

Vetőmagvak lézeres besugárzása

Bán Botond, Szabó Csenger Márk

Témavezető: Prof. Dr. Hopp Béla

1. Bevezetés

A világ növekvő élelmiszer és takarmány igénye már rendkívül sok terméshozam-növelő eljárást hívott létre. Mostanra egy olyan tendencia látszik, ami a káros vegyi anyagokat mellőző, biztonságos, környezetbarát megoldásokat keres.

A növények minden fejlődési fázisában fontos szerepet tölt be a fény. Csírázás előtt és közben is a fény szabályoz számos hormonális növekedési és DNS replikációs folyamatot. Kutatásunk során ezen paraméterek vizsgálatával igyekszünk elősegíteni a vetőmagok, védett növények fejlődésének korai fázisát, illetve eliminálni egyes patogén gombafajokat.

A lézeres kezelés egy hatásos, környezetbarát, vegyszermentes, költséghatékony, egészséges, fenntartható megoldást kínálhat az egyre intenzívebb gazdálkodás okozta problémákra. Már a korábbi kutatások és saját kísérleteink is alátámasztották, hogy különböző módokon, de serkenthető a csírázás, gyorsítható a fejlődés, növelhető a kicsírázó magok aránya. Ezen kívül a terápia bizonyos változatai kivitelezhetőek még vetés előtt, mezőgazdasági szempontból könnyebben megvalósítható módon. Mivel a mag saját biológiai eszköztárát aktiváljuk, így nem áll fenn a veszélye a növények környezetének idegen vegyi anyagokkal történő túlterhelésének, továbbá a használt vegyszerek mennyiségének csökkentésével a káros hatások is mérséklődnek. A finomított módszer alkalmazása kiválthat egyes gombaölő szereket, csávázó anyagokat, műtrágyákat, vagy csökkentheti a szükséges dózist.

A dolgozat kérdésfelvetése az, hogy:

1. A korábbi kutatásokra alapozva bizonyíthatóak-e a vetőmagok lézeres kezelésének pozitív hatásai.^{[1][2]}

2. A lézeres kezelés pozitív hatásai reprodukálhatóvá, rendszerezetté tehetőek-e.

3. Mindeddig a vetőmagok lézeres kezelését vizsgáló kutatásokat a nagyszámú lehetséges változó közül (pl.: faj, hullámhossz, besugárzási idő, várakozási idő, csíráztatás körülményei, dózis stb.) szinte kivétel nélkül csak egy-egy változót kiválasztva, látszólag véletlenszerűen, vagy legalábbis a választás pontos meghatározása, alapos indokolása nélkül végezték.

Kutatásunk újszerűsége, hogy már a kutatási tervetben a paraméterek számos változatát vizsgáltuk és kiértékeltek, majd a racionális érvek rostáján átszűrt kísérletek jelentős része megvalósításra is került. A kutatási eredmények tükrében az előzetesen meghatározott irányokban folytattuk tovább a kísérleteket.

4. Kutatásunkkal is bizonyítani kívánjuk, hogy a lézerek paramétereinek precíz és egyszerű állíthatósága lehetővé teszi a fajspecifikus optimális terápia megtervezését, kivitelezését és a paraméterek széles spektrumának vizsgálatát.

A kérdésfelvetések megválaszolásához szükséges elméleti alapozáshoz a Szegedi Tudományegyetem Természettudományi és Informatikai Kar Fizikai Intézet Optikai és Kvantumelektronikai tanszéke adott segítséget, a kutatás módszertani és gyakorlati hátterét, valamint a megvalósításához szükséges eszközöket az ELI-ALPS lézeres kutatóközpont bocsátotta rendelkezésünkre.

2. Elméleti áttekintés

2.1. A mag felépítése

A zárvatermők megtermékenyítésekor a két ivarsejtből egy biológiailag nagyon koncentrált egység jön létre. Később ebből fog kialakulni a teljes utód, ezért nagyon hatékony ebben a formájában befolyásolni a növényt, hiszen így kis számú sejt stimulálásával, biológiai tulajdonságainak, különböző feladatokat ellátó reakciófolyamatok interakciójainak számunkra kedvező módon történő befolyásolásával hatással lehetünk a kifejlett növényre.

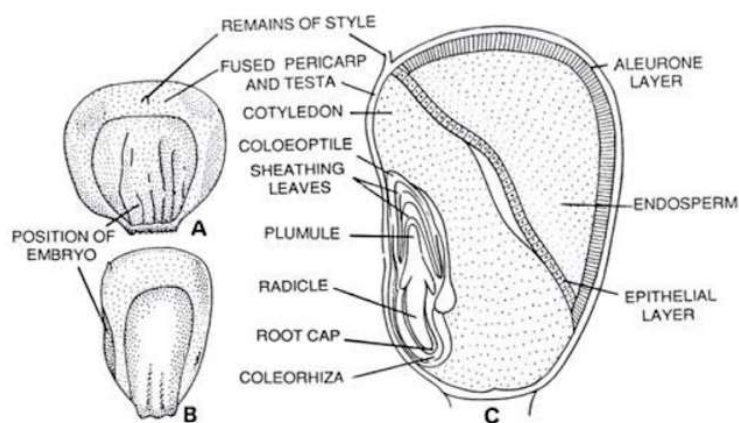


Fig. 34.74. Structure of maize grain. A, grain illustrating of external characters; B, grain as seen from lateral side; C, section of the grain showing its internal structure.

1. ábra. Kukoricaszem külső és belső felépítése^[3]

Az érzékeny sejteket, az embriót számos réteg burkolja (terméshéj, terméshús, maghéj és a táplálószövet), melyek a mi kísérleteink során fénnyelnyelésük és visszaverésük miatt nagyon fontosak. A terméshéj és a terméshús a méréseink során irreleváns, mivel a magokat nem gyümölcszuhással együtt ültetik el, valamint ezen rétegek (főleg a hús és a csonthéj) mind a szövet vastagsága miatt, mind pedig amiatt, hogy ezen rétegek közül több (akár felépítése, akár festéktartalma miatt) elnyel az általunk használt hullámhosszokon, az következik, hogy megvilágítás során nem jut el az embrióig olyan dózisú lézer fény, ami biológiai változásokat indukálhat.

2.2. A csírázás

Méréseink szempontjából a legfontosabb folyamat a csírázás.

A kiszáradt, nyugalmi állapotban lévő magokban nem, vagy csak mérsékelt ütemben játszódnak le bizonyos folyamatok, hogy a növény sikeresen átvészelve a kedvezőtlen és káros éghajlati viszonyokat. A kedvező feltételek megjelenésével a mag újra aktív lesz, és ha a kedvező körülmények a teljes életciklusa alatt jelen vannak, akkor teljes növényre nő. Magok formájában a növény nagy távolságok megtételére is képes, erre számos faj fejlesztett ki egyedi, különleges megoldást, mint például az *Avena fatua*, amelynek magjai sétára emlékeztető mozdulatokkal távolodnak, hogy az utód minél messzebb kerüljön. A helyváltoztatáson kívül a csírázás szabályozása is biztosíthatja azt, hogy a kifejlődő utód ne versengjen az előző generációval az erőforrásokért.

Minden fajnak megvan a maga mechanizmusa, mely többnyire visszafordíthatatlan biokémiai folyamatok hosszú láncán alapszik. Ezeket az aktiváló mechanizmusok a következők:

2.2.1 Az anyanövénnytől való leválás

Fontos, hogy a csírázás ne kezdődjön meg még az anyanövénnyen, hiszen már ott is adott lehet az összes későbbiekben felsorolt körülmény, mégsem előnyös, hogyha a növény belekezd a csírázási folyamatok láncába, hiszen ezzel elveszítené nyugvó állapotban megfigyelhető fizikai és kémiai ellenállóképességét, és nem tudna megfelelő körülmények között, megfelelően távol kihajtani növényeknél *pseudo viviparizmus*nak nevezik azt a jelenséget, amikor a termésben elkezd csírázni a mag, ez nemesített, vetőmagnak szánt paradicsomok esetén gyakran megfigyelhető.

2.2.2 A víz szerepe

Minden általunk vizsgált mag csírázásának beindításához elengedhetetlen a víz jelenléte. Az endospermium rengeteg szárazanyagot tartalmaz, mely külső tápanyag hiányában is jó ideig fedezni képes a növény intenzív fejlődését, de ezek felvételéhez és továbbadásához elengedhetetlen a megfelelő oldószer, valamint az új sejtek lényegesen több vizet tartalmaznak, mint elődeik, így magában a felépítésben is fontos szerepe van a víznek. A fizikai védelem mellett ennek meghatározásában is fontos szerepet játszik a maghéj és az úgynevezett hilum, ami az elszakadáskor nyitva maradt csatornákat zárja el. Megfelelő mennyiségű víz jelenlétében a hilum, majd a maghéj lassan megpuhul és áteresztővé válik, ekkor indul be a csírázás. A magas ozmotikus nyomású sejtek magukba szívják a vizet, ezzel egyfajta turgor nyomást hozva létre. Ez és a sejtosztódásból származó növekedés kiszakítja a maghéjat, és innen szabadon folyik a növekedés. Fontos megjegyezni, hogy a növény ekkor találkozik először az akár saját felszínén megtelepedett patogén gombákkal, baktériumokkal és a környezet zord elemeivel is.

