelölés	Extinkciók				Jelölés	Extinkciók			
	254 hullámhossz		260 hullámhossz			254 hullámhossz		260 hullámhossz	
I. a.	0,88		0,90		III. a.	0,88		0,88	
I. b.	0,88	0,88	0,88	0,89	III. b.	0,86	0,87	0,88	0,88
II. a.	0,75		0,74		IV. a.	1,05		1,06	
II. b.	0,77	0,76	0,76	0,75	IV. b.	0,99	1,02	1,00	1,03

A fenti adatok: I és II *mandula* levelek nukleinsavtartalmának megfelelő extinkciós értékei, a. és b. paralelek, illetve III. és IV. *őszibarack* levelek nukleinsavtartalmának megfelelő extinkciós értékei; a. és b. szintén paraleleket jelez. Különböző purin és pirimidin származékú spektrális adatokat BIRÓ [1] is közöl tiszta készítményekre vonatkozóan.

Mindkét műszerhez azonos standard oldattal kalibrációs görbét vettünk fel (1. és 2. táblázat és 1. ábra).

Mint az 1. ábrán látható, a két fotométer kalibrációs görbéje majdnem azonosnak mondható. A spektrofotométer extinkciói alacsonyabb koncentrációnál kisebb, magasabbnál nagyobb értéket adnak, mint az Uvifot fotométer. A görbék metszéspontjainál azonos a koncentráció és az extinkció is mindkét fotométer esetében.

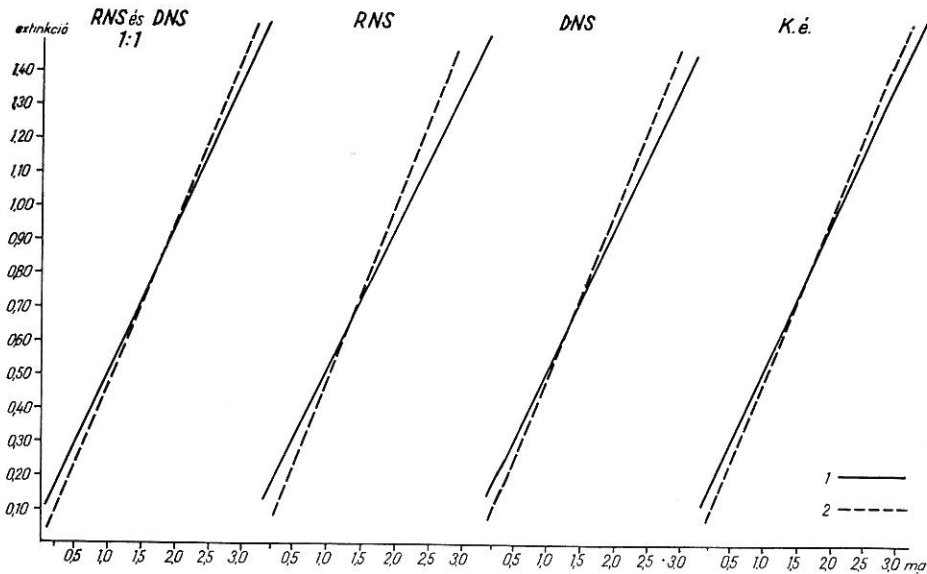
A levelek nukleinsav vizsgálatánál azonos anyag esetében az extinkció az Uvifot-, és spektrofotométeren is a következőképpen alakul:

Uvifot-fotométer		Spektrofotométer	
Ext.	mg NS	Ext.	mg NS
0,34	0,56	0,21	0,43
0,65	1,23	0,53	1,07
0,78	1,50	0,71	1,44
1,01	1,97	0,96	1,95

Tehát minél jobban megközelíti a vizsgált anyagunk extinkciója a két kalibrációs görbe metszéspontjának megfelelő extinkciós értéket, az eredmények annál inkább megegyeznek.