2.2.3 Hőmérséklet^[4]

A csírázásnak van optimális hőmérséklete, melyen a leghatékonyabban zajlanak a sejtosztódás folyamatai. Ez a hőmérsékleti pont önmagában lehet egy jel a folyamatok beindítására, de egyes fajoknál egy előzetes hűtési ciklus is szükséges a csírázás megkezdéséhez, ami következtében az elsődleges nyugalmi fázisból átlép a másodlagos nyugalmi fázisba. Ez azzal magyarázható, hogy a magok megérésekor lehet, hogy adott minden ideális körülmény a csírázásra, de a csíranövény nem viselné el az ezt követő fagyokat, ezért rendkívül leleményes biokémiai folyamatok során biztosítja a növény egy hűtési (esetenként fagyasztási) ciklus szükségességét a csírázás beindításához, mely a fagyasztás utáni enyhüléskor, a többi kritérium teljesülésekor következik be és a mag másodlagos nyugalmi fázisából kilépve csírázásba kezd.

2.2.4 A fény hatása

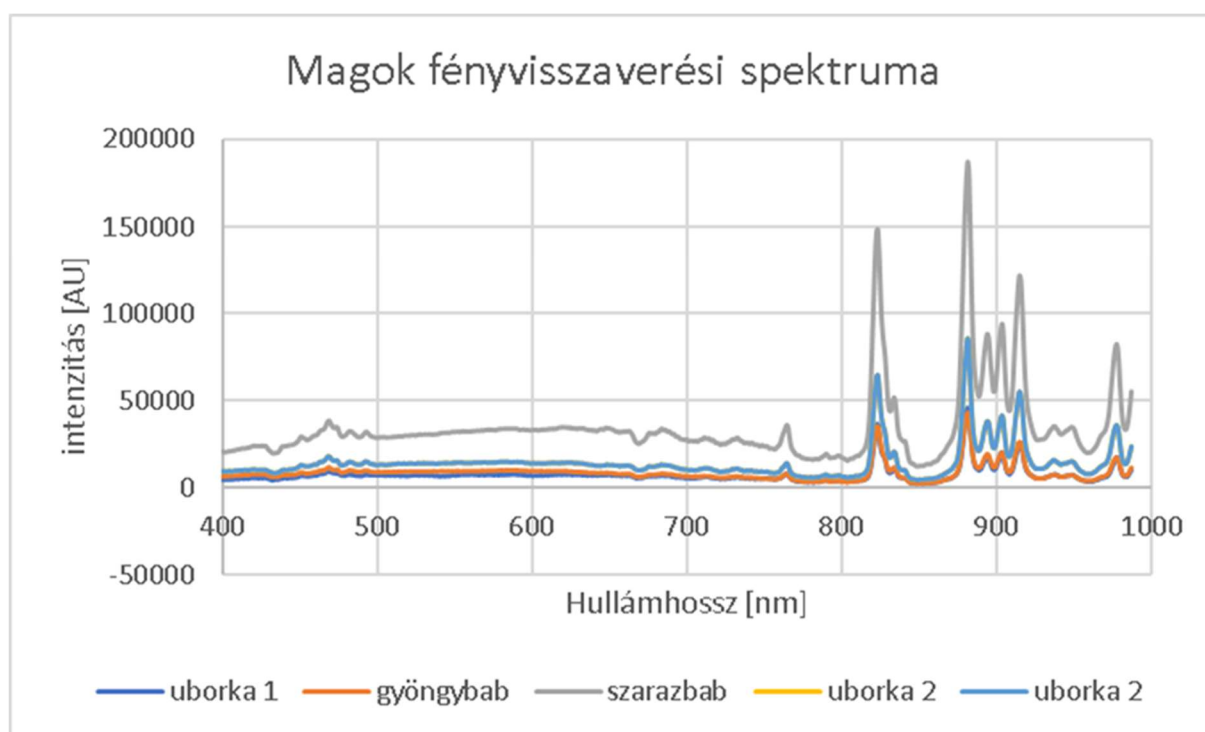
A jelenlegi kutatási témánk szempontjából a leglényegesebb körülmény a fény. Néhány mag esetén serkentő hatású, esetenként pedig elengedhetetlen körülmény egy bizonyos erősségű és/vagy időtartamú megvilágítás. Ez magyarázható azzal, hogy a növény, mint fotoautotróf életforma egész élete folyamán igényelni fogja a fényt, vagyis a magból nem lesz kifejlett növény, ha olyan helyen kezdi meg a csírázását, ahol ez nem fog rendelkezésére állni. Ezen kívül a fény jelezheti a terméshús és a terméshéj kellő elbomlottságát, vagyis a tápanyag

jelenlétét (komposzt létrejöttét) és az akadálytalan csírázás lehetőségét. Épp ezért azt is vizsgálunk kell, a kezelésekkel nem indítunk-e be idő előtti csírázást.

Mindebből jól látszik, hogy a csírázás rendkívül összetett folyamat, számos körülmény időzített és optimális értékű hatása szükséges a beindításához. Ezeket minden kísérlet során, amikor a csírázást vizsgáljuk biztosítanunk kell, gondosan ügyelve a folytonosságra, következetességre, reprodukálhatóságra és a változtatások megfigyelésének precíz megtervezésére és az eredmények átlátható, összehasonlítható feljegyzésére. (Lásd: 5.1)

2.3. Abszorpció

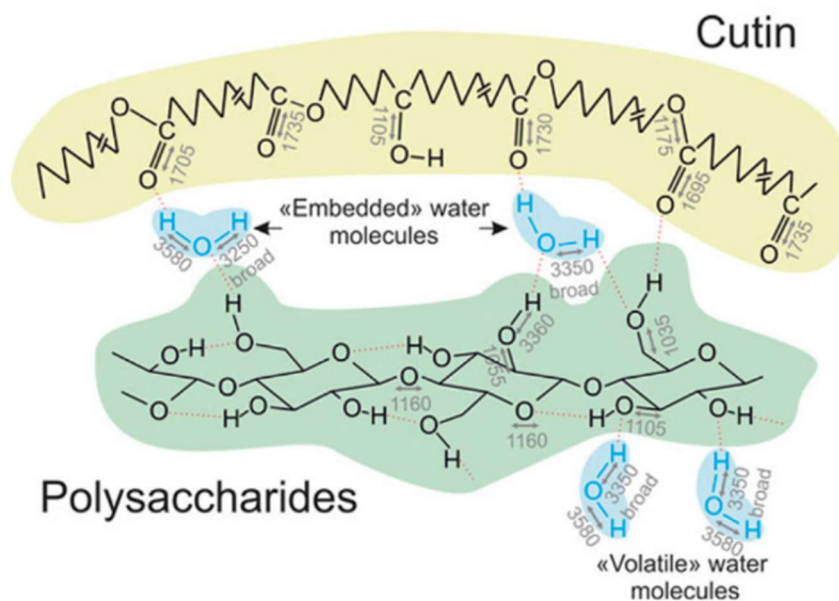
Ellipszometriai méréseink fényt derítettek arra, hogy a mag, mint biológiai rendszer mennyire változatos, ezáltal nagyon nehezen vizsgálható. Az egyenetlen, íves felszín és a magvak apró mérete nem tette lehetővé, hogy igazán átfogó abszorpciós és reflexiós méréseket végezzünk.



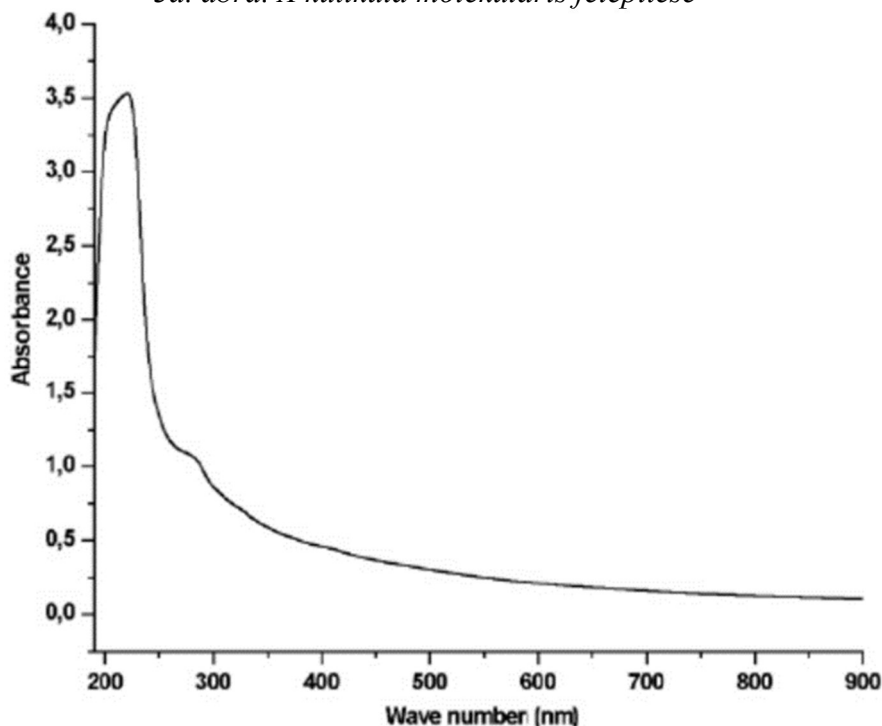
2. ábra. Különböző magok ellipszometriai mérése

Az ábrából jól látszik, hogy teljesen eltérő fajok magjai is képesek azonos optikai tulajdonságokat mutatni, míg azonos faj/egyed(/akár azonos mag) is képes különböző eredményeket mutatni, ezáltal az összetett biológiai rendszerek ilyen módon történő vizsgálata nem validálható.

Ennek következtében az ezt átfogóan vizsgáló szakirodalomra támaszkodunk.



3a. ábra. A kutikula molekuláris felépítése ^[5]



3b. grafikon. A kutikula abszorpciós spektruma ^[6]

Néhány tanulmány középpontjában állt már a növényi szöveteket (sejteket, sejtfalat, sejt közötti állományt, kültakarót) felépítő anyagok fényel való kölcsönhatása. Ezeket (és majd a későbbiekben említett többi kritériumot) figyelembe véve azt a következtetést vontuk le, hogy maga a kültakaró is komoly hatással van az embrióig eljutó fény mennyiségére, spektrumára. A viaszok minimális, a poliszacharidok már jelentős fényelnyeléssel rendelkeznek. Ennél nagyságrendekkel többet nyelnek el a bejutó fényből a különböző fotoaktív anyagok, mint a klorofilok, karotinok és a melaninok, de ezek nagyobb mennyiségben a kifejlett növényben találhatóak meg.

2.4. Mutagén hatás^[7]

A fotonok rengeteg molekuláris szintű változást idézhetnek elő. Megváltoztathatják elektronok energiaszintjét, az elektronfelhő eloszlását (pl.: FAD), de ahogy egyre nagyobb energiájú fotonok kerülnek interakcióba részecskékkal, akár izomerek egymásba való alakulását is előidézhetik (pl.: retinal). Még ennél is rövidebb hullámhosszú fény akár elsőrendű kölcsönhatások, kovalens kötések felszakítására is képes. Ebből következik, hogy egyes sugárzások mutagén hatásúak, mivel az örökítő anyagok (DNS, RNS) szerkezetére (bázissorrendjére) is hatással vannak. Mivel többek között a DNS javítás elősegítése is a céljaink közé tartozik, ügyeltünk arra is, hogy a besugárzással ne okozzunk több kárt, mint amennyi hasznot, vagyis kerülnünk kell a rövid hullámhosszú, nagy energiájú, természetben kis mennyiségben előforduló, UV fényt és a radioaktív jellegű sugárzásokat.

2.5. Fényérzékeny DNS javító mechanizmusok

Az egyedfejlődés kezdeti stádiuma minden élőlény esetében rendkívül rövid sejtciklusokkal, a kifejlett egyed biomolekula szintézisének és örökítőanyag másolásának többszörösével jár. A milliárdos nagyságrendű bázispárok minimális hibával történő másolása még több óra alatt is hatalmas kihívás. Ez az idő diploid zigóta korai osztódásakor nagyságrendekkel lerövidül, hasonlóképpen a magvak csírázásakor is, hiszen minimális számú sejtnek kell replikálnia és több millió másikat létrehoznia, amelyek életképesek, mi több, többsejtű eukarióták esetében alkalmasak a differenciálódáskor kapott feladatuk hatékony ellátására, amihez elengedhetetlen, hogy az örökítőanyag másolása sejtgenerációról sejtgenerációra közel hibátlan legyen (eltekintve az evolúciót hajtó pozitív hatású mutációktól, melynek előfordulása ilyen spontán pontmutáció esetében rendkívül kis valószínűségű).

Az ilyen másolási hibák kiküszöbölésére a legtöbb sejt élőlény javító mechanizmusokat hozott létre, melyek fényérzékenyek^{[8][9]}.

A DNS fényelnyelési maximuma 260 nm-nél található, így a DNS-t legjobban károsító hullámhosszak az UV-C tartományba esnek. Ezek a fotonok már képesek mind bázisokat dimerizálni, mind pedig a DNS pirofoszfát gerincét felszakítani, ezzel akár duplaszálú törést előidézni a DNS-ben, ami mutációhoz, rákos sejtek kialakulásához, vagy akár sejthalálhoz is vezethet. A növények egészséges fejlődésének szempontjából elengedhetetlen, hogy a csíra sejtjei teljesen épek legyenek, biztosítva ezzel azt, hogy a belőlük később differenciálódó szövetek képesek lesznek ellátni a funkciójukat. A növényeknek több mechanizmusa is van annak kiküszöbölésére, hogy hibás genetikai információról történjen a másolás. Leggyakrabban a hibás sejt apoptózissal, programozott sejthalállal elpusztul. A mag duzzasztása után, de még csírázás megkezdése előtt hibajavító mechanizmusok nagy intenzitással zajlanak, hogy a csíra megfelelő genetikai állományú sejteket tartalmazzon. Amíg ez a hibajavítás nem megy végbe, addig nem kezdődik meg a sejtosztódás^[10], így ennek a folyamatnak a felgyorsításával el lehet érni, hogy a magok előbb csírázzanak ki, amit mi is tapasztaltunk kísérleteink során. A vörös lézer képes olyan hibajavító mechanizmusok beindítására, amik a kettős szálú töréseknek a javítását végzik^[7]. Ezeknek a mechanizmusoknak a fénnel történő aktiválásával el lehet érni, hogy olyan növények is szinte teljesen regenerálódjanak az UV terhelésből, amik olyan dózist kaptak, amitől a piros lézerrel kezeletlen növények elpusztultak, csökevényesen fejlődtek.



4a. ábra. Normálisan fejlett, UV-B kezelt, alulfejlett és He-Ne lézerrel kiváltott fokozott hibajavítással rendelkező növények ^[7]

Efficient Light-Dependent DNA Repair

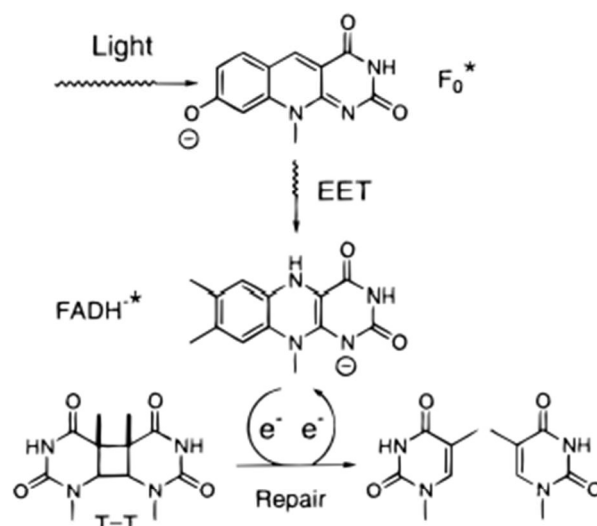
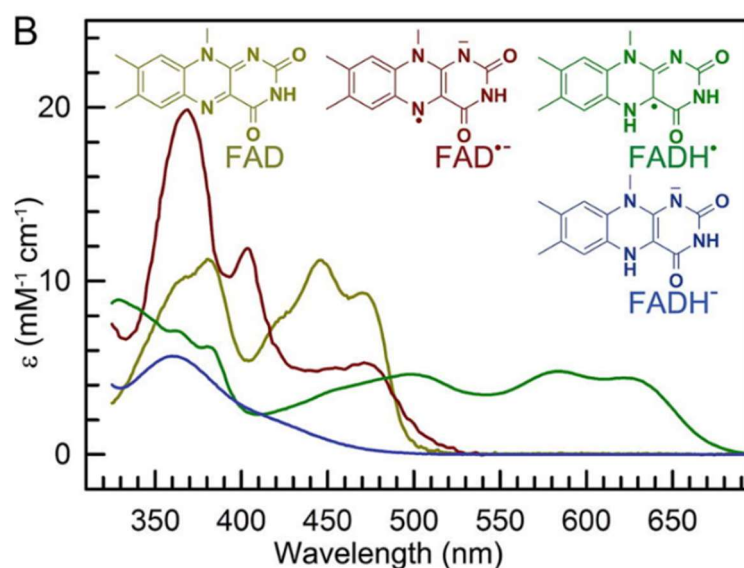


Figure 1. Schematic representation of the mechanism of the type II photolyase-initiated DNA repair process. The deazaflavin (F_0) absorbs light and transfers the energy to a reduced and deprotonated flavin ($FADH^-$). This initiates an electron transfer to a cyclobutane pyrimidine dimer lesion ($T=T$). The dimer cleaves spontaneously as its radical anion. EET = Excitation energy transfer.

5a. ábra. A FAD fotoaktivitása és a hibás timin kötések javítása ^[8]



5b. ábra. A FAD egyes állapotainak abszorpciós spektruma ^[9]

2.6. Mitokondrium elváltozások

A még nem fotoszintetizáló csíranövény számára az energiát teljes egészében a raktározott tápanyagok felhasználásával a mitokondrium biztosítja. Mivel a fokozott sejtaktivitás sok energiát igényel, a mitokondrium működése egyfajta sebességmeghatározó tényezőként hat a csírázás folyamatára, hiszen, ha sérültek a mitokondriumok, vagy működésük gátolt, akkor a csírázás megszakad. A csírázásban játszott központi szerepéből következik az is, hogy bármilyen, a mitokondriumra gyakorolt pozitív hatás nagyban befolyásolhatja a növény fejlődését. Az orvosi soft lézer terápia széles körben elterjedt, bizonyítottan hatásos kezelés, ami többek között a sejtek mitokondriumára van hatással. Régóta elfogadott tény, hogy állati sejtek vörös fény hatására képesek a mitokondriumaikon ultrastrukturális változtatásokat végrehajtani ^[11]. Ugyan nem fényhatásra, de növényekben is kialakulhatnak óriás mitokondriumok, amelyek jól megfigyelhetők, és elektronmikroszkópiával, vagy fluoreszcens jelöléssel elkülöníthetők méretük szerint az eredeti, át nem alakult mitokondriumoktól ^[12]. Ha lézerrel növényi magok sejtjeiben is hasonló változásokat tudunk előidézni, mint amik végbemennek állati kultúrákban, akkor optimális kezeléssel elérhetjük, hogy olyan magokat készítsünk, amelyek gyorsabban csíráznak, és amelyekből egészségesebb, ellenálló növények fejlődnek, és számos tulajdonságuk kedvezőbb lesz, akár mezőgazdasági szempontból is ^[13].