A különböző NS-ak azonos koncentrációja mindkét műszeren teljesen egyértelmű görbét adott, mégis az RNS és DNS 1 : 1 arány alapján felrajzoltat találtuk a legkiegyenlítettebbnek, így ennek alapján állítottuk össze a táblázatokat is mindkét esetben. A nukleinsavak vizsgálata során az összes nukleinsavat határozzuk meg először, az RNS és DNS az összes nukleinsavak szétválasztásával történik. BIRÓ [1] más módszernél ugyan, de az Uvifot fotométerhez az összes nukleinsav méréséhez RNS és DNS 1 : 1 arányú kalibrációs görbe szerkesztését ajánlja.

A negyedik grafikont a három különböző nukleinsavnak megfelelő extinkciók középértékei alapján rajzoltuk fel.



1. ábra

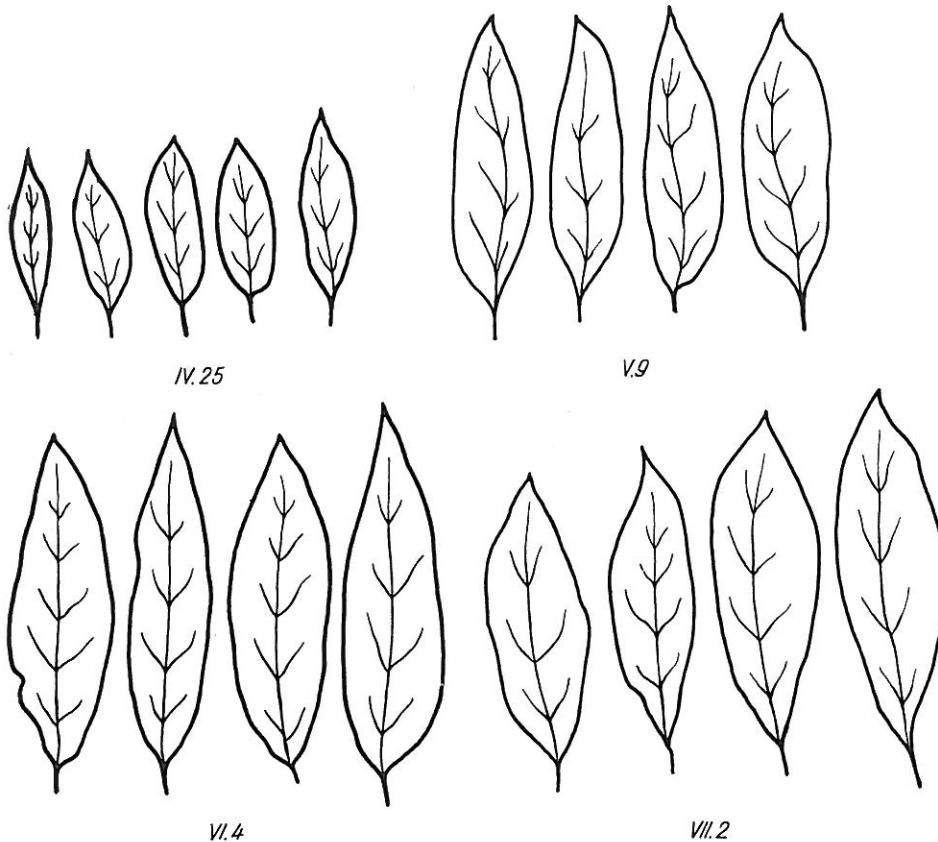
Nukleinsavak kalibrációs görbéi. 1: Uvifot fotométerre. 2: Spektrofotométerre

A fentiek alapján a következő megállapításokat tehetjük:

1. Az Uvifot fotométer gyakorlatilag igen jól alkalmazható a csonthéjas gyümölcsfajok leveleiben levő nukleinsavak koncentrációjának méréséhez.

2. Ha a vizsgálat folyamán hígítással a koncentrációt NS-ak esetében úgy választjuk meg, hogy annak az extinkciója kb. a két görbe metszéspontja körül legyen  $85 + - 15$ , akkor az Uvifoton mért eredmény gyakorlatilag a spektrofotométerével megegyezik.