2.7. Felületi patogének elpusztítása ^[14]

A magok fejlődésekor az esetek többségében már az anyanövényen töltött idő alatt megjelennek a mag számára idegen gombák és baktériumok. Van rá példa, hogy az utódnövény szimbiózisban él tovább ezekkel a vendégfajokkal, sőt, bizonyos esetekben szükséges egy adott gombafaj jelenléte a növény egészséges fejlődése érdekében (pl. endomikorhiza gombák), bár ezek többnyire nem inaktív mag formájában rakódnak a növényre. Sokkal jelentősebb számban vannak jelen a növény szempontjából semleges vagy káros kórokozó fajok. A korábbiakban tárgyalt védelem miatt a mag inaktív fázisában nincsenek különösebb hatással az egyedre, viszont csírázáskor a kifejezetten sebezhető csíra találkozik a kültakarón megtelepedett patogénekkal. Egy, a szójababbal végzett kutatás kimutatta, hogy milyen komoly, és legfőképp milyen pontosan irányítható kezelést nyújt a lézer felületi kórokozókkal szemben. Képesek

voltak a besugárzás paramétereit úgy beállítani, hogy az kifejezetten a patogén törzseket károsítsa, ezzel javítva a babok csírázási százalékát és életképességét.

Ez a kezelési eljárás kifejezetten ígéretes lehetőségeket tartogat a kakaóbab csíráztatása terén.

Disease	Region	Estimated World Production Loss(tonnes)
Black Pod (phytophthora fungus)	Africa, Brazil, Asia	450,000
Witches Broom (fungus)	Latin America	250,000
Frosty Pod Rot (fungus)	Latin America	30,000
Swollen Shoot Virus	Africa	50,000
Vascular Streak Dieback (virus)	Africa	30,000

6. táblázat. A kakaóbab patogénjeinek hozzávetőleges hatása ^[15]

A kakaóbab termés rendszeres károsodásának (akár 40% megsemmisülése egy adott évben) okozói között gombák találhatók a lista csúcsán. A táblázatban látható hatalmas veszteségek rendkívül ösztönzően hatnak ennek a területnek a kutatására. Különösen, ha figyelembe vesszük a rohamos növekedést a keresletben. Jelenleg az erre szakosodott intézetek ellenálló fajták nemesítésével igyekeznek megoldani ezt a problémát. Lézeres kezeléstről még nincs nyilvános publikáció.

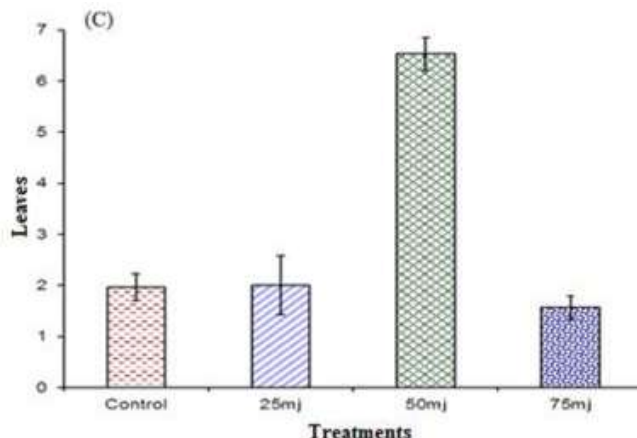
2.8. Vegyszeres fertőtlenítés, sterilizálás

A növénybiológiai kutatásokban gyakran használnak sterilizáló eljárást (pl. híg hipoklórossavval) a kutatások szempontjából káros organizmusok eltávolítása végett. Sterilizálást alkalmaztunk a Bay Zoltán kutatóintézetben végzett kísérletek esetén is. Sok esetben mutatott a kezelés a sterilizáláshoz hasonló hatást (bővebben: 5.3.). Hogy a sterilizálás hatását a csírázásra számításba tudjuk venni, minden dózispontot sterilizált és sterilizetlen magokkal is megvizsgáltunk.

3. A kutatás módszerei

3.1. Paraméterek általános meghatározása

Kísérleteinkben igyekeztük meghatározni az optimum tartományát, vagyis attól a ponttól, ahol nem észleltünk mérhető változást egészen a káros dózisértékekig. Ezzel feltérképeztük a pozitív hatás kezeléstől való függését.



7. ábra. Magyarázat jellegű ábra a lézeres kezelés dózisoptimumáról.^[16]

A 7. ábra grafikonja egy választott indikátor tulajdonságot ábrázol egy fizikai paraméter függvényében.

3.1.1. Hatásindikátor paraméterek

A kísérleteink során fontos megállapítanunk, milyen hatással volt a kezelés a magokra. Ezt hivatottak jelezni a következő paraméterek.

Pozitív hatás indikátorai:

- Csírázás hatékonysága (kicsírázott és összes mag hányadosa)
- (Csoportonként) összegzett méret (csírahossz, felszín vagy térfogat) különböző időpontokban, ezzel nyomon követve a növekedést
- Összes relatív felszín-változás
- Összes keletkezett biomassa
- Hajtások/elágazások száma

Negatív hatás indikátorai:

- Kifejletlen magok száma (vagy aránya)
- Fertőzött magok száma (vagy aránya)
- Gyengén fejlett magok száma (vagy aránya)
- Maximális hatékonyságú csírázásig eltelt idő
- Első csírakezdemény kibukkanásáig eltelt idő

3.1.2. Fizikai paraméterek

Itt a kutatás szempontjából releváns fizikai paramétereket vettük számba, minden másat igyekeztünk fajtól függetlenül (vagy modellnövények esetében annak irodalmának megfelelően) állandónak megtartani.

Egyéb paraméterek:

- Hőmérséklet, környezet nedvessége, vízállás
- Páratartalom (zárt térben voltak)
- Természetes spektrumú fény mennyisége
- Természetes spektrumú fény intenzitása (minden mag azonos megvilágítást kapott)
- Természetes spektrumú fénnel való megvilágítás időtartama (napi 8 óra)

Vizsgált paraméterek:

- Lézer hullámhossza: 660, 800 [nm]
- Lézer fénytéljesítménye: Írisszel (blendével) kijelöltünk egy megközelítőleg homogén teljesítményeloszlású foltot. A továbbiakban ezen a folton mértük a fénytéljesítményt és itt sugároztuk be a magokat is. A teljesítmény értékek 5 és 100 mW között változtak. [mW]
- Foltméret: Besugárzások között eltérő lehetett, de minden teljesítménysűrűség számolásánál figyelembe lett véve az aktuális foltméret. [mm²]
- Fénytéljesítmény sűrűsége [mW/mm²]
- Besugárzás időtartama: 30-300 [s]
- Besugárzástól csíráztatásig eltelt idő: Egy kísérlet minden csoportjánál azonos idő telt el besugárzástól a csíráztatás megkezdéséig
- Besugárzások közti pihentetési idő: Mivel a csírázás megkezdése utáni újabb fényhatások teljesen más folyamatokat indíthatnak be, mint a csíráztatás előttié, ezért fontosnak tartottuk, hogy külön tudjuk vizsgálni a hatásukat, néhány hivatkozott cikkel szemben a kísérleteink során nem pihentettük majd sugároztuk be a magokat újra.

Dózismeghatározás:

Az összehasonlíthatóság érdekében el kell döntenünk, mit fogunk egység dózisként venni.

Felmerülő problémák:

- Melyik paraméter legyen azonos minden mag esetén?
 - Abszolút kapott energia/mag
 - Abszolút elnyelt energia/mag
 - Relatív energia (dózis kérdése)
- Minek a függvényében adjuk meg a dózist?
 - Felület
 - Térfogat
 - Tömeg
 - Rövidebb hullámhosszak esetén vegyük-e figyelembe a nagyobb energiájú fotonokat?
 - Ha a jelenség az energiával arányosnak tekinthető, akkor a fotonok energiája csak minőségi szempont, az energiát kell konstansnak venni
 - Ha a jelenség a fotonok számával arányos, akkor a rövidebb hullámhosszoknál arányosan csökkenteni kell az energiát (besugárzásiidő vagy teljesítménycsökkentéssel)
- Megvalósíthatóság. A magok rendkívül sokféle mérete és alakja miatt csak egyes dózismeghatározások kivitelezése lehetséges.

Végül (az ezt megelőzőkben aláhúzott szempontok szerint) a következő változókat vettük konstansnak:

A kezelések során a blende nyílásán nem változtattunk. Ezzel a felület függvényében megadott relatív dózis mellett döntöttünk, mivel egy magra a felületével arányos energia jut.

Vizsgálatunk során először több fajt kezeltünk többféle teljesítménnyel és besugárzási idővel. (Lásd: 4.1.)

Ezzel megtaláltuk a neutrális/hatástalan felső és a káros dózis alsó határát. Innentől ezen értékek között végezzük a kísérleteinket.

3.2. Hullámhossz és időtartam megválasztása

3.2.1. Mutagén hatás kizárása

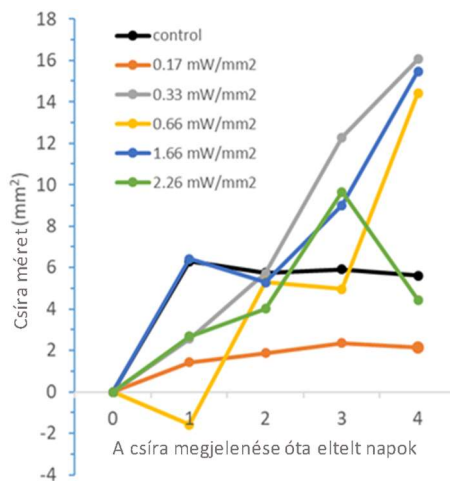
Bizonyos rövid hullámhosszú lézerek nem jöhettek szóba nagy energiájuk, destruktív és mutagén hatásuk miatt, ezért a hullámhossz alsó határát a látható tartomány aljánál szabtuk meg ($\lambda > \approx 400\text{nm}$). Ezen belül a káros hatások elkerülése végett nem végeztünk kísérleteket sokkal a növényi fotorendszerek optimuma alatt. ($\lambda_{P1}=700\text{nm}$, $\lambda_{P2}=680\text{nm}$)

3.2.2. Behatolás vizsgálata

A rövidebb hullámhosszok már azért is ki voltak zárva, mivel az 2.1. pontban említettek miatt a fénynek több rétegen is át kell hatolnia és amint az a 3b. grafikonon is jól látszik, a felső rétegek abszorpciója kezdetben exponenciálisan nő a szóba jövő tartományon (látható és közeli UV) belül. ^[6]

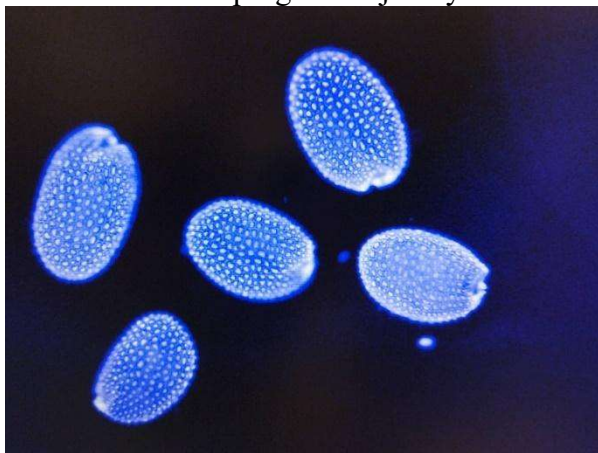
3.2.3. Előkísérletek

A kísérletek megtervezésénél fontos szempont volt, hogy minél több, az irodalomban megjelenő fajt minél több dózis szinten vizsgálni tudjunk, a lézer rájuk gyakorolt hatását elemezni tudjuk. Elsődleges célunk az volt, hogy találjunk valami összefüggést, ami segítségével meg lehet becsülni, hogy egy növény hogy fog reagálni adott kezelésre, és fordítva, azaz egy növény számára mik lesznek az ideális lézer paraméterek, ha optimális csírázás serkentést szeretnénk elérni. Több, mint 10 fajt vizsgáltunk, fajonként legalább 4 dózispontban, és várakozásainknak megfelelően nem volt egy dózis optimum, ami minden mag esetében a legjobb lett volna. Adott dózis egyes magok növekedését serkentette, másik fajok ki se csíráztak ugyanennek a dózissal a hatására, és voltak ugyanilyen dózissal kezelt magok, amik csírázása nem különbözött a kontrolltól. Mivel elsősorban a lézerek növekedést serkentő hatását kívántuk hasznosítani, főképp azokkal a csoportokkal dolgoztunk tovább, amelyek valamelyik dózispontban pozitívan reagáltak. A leggyakrabban használt és viszonylag kevés, de statisztikailag még szignifikáns számú mag esetén a csírázási százalék számítása egy gyors és pontos módszer, ám ahogy a mintavételek időpontjai és a vizsgált magok száma gyarapodott be kellett látni, hogy kézzel nem lehet megbízhatóan nyomon követni a magok fejlődését. Mivel a csírázás korai szakaszát vizsgáltuk, ahol a csíra hossza, a csíranövény függőleges vetületének területe egyenesen arányos a növénykezdemény fejlettségével, képesek voltunk képelemző szoftverekkel feldolgozni az adatokat. Minden fényképet milliméterpapírral kalibráltunk, így az ImageJ program négyzetmilliméterben kifejezve, képenként eltérő ideális beállításokkal elfogadható mértékű hibával meg tudta határozni a csírák felületét, amiből következtetni tudtunk a fejlettségükre.

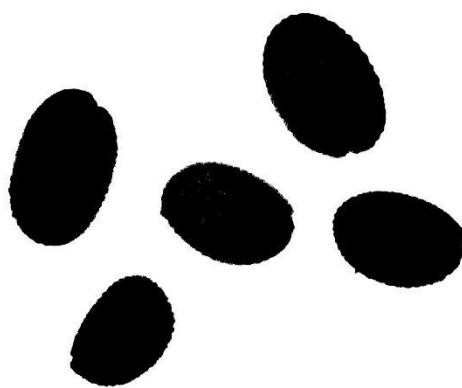


8. grafikon. *Lestyán magok fejlődése 660 nm-es folytonos lézeres kezelés hatására*

Miután kialakult bennünk egy kép a különböző dózisok különböző fajokra gyakorolt hatásáról, a változások okaira koncentrálunk. Ahhoz, hogy megértsük, a mag molekulái és az elektromágneses sugárzás között milyen fizikai kölcsönhatások játszódnak le olyan növényt kellett választanunk, aminek belső folyamatait, mechanizmusait alap kutatások során már feltárták. Modell organizmusok szinte minden folyamatát ismerik már a kutatók, ezért célszerű volt nekünk is az előzetesen vizsgált magok közül egy modellenövényt használni. A lúdfüvet, *Arabidopsis thaliana*-t választottuk további kísérleteinkhez, hiszen több haszonnövénynek is (pl.: repce) rokona, és rövid idő alatt kicsírázik, tehát a rendelkezésünkre álló idő alatt nagyszámú kísérletet tudunk elvégezni, amiből az következik, hogy alaposabban körül tudjuk járni a témát, pontosabb eredményeket tudunk kapni. A lúdfű magok mérete volt az egyik legjelentősebb limitáló tényező a kísérletek szempontjából, hiszen egy ilyen mag átmérője 0.25 és 0.60 mm között van átlagosan, így szabad szemmel nehéz a változásokat rajtuk megfigyelni. A lúdfű magok fejlődésének vizsgálatát egy PerkinElmer EnSight plate readerrel valósítottuk meg, ami autofluoreszcencia és transzmissziós képeket is készít a csírákról adott időközönként, ezzel biztosítva a progressziójuk nyomonkövethetőségét.



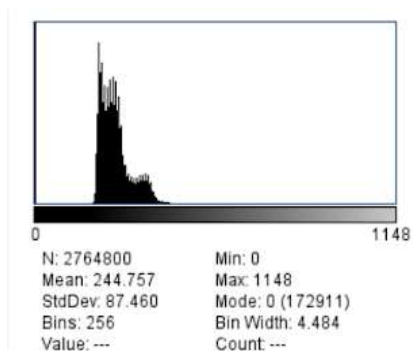
9a ábra. *Arabidopsis* magok autofluoreszcenciás plate reader felvétele



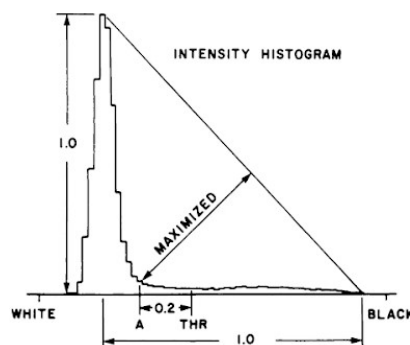
9b ábra. Autofluoreszcencia felvétel képfeldolgozás után, kiválogatott objektumokkal, kiszűrt zajjal

Az automatizált keltetés és fényképezés következményeként hatalmas mennyiségű adat állt rendelkezésünkre. Egy plate-en 96 well található, mindegyikbe 5 magot helyezve, egy plate-t 4-5 csoportra felosztva dózisonként közel száz magot monitorozhattunk a nap szinte minden

percében, ami azt jelentette, hogy megoldást kellett találnunk a magok, csírák méretének teljesen automatizált megállapítására. Ehhez is az ImageJ programot használtuk, ám egy automatikus megoldással, ami a kép hisztogramjából ki tudja válogatni, hogy mik a vizsgált objektumok, és mi a háttér, majd csak a magok területét számolja össze.



10a ábra. Az általunk elemzett képek intenzitáseloszlása.



10b ábra. A forrásban szereplő, ideális intenzitáseloszlás. ^[17]

3.3. Fajok megválasztása

3.3.1. Pozitív reakció

Elsősorban azokkal a magokkal folytattuk a méréseket, amelyek már az első próbakísérletek alatt pozitív reakciót mutattak. Ilyenek voltak többek között a lestyán és a gyöngybab.

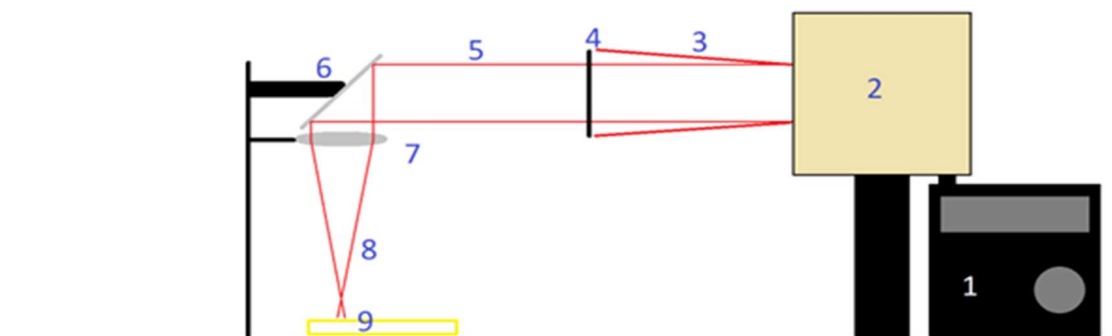
3.3.2. Szakirodalmi háttér

Az évek során néhány növény fajnak kiugróan részletes irodalma keletkezett, hála a növénybiológiai kísérletekben szerzett népszerűségüknek. Ezen fajok számos jellemzői sokkal részletesebben le vannak írva, mint egy átlagos növénynek. Ezen okból került be a kísérletsorozatunkba a lúdfű és ezért zártunk ki néhány jelentéktlenebb fajt (pl. rukkola).