3. Az azonos gyártmányú mérőműszerekhez egyedenként is kell kalibrációs görbét és táblázatot készíteni. E munkához az itt közöltek irányadók lehetnek.



2. ábra

Mandulelevelek viszonylagos nagysága az egyes mintavétel időpontjában 1963

### Kísérleti rész

A korábbi években mutagén anyagokkal kezelt csonthéjas magvakból származó mandula, kajszi, őszibarack magoncok leveleinek nukleinsavtartalom vizsgálatát 1961. évben kezdtük meg. Ekkor a mandula 3, a kajszi 5, az őszibarack magoncok 4 évesek voltak. A vizsgálatokat abból a célból végeztük, hogy megállapítsuk az, egyes mutagén kezelések hatására hogyan alakul a

1. táblázat

## Uvifot-fotométeren standard leolvasása kalibrációs görbéhez (KF: 0,61)

mg/50 ml	Extinkciók 254 hullámhosszon			
	RNS és DNS (1 : 1)	RNS	DNS	Közép- érték
0,2	0,14	0,15	0,15	0,15
0,5	0,32	0,33	0,31	0,32
1,0	0,57	0,56	0,53	0,55
1,5	0,81	0,78	0,77	0,79
2,0	0,98	0,97	0,93	0,96
2,5	1,18	1,17	1,14	1,16
3,0	1,34	1,34	1,33	1,34

2. táblázat

## Spektrofotométeren standard leolvasása kalibrációs görbéhez

mg/50 ml	Extinkciók 260 hullámhosszon			
	RNS és DNS (1 : 1)	RNS	DNS	Közép- érték
0,2	0,100	0,094	0,098	0,097
0,5	0,224	0,258	0,262	0,248
1,0	0,498	0,511	0,465	0,491
1,5	0,752	0,721	0,739	0,737
2,0	0,962	1,000	0,958	0,973
2,5	1,218	1,282	1,260	1,253
3,0	1,460	1,480	1,448	1,463

5. táblázat

## Mutagén anyagokkal kezelt Óriáskagyló mandulalevelek össz-nukleinsavtartalma g%-ban kifejezve szárazanyag-tartalomra vonatkoztatva

(1) Kezelések	(2) Mérések szerint	(3) Köz- zép- érték	(2) Mérések szerint	(3) Köz- zép- érték	(2) Mérések szerint	(3) Köz- zép- érték	(2) Mérések szerint	(3) Köz- zép- érték				
1961.	V. 31.		VII. 4.			VIII. 2.						
1. Kontroll . . . . .	1,46	1,42	1,44	1,04	1,17	1,10	0,84	0,92	0,88			
2. Folyékony levegő	1,04	1,08	1,06	0,84	0,80	0,82	0,78	0,84	0,81			
3. Kolhicinezett . . .	0,97	1,01	0,99	0,84	0,76	0,80	0,65	0,82	0,74			
4. Sugárzott Co <sup>60</sup> 1200 r . . . . .	0,86	0,90	0,88	0,82	0,82	0,82	0,82	0,70	0,76			
1963.	IV. 25.		V. 9.			VI. 4.			VII. 2.			
1. Kontroll . . . . .	1,31	1,33	1,32	1,02	0,88	0,95	0,68	0,62	0,65	0,44	0,52	0,48
2. Folyékony levegő	1,23	1,14	1,18	1,08	1,19	1,14	0,59	0,65	0,62	0,54	0,46	0,50
3. Kolhicinezett . . .	1,23	1,17	1,20	0,92	0,88	0,90	0,62	0,74	0,68	0,52	0,68	0,60
4. Sugárzott Co <sup>60</sup> 1200 r . . . . .	1,12	1,04	1,08	—	—	—	0,78	0,78	0,78	0,70	0,86	0,78

3. táblázat

Uvifot-fotométerhez NS táblázat  
mg/50 ml-re vonatkoztatva

Extinkció	mg NS	Extinkció	mg NS
0,10	0,05	0,56	1,04
0,11	0,08	0,57	1,06
0,12	0,10	0,58	1,08
0,13	0,12	0,59	1,10
0,14	0,14	0,60	1,12
0,15	0,16	0,61	1,14
0,16	0,18	0,62	1,17
0,17	0,20	0,63	1,19
0,18	0,22	0,64	1,20
0,19	0,25	0,65	1,23
0,20	0,27	0,66	1,25
0,21	0,29	0,67	1,27
0,22	0,30	0,68	1,29
0,23	0,33	0,69	1,31
0,24	0,35	0,70	1,33
0,25	0,37	0,71	1,35
0,26	0,39	0,72	1,38
0,27	0,41	0,73	1,40
0,28	0,44	0,74	1,42
0,29	0,46	0,75	1,44
0,30	0,48	0,76	1,46
0,31	0,50	0,77	1,48
0,32	0,52	0,78	1,50
0,33	0,54	0,79	1,52
0,34	0,56	0,80	1,54
0,35	0,59	0,81	1,56
0,36	0,60	0,82	1,59
0,37	0,62	0,83	1,61
0,38	0,65	0,84	1,63
0,39	0,68	0,85	1,65
0,40	0,70	0,86	1,67
0,41	0,72	0,87	1,69
0,42	0,74	0,88	1,72
0,43	0,76	0,89	1,74
0,44	0,78	0,90	1,76
0,45	0,80	0,91	1,78
0,46	0,82	0,92	1,80
0,47	0,84	0,93	1,82
0,48	0,86	0,94	1,84
0,49	0,88	0,95	1,86
0,50	0,90	0,96	1,89
0,51	0,92	0,97	1,91
0,52	0,94	0,98	1,93
0,53	0,97	0,99	1,95
0,54	0,99	1,00	1,97
0,55	1,02		

4. táblázat

Spektrofotométerhez NS táblázat  
mg/50 ml-re vonatkoztatva

Extinkció	mg NS	Extinkció	mg NS
0,10	0,20	0,56	1,13
0,11	0,22	0,57	1,15
0,12	0,24	0,58	1,18
0,13	0,27	0,59	1,20
0,14	0,29	0,60	1,22
0,15	0,31	0,61	1,24
0,16	0,33	0,62	1,26
0,17	0,35	0,63	1,28
0,18	0,37	0,64	1,30
0,19	0,39	0,65	1,32
0,20	0,41	0,66	1,34
0,21	0,43	0,67	1,36
0,22	0,45	0,68	1,38
0,23	0,47	0,69	1,40
0,24	0,49	0,70	1,42
0,25	0,51	0,71	1,44
0,26	0,53	0,72	1,46
0,27	0,55	0,73	1,48
0,28	0,57	0,74	1,50
0,29	0,59	0,75	1,52
0,30	0,61	0,76	1,54
0,31	0,63	0,77	1,56
0,32	0,65	0,78	1,58
0,33	0,67	0,79	1,60
0,34	0,69	0,80	1,62
0,35	0,71	0,81	1,64
0,36	0,73	0,82	1,66
0,37	0,75	0,83	1,68
0,38	0,78	0,84	1,71
0,39	0,80	0,85	1,73
0,40	0,82	0,86	1,75
0,41	0,84	0,87	1,77
0,42	0,86	0,88	1,79
0,43	0,88	0,89	1,81
0,44	0,90	0,90	1,83
0,45	0,92	0,91	1,85
0,46	0,94	0,92	1,87
0,47	0,96	0,93	1,89
0,48	0,98	0,94	1,91
0,49	0,99	0,95	1,93
0,50	1,00	0,96	1,95
0,51	1,02	0,97	1,97
0,52	1,04	0,98	1,99
0,53	1,07	0,99	2,01
0,54	1,09	1,00	2,03
0,55	1,11		

nukleinsavtartalom; egyrészt a fajtán belül kezelésként a kontrollhoz viszonyítva, másrészt a vegetáció folyamán az egyes hónapokban. Az 1963. évben vizsgált mandulalevelek viszonylagos nagysága az egyes hónapokban a 2. ábra sematikus rajzán látható.