3.4. Eszközök

A besugárzásokat az Optikai és Kvantumelektronikai Tanszék laboratóriumában végeztük 808 és 660 nm-es lézerekkel.

Kísérleti elrendezés:

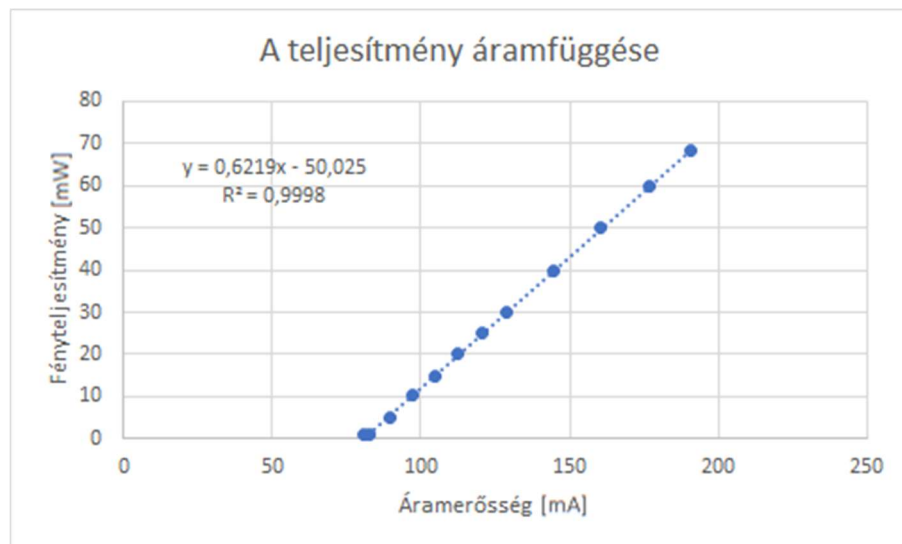


11. ábra. Besugárzó berendezés konfigurációja

Jelölések:

- 1 Tápegység
- 2 Lézer
- 3 Inkonzisztens, szabálytalan keresztmetszetű nyaláb
- 4 Blende
- 5 Leszabályozott, párhuzamos nyaláb
- 6 Síktükör
- 7 Gyűjtőlencse
- 8 Fókuszált nyaláb
- 9 Tárgylemez, plate

A lézer mért karakterisztikája:



12. grafikon. A lézer fényteljesítményének áramerősség függése mérések alapján

Azaz a továbbiakban a dózisokhoz alkalmazott fényteljesítmény megkapható a $P = C \cdot I - 50,025 \text{ mW}$, ahol C a lézerre jellemző teljesítmény függvény deriváltja, $0,6219 \text{ V}$, I az átfolyó áram. Az alkalmazott lézer vetített folt területét is a számítógépes képelemzővel határoztuk meg. ($30,5 \text{ mm}^2$)

4. Eredmények

4.1. 660 nm-es kísérletek

Egyfajta pásztázásnak vetettük alá a felmerülő fajokat és paramétereiket. A besugárzott fajok között volt: lestyán, kakaóbab, mamutfenyő, paprikák, paradicsomok, vöröshagyma, jégcsapretek, gyöngybab, uborka, dinnye, cékla, tök, petrezselyem, kender. A mamutfenyő és a kakaóbab csíráztatása a nem megfelelő körülmények miatt kudarcot vallott. A fennmaradó fajok közül többen pozitívan reagáltak a kezelésre. Ezekkel és a hozzájuk közel álló fajokkal folytattuk a kísérleteket tovább.

Ezen sorozatok mutatták meg, hogy bizonyos dózis már káros. Ez a lestyán grafikonján (8. grafikon) is megfigyelhető. A fejlődési maximum a kontroll, a kisebb értékek és a legnagyobb érték között figyelhető meg. Ezért az átlagos optimális időtartamot 120 másodpercben, az optimális teljesítményt 20 mW körül határoztuk meg.

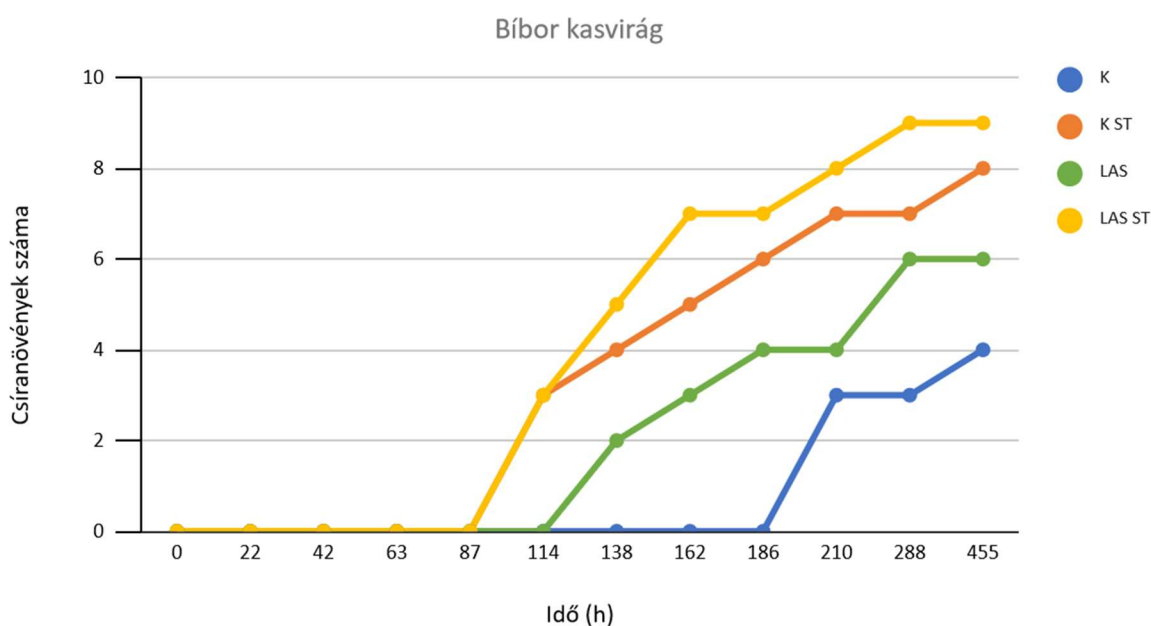
4.2. 808 nm-es kísérletek I.

A magokat a 660 nm-es méréssorozatból kiindulva 808 nm-es lézerrel 25 mW teljesítménnyel 120 másodpercig és egy 24 mm²-es nyalábkeresztmetszettel sugároztuk be. Utána hűtőben tároltuk a mintákat. A csíráztatást a Bay Zoltán Kutatóintézetben végezték.

Szempontok: (a továbbiakban ezen sorszámozott szempontok mentén történik az elemzés)

1. csírázás sebessége,
2. fertőtlenítés hatása a sebességre, hatékonyságra és a fertőzött magok számára,
3. csírázás hatékonysága,
4. gyengén fejlett növények száma,
5. fertőzött magok száma.

K: kontroll
K ST: kontroll (sterilezett)
LAS: lézerrel kezelt
LAS ST: lézerrel kezelt (sterilezett)



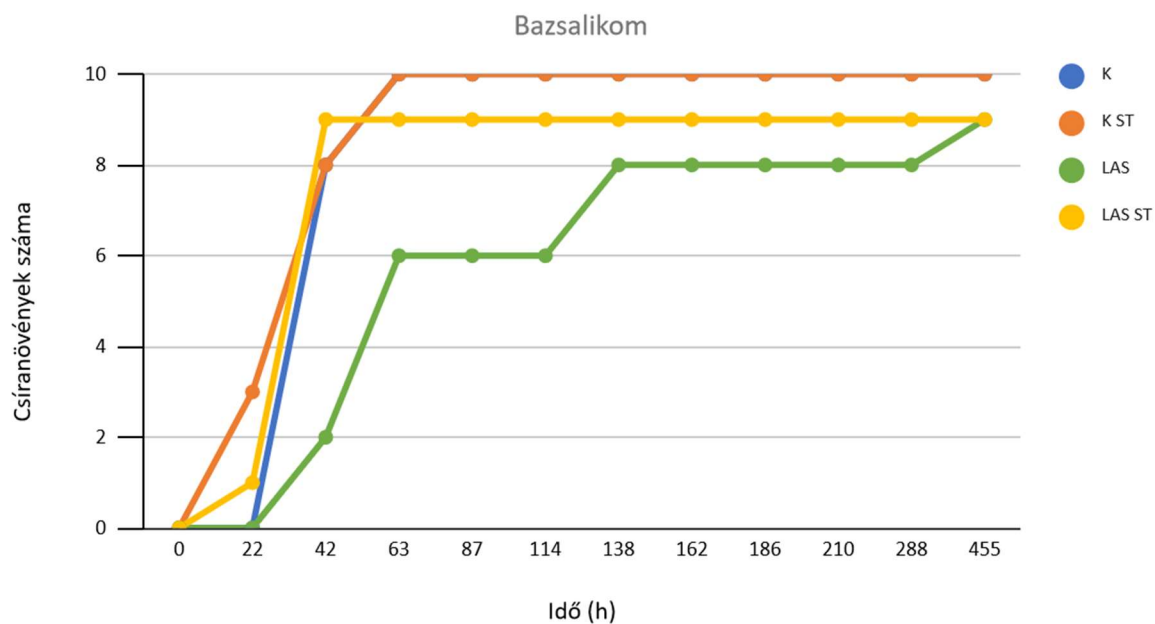
13a. grafikon. A bíbor kasvirág csírázása

Indult: 2022.05.11. 16:00 22 °C (sötét)		Csírázási hatékonyság (%)	Gyengén fejlett növények száma	Fertőzött magok száma
Bíbor kasvirág	K	40	4	5
	K ST	80	1	0
	LAS	60	5	3
	LAS ST	90	0	0

13b. táblázat. A bíbor kasvirág csírázása

4.2.1. Bíbor kasvirág: (pozitív reakció)

1. A csírázás sebességét nem jelentősen, de növelte a lézeres kezelés.
2. A fertőtlenítés hatása mindkét csoportra jelentősen pozitív.
3. A csírázás hatékonyságát jelentősen növelte a lézeres kezelés.
4. A gyengén fejlett növények számára a fertőtlenítés határozottan pozitív, a lézeres kezelés kevésbé jelentős, de pozitív hatással volt.
5. A fertőzött magok száma nem elég reprezentatív távolabbi következtetések levonására, de ilyen kis mennyiségben úgy látszik, a fertőtlenítetlen magokat valamilyen szinten fertőtleníti a kezelés.



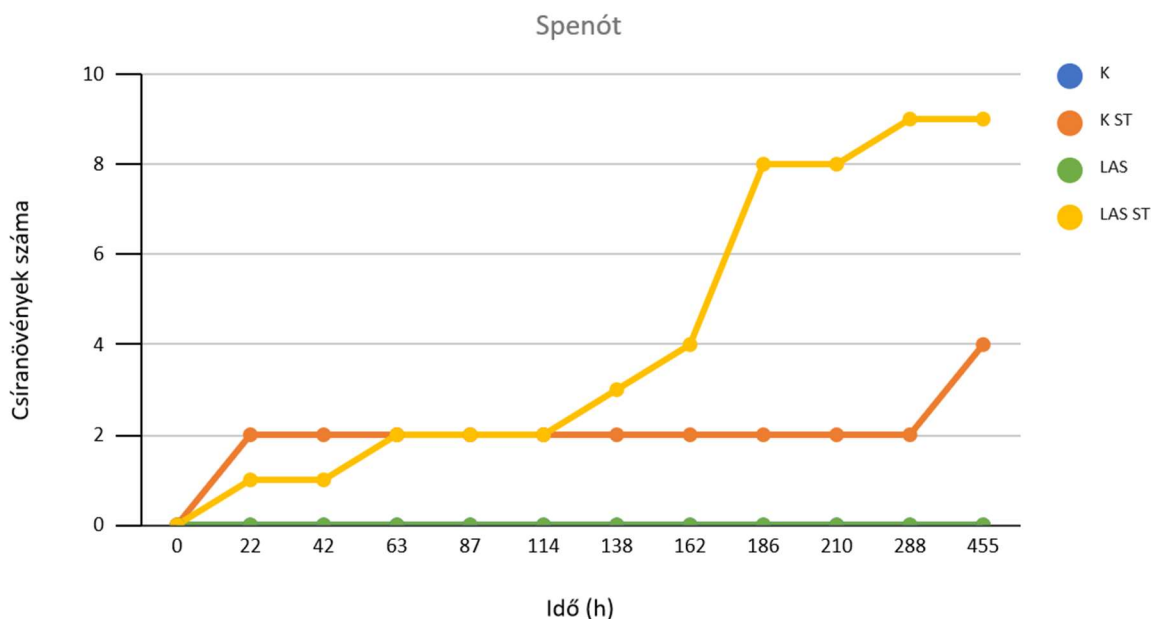
14a. grafikon. A bazsalikom csírázása

Indult: 2022.05.11. 16:00 22 °C (sötét)		Csírázási hatékonyság (%)	Gyengén fejlett növények száma	Fertőzött magok száma
Bazsalikom	K	100	0	2
	K ST	100	0	0
	LAS	90	0	1
	LAS ST	90	0	0

14b. táblázat. A bazsalikom csírázása

4.2.2. Bazsalikom: (gyenge reakció)

1. A csírázás sebessége nem sokkal, de elmarad a kontroll mögött.
2. A fertőtlenítés nem jelentős, de pozitív hatással volt a besugárzott és a kontroll csoportra is.
3. A csírázás hatékonysága nem sokkal, de elmarad a kontroll mögött.
4. Nem voltak egyik csoportban sem gyengén fejlett növények.
5. A fertőzött magok száma nem elég reprezentatív távolabbi következtetések levonására, de ilyen kis mennyiségben úgy látszik, a fertőtlenítetlen magokat valamilyen szinten fertőtleníti a kezelés.



15a. grafikon. A spenót csírázása

Indult: 2022.05.11. 16:00 22 °C (sötét)		Csírázási hatékonyság (%)	Gyengén fejlett növények száma	Fertőzött magok száma
Spenót	K	0	0	4
	K ST	40	4	0
	LAS	0	0	5
	LAS ST	90	5	0

15b. táblázat. A spenót csírázása

4.2.3. Spenót: (ellentmondásos reakció)

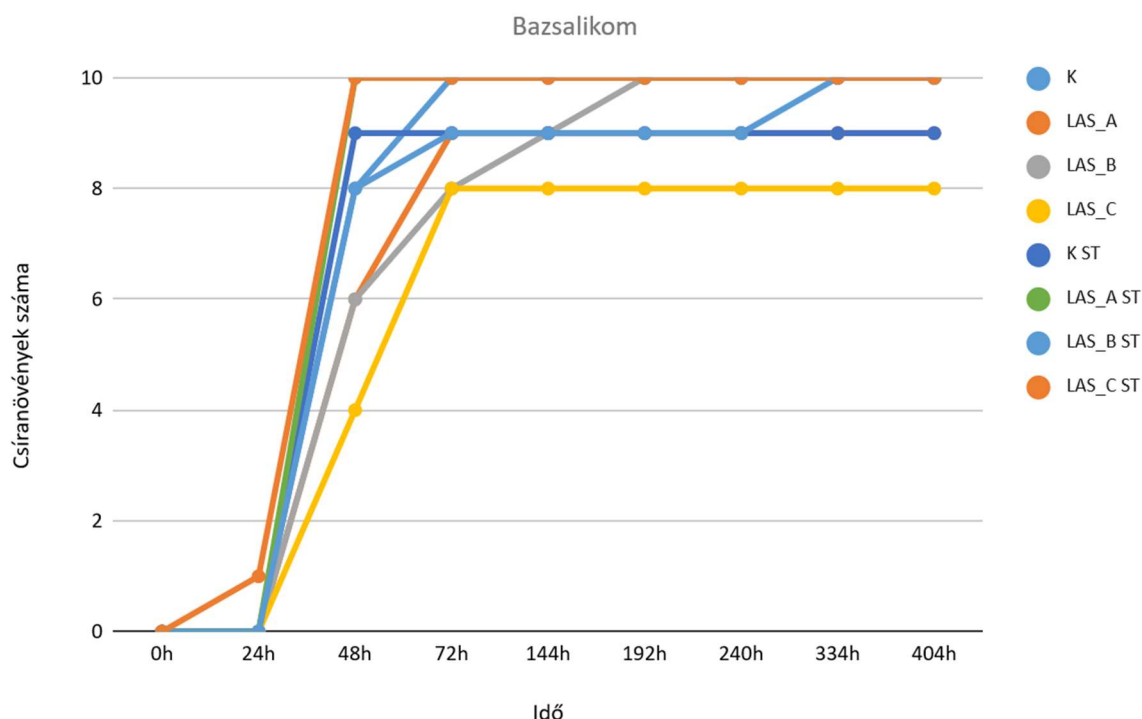
1. A csírázás sebességére kiemelkedően jó hatással volt a lézeres kezelés.
2. A fertőtlenítés kiemelkedően jó hatással volt 3 tényezőre (Nélküle meg sem indult a csírázás, és lenullázta a fertőzés mértékét.), viszont a gyengén fejlett magok számát határozottan növelte, így feltételezhetően itt csak a csírázás megindításában segít a sterilizálás, a növény továbbfejlődéséhez valami más körülmény is szükséges, amit a lézeres kezelés megteremtett.
3. A csírázás hatékonyságát jelentősen növelte a lézeres kezelés.
4. A gyengén fejlett növények számát nem igazán befolyásolta a besugárzás.
5. A fertőzött magok számára nem volt jó hatással.

4.3. 808 nm-es kísérletek II.

A kísérlet körülményei a 808 nm-es kísérletek I-hez képest változatlanok, a teljesítményektől eltekintve:

a	Bazsalikom	Fejes saláta	Spenót
LAS A [808 nm, 5 mW, 120 s]	2022.05.12.	2022.05.20.	2022.06.09.
LAS B [808 nm, 10 mW, 120 s]	2022.05.12.	2022.05.20.	2022.06.09.