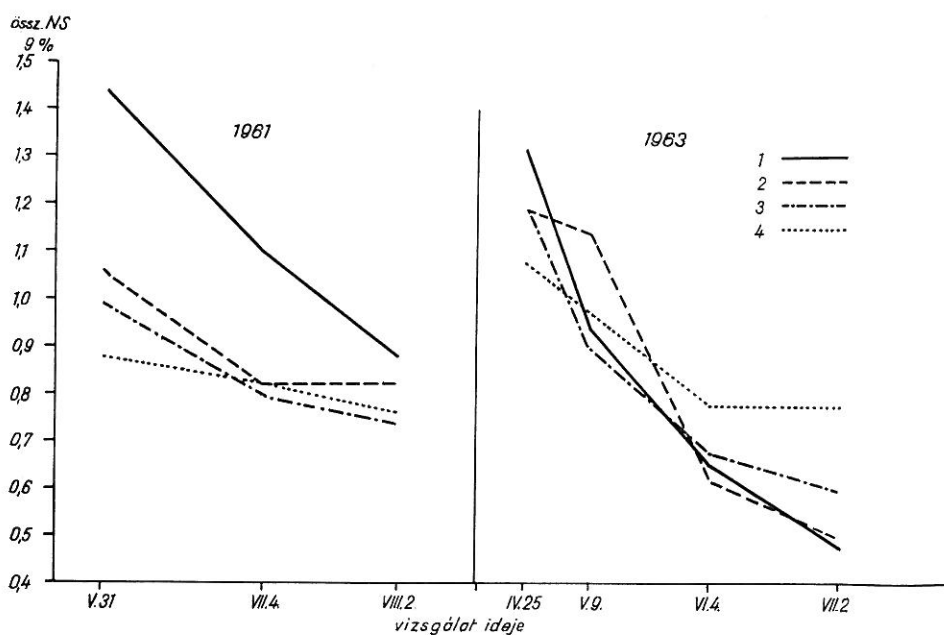
Mint már említettük, a vizsgálatokat Hammerstein módszerével végezzük, az eredményeket pedig Uvifot fotométeren nyert extinkciós értékek alapján kapjuk az előbb leírtak szerint.

### Eredmény és következtetés

Az *Óriáskagyló* mandulamagoncok leveleire vonatkozó összes nukleinsav-tartalmat az 5. táblázat tartalmazza.

Az 1961. évi adatokból világosan kitűnik, hogy a vizsgált hónapokban a mutagén anyagokkal kezelt magonc egyedek leveleinek alacsonyabb az összes nukleinsavtartalma, mint a megfelelő kontrollé. Ez a megállapítás az 1963. évi adatokra ilyen egyöntetűen nem vonatkozik.

Mind az 1961., mind az 1963. évben vizsgált *Óriáskagyló* mandulamagoncok leveleinek — kontroll és a kezelték is — összes nukleinsavtartalma a vegetáció előrehaladásával csökkenő tendenciát mutat, melyet jól szemléltet a 3. ábra is.



3. ábra

Óriáskagyló mandulafajta leveleinek össz-nukleinsav tartalma különböző kezeléseknél.  
1: kontroll. 2: folyékony levegő. 3: kolchicinezett. 4: sugárzott Co<sup>60</sup> 1200 r.

Kajszai és őszi barack magoncok leveleinek összes nukleinsavtartalmának nagyságrendi értékei kb. megegyeznek a mandula magoncok nukleinsavtartalmával.

E dolgozatban közölt adatok csak tájékoztató jellegűek, mivel a vizsgálatok jelenleg is folyamatban vannak.

Az angol Unicam SP 500 spektrofotométert a Szőlészeti Kutató Intézet bocsáj-totta rendelkezésünkre; ezért, valamint a méréseknél nyújtott segítségért Pataky Barná-nak és Marjai Erzsébetnek köszönetet mondunk.

### Összefoglalás

Csonthéjas gyümölcsfajok leveleiben nukleinsavak meghatározását végeztük. A koncentrációt angol Unicam SP 500 spektrofotométeren és a magyar gyártmányú Uvifot fotométeren mértük. Az összehasonlító mérések alapján a következő megállapításokat tehetjük:

1. Az Uvifot fotométer gyakorlatilag igen jól alkalmazható nukleinsavak méréséhez.

2. Ha a vizsgálat folyamán hígítással a koncentrációt NS-ak esetében úgy választjuk meg, hogy annak az extinkciója kb. a két görbe metszéspontja körül legyen  $85 \pm 15$ , akkor az Uvifot fotométeren mért eredmény gyakorlatilag a spektrofotométerével megegyezik.

3. Az azonos gyártmányú mérőműszerekhez egyedenként is kell kalibrációs görbét és táblázatot készíteni. E munkához az itt közöltek irányadók lehetnek.

4. 1961. és 1963. évben megvizsgáltuk az *Őriáskagyló* mandulafajta leveleinek összes nukleinsavtartalmát, s azt találtuk, hogy a vegetáció előrehaladásával csökkenő tendenciát mutatnak mind a kontroll, mind a kezelték egyedei.

*Érkezett: 1964. február 28.*

### Irodalom

- [1] BIRÓ, E. & FEDORCSÁK, I.: Kézikönyv az Uvifot-fotométer használatához. MOM. Budapest. 1959.  
 [2] KOVÁCS, A.: A kísérleti orvostudomány vizsgáló módszerei IV. Akad. Kiadó. Budapest. 1958.  
 [3] SZALAI, I. & FRENYÓ, V.: Növényélettani kísérletek. Tankönyvkiadó. Budapest. 1962

### Применение фотометра „Uvifot” для определения нуклеиновых кислот в растениях

*И. МОЛНАР*

Кафедра селекции и генетики растений ВУЗа садоводства и виноградарства, Будапешт

### Резюме

На кафедре селекции и генетики растений ВУЗа садоводства и виноградарства про-вели определение нуклеиновых кислот в листьях косточковых плодовых деревьях. Концентрация их определялись как спектрофотометром Unicam SP 500 английского производства, так и фотометром «Uvifot» венгерского производства.

На основании сравнительных измерений можно сделать следующие выводы:

1. Фотометр «Uvifot» успешно может быть применен для измерения нуклеиновых кислот.

2. Если в ходе определения мы путем разбавления выбираем такие концентрации нуклеиновых кислот, экстинкция которых была бы примерно около точки пересечения двух кривых, т.е. имела бы значение  $85 \pm 15$ , то данные полученные фотометром «Uvifot» практически соответствуют данным полученным спектрофотометром.

3. Для каждого прибора одного и того же производства необходимо составить отдельную калибрационную кривую и отдельную таблицу. Для этой работы могут успешно применяться данные, приводимые в этой статье.

4. В 1961 и 1963 гг. мы изучали содержание всех видов нуклеиновых кислот в листьях миндального дерева «Őriáskagyló» и нашли, что к концу вегетационного периода содержание их снижается как в контрольных, так и в других вариантах.

*Табл. 1.* Стандартные отсчеты для составления калибрационных кривых по фотометру «Uvifot». Экстинкции при длине вол 254. RNS = рибонуклеиновая кислоты. DNS = дезоксирибонуклеиновая кислота и средние значения.

*Tabl. 2.* Стандартные отсчеты для составления калибрационных кривых по спектрофотометру. Экстинкции при длине волн 260. Остальные обозначения см. в табл. 1.

*Tabl. 3.* Таблица нуклеиновых кислот для фотометра «Uvifot» в мг./50 мл.

*Tabl. 4.* Таблица нуклеиновых кислот для спектрофотометра в мг./50 мл.

*Tabl. 5.* Содержание нуклеиновых кислот в листьях миндального дерева «Óriáskagyló». Общее содержание нуклеиновых кислот в гр. % сухого вещества. (1) Варианты. 1. Контроль. 2. Жидкий воздух. 3. Обработка колхицином. 4. Облучение  $Co^{60}$  в 1200 г. (2) По измерениям. (3) Среднее значение.

*Рис. 1.* Калибрационные кривые нуклеиновых кислот. 1: для фотометра «Uvifot». 2: для спектрофотометра.

*Рис. 2.* Относительный размер листьев миндаля в отдельные периоды взятия образцов в 1963 г. (схематический рисунок).

*Рис. 3.* Графическое изображение содержания нуклеиновых кислот в листьях семян миндаля «Óriáskagyló» при различных обработках. 1: Контроль. 2: Жидкий воздух. 3: Обработка колхицином. 4: Облучение  $Co^{60}$  в дозе 1200 г.

## Die Verwendbarkeit des Uvifot-Photometers bei der Bestimmung von Nukleinsäuren an pflanzlichen Objekten

I. MOLNÁR

Lehrstuhl für Pflanzengenetik und Züchtung, Hochschule für Garten- und Weinbau, Budapest

### Zusammenfassung

Am Lehrstuhl für Pflanzengenetik und Züchtung der Hochschule für Garten- und Weinbau in Budapest wurden an den Blättern von Steinobstarten Nukleinsäurebestimmungen vorgenommen. Die Konzentration wurde am englischen Unicam SP 500 Spektrophotometer und am Uvifot Photometer ungarischer Erzeugung gemessen.

Auf Grund der vergleichenden Messungen lassen sich folgende Feststellungen machen:

1. Das Uvifot Photometer ist bei der Messung von Nukleinsäuren praktisch sehr gut verwendbar.

2. Wählen wir bei der Untersuchung die Konzentration im Falle von Nukleinsäuren mittels Verdünnung so, damit deren Extinktion sich ungefähr um den Schnittpunkt der beiden Kurven befindet  $85 \pm 15$ , so stimmt das am Uvifot Photometer gemessene Ergebnis praktisch mit dem Resultat des Spektrophotometers überein.

3. Zu den Messinstrumenten identischer Erzeugung müssen auch individuell Kalibrationskurven und Tabellen verfertigt werden. Zu dieser Arbeit können die hier gemachten Angaben massgebend sein.

4. In den Jahren 1961 und 1963 haben wir den Gesamt-Nukleinsäuregehalt der Mandelsorte „Óriáskagyló“ untersucht und hierbei festgestellt, dass die Individuen sowohl der Kontrolle wie der Behandlungen mit dem Fortschreiten der Vegetation eine rückläufige Tendenz aufweisen.

*Abb. 1.* Die Kalibrationskurven der Nukleinsäuren 1: Für Uvifot Photometer. 2: Für Spektrophotometer.

*Abb. 2.* Die relative Grösse der Mandelblätter zum Zeitpunkt der einzelnen Probenahmen 1963 (schematische Zeichnung).

*Abb. 3.* Graphische Darstellung des Gesamtnukleinsäuregehaltes in den Blättern der Mandelsämlinge der Sorte „Óriáskagyló“ bei verschiedenen Behandlungen. 1: Kontrolle. 2: Flüssige Luft. 3. Kolchizinbehandelt. 4: bestrahlt  $Co^{60}$  1200 r.

*Tab. 1.* Standard-Ablesung am Uvifot-Photometer zur Kalibrationskurve. Extinktionen auf der Wellenlänge 254. RNS = Ribonukleinsäure, DNS = Desoxyribonukleinsäure und Mittelwert.

*Tab. 2.* Standard-Ablesung zur Kalibrationskurve auf Spektro-Photometer. Extinktionen auf Wellenlänge 260. Betreffs der übrigen Bezeichnungen s. Tab. 1.

*Tab. 3.* NS-Tabelle für Uvifot-Photometer auf mg/50 ml bezogen.

*Tab. 4.* NS Tabelle für Spektro-Photometer auf mg/50 ml bezogen.

*Tab. 5.* Nukleinsäuregehalt der Blätter der Mandelsorte „Óriáskagyló“. Gesamt-Nukleinsäuregehalt in g % ausgedrückt, auf Trockensubstanzgehalt bezogen. (1) Behandlungen: 1. Kontrolle. 2. flüssige Luft. 3. mit Kolchizin behandelt. 4. bestrahlt  $Co^{60}$  1200 r. (2) Nach Messung. (3) Mittelwert.