LAS C [808 nm, 50 mW, 120 s]	2022.05.12.	2022.05.20.	2022.06.09.
------------------------------	-------------	-------------	-------------



16a. grafikon. A bazsalikom csírázása különböző fényteltjesítmények mellett

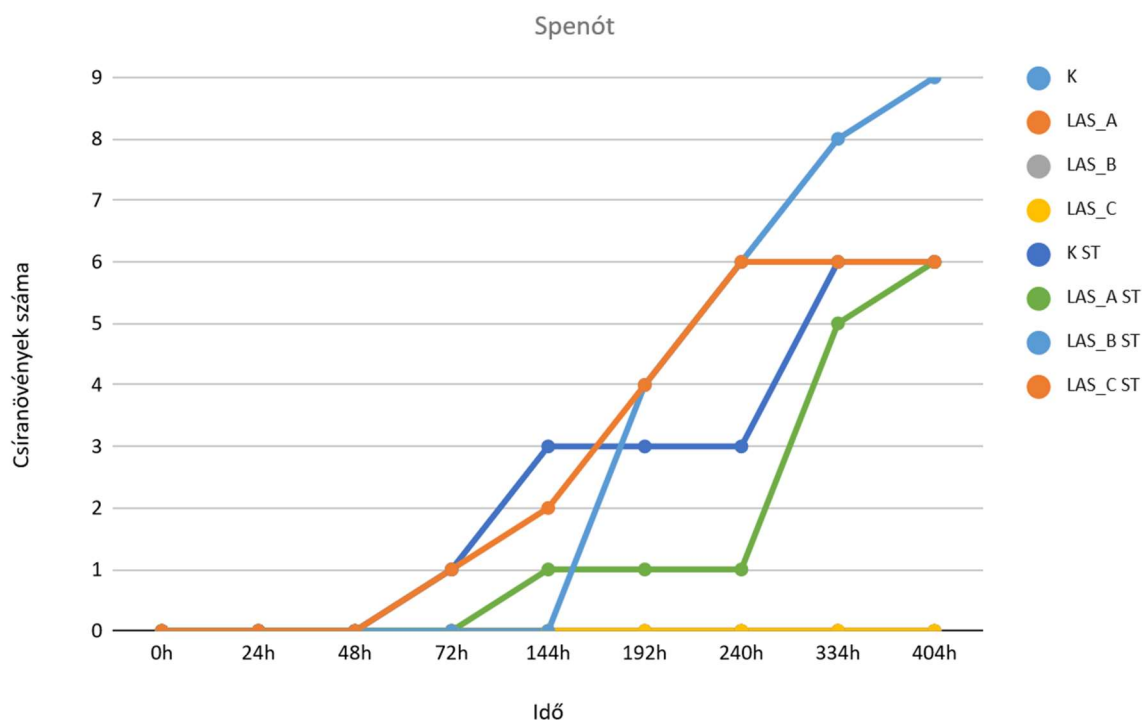
Indult: 2022.06.14. 16:00 22 °C (sötét)		Csírázási hatékonyság (%)	Gyengén fejlett növények száma	Fertőzött magok száma
Bazsalikom	K	100	0	0
	LAS_A	90	0	4
	LAS_B	100	1	3
	LAS_C	80	0	2
	K ST	90	0	0
	LAS_A ST	100	0	0
	LAS_B ST	100	1	0
	LAS_C ST	100	0	0

16b. táblázat. A bazsalikom csírázása különböző fényteltjesítmények mellett

4.3.1. Bazsalikom (gyenge reakció)

1. A csírázás sebessége a LAS C ST esetében volt a legjobb.
2. A fertőtlenítés nem jelentős, de pozitív hatással volt a besugárzott csoportra, míg a kontrollt enyhén rontotta, ha a csírázás hatékonyságát vesszük.
3. A csírázás hatékonysága javult a sterilizálás hatására.
4. Csak a C csoportokban volt egy-egy gyengén fejlett példány, de ott mindkettőben.

5. A fertőzött magok számára a sterilizálás pozitív, a kezelés önmagában úgy tűnik negatív hatással volt.



17a. grafikon. A spenót csírázása

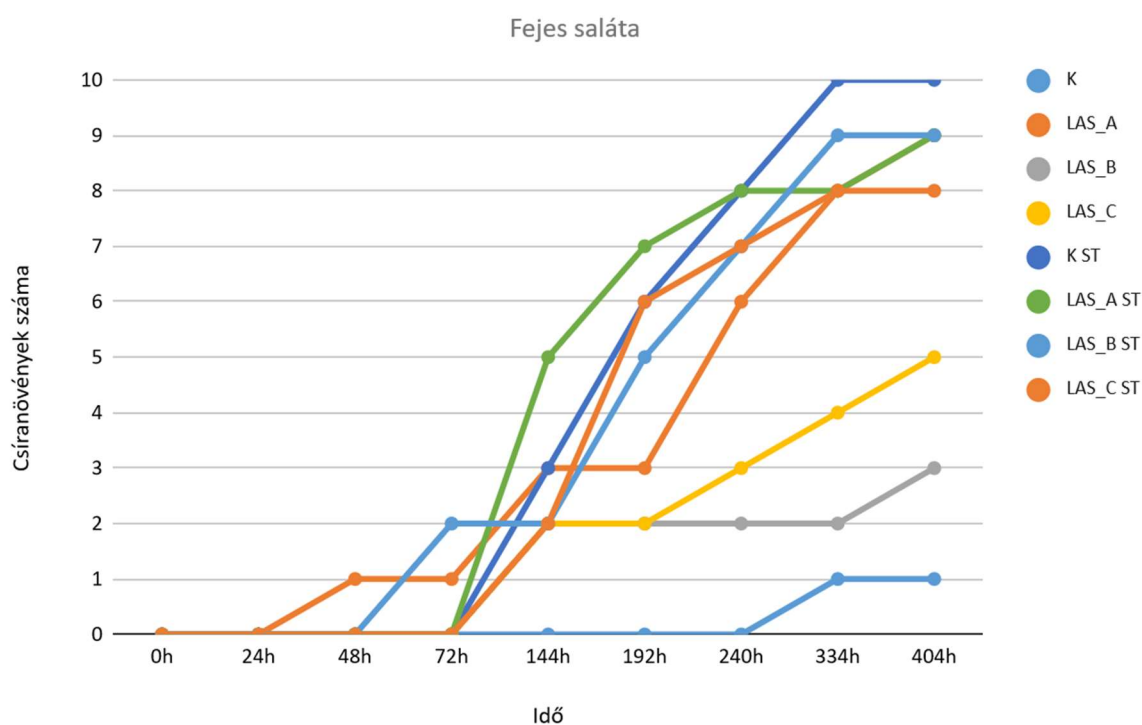
Indult: 2022.06.14. 16:00 22 °C (sötét)		Csírázási hatékonyság (%)	Gyengén fejlett növények száma	Fertőzött magok száma
Spenót	K	0	0	2
	LAS_A	0	0	6
	LAS_B	0	0	3
	LAS_C	0	0	6
	K ST	60	2	0
	LAS_A ST	60	6	0
	LAS_B ST	90	5	0
	LAS_C ST	60	2	0

17b. táblázat. A spenót csírázása

4.3.2. Spenót (negatív, az előző kísérlethez hasonló reakció)

1. A csírázás sebességére nem volt jó hatással a lézeres kezelés.
2. A fertőtlenítés jó hatással volt 3 tényezőre (Nélküle meg sem indult a csírázás, és lenullázta a fertőzés mértékét.), viszont a gyengén fejlett magok számát határozottan növelte, hasonlóan az előző sorozathoz.

3. A csírázás hatékonyságát jelentősen növelte a lézeres kezelés a LAS_B ST esetén, a többi esetben nincs eltérés.
4. A gyengén fejlett növények számán a LAS_A ST rontott leginkább, de a LAS_B ST sem túl jó.
5. A fertőzött magok számára nem volt jó hatással.



18a. grafikon. A fejes saláta csírázása

Indult: 2022.06.14. 16:00 22 °C (sötét)		Csírázási hatékonyság (%)	Gyengén fejlett növények száma	Fertőzött magok száma
Fejes saláta	K	10	1	0
	LAS_A	90	8	4
	LAS_B	30	3	3
	LAS_C	50	5	2
	K ST	100	10	0
	LAS_A ST	90	9	0
	LAS_B ST	90	9	0
	LAS_C ST	80	8	0

18b. táblázat. A fejes saláta csírázása

4.3.3. Fejes saláta (sterilizáló jelleg)

1. A csírázás sebessége a lézeres kezelésre kezdetben javult (LAS_A, LAS_B ST).

2. A fertőtlenítés hatása a kontrollcsoportra jelentősen pozitív, míg a kezelt csoportokra is pozitív hatással van, ám ezek sterilizálás nélkül is jelentős fertőtlenítő hatást mutatnak, ha a csírázás hatékonyságát vesszük. (LAS_A/B/C)
3. A csírázás hatékonysága javult a sterilizálás hatására.
4. A gyengén fejlett növények számára a fertőtlenítés nehezen értelmezhető hatással volt. A sterilizálás rendkívül megnövelte a kezeletlen magok esetén a gyengén fejlett magok számát, de önmagában a lézeres kezelés is növelte ezt a számot. A kezeletlen magok után a LAS_B hozta a legjobb arányt.
5. A fertőzött magok számára nem volt jó hatással a lézeres kezelés, csak a sterilizálás.

5.Konklúzió

5.1.Az elvégzett kutatások eredményeinek összefoglalása

5.1.1. A serkentés alátámasztása

A 4.2.1. (Bíbor kasvirág) kísérletben enyhén, az 4.2.3. (Spenót) kísérletben kiemelkedően növelte a csírázás sebességét a lézeres kezelés, illetve az 4.3.1. (Bazsalikom) kísérletben a legnagyobb dózis érte el a legnagyobb csírázási sebességet. Érdekes módon a 4.3.2. (Spenót) kísérlet már korántsem olyan ígéretes sebesség szempontjából, mint az előző kezelés. Az eljárás szabad időzíthetőségét bizonyítja, hogy a kezelés után egyetlen alkalommal sem következett be idő előtti csírázás, függetlenül az eltelt időtől és a (szabályos) tárolás (hűtött vagy szobahőmérsékletű, normál páratartalom mellett) körülményitől.

5.1.2. A hatékonyságnövelés alátámasztása

Az 4.2.1. (Bíbor kasvirág), 4.2.3. (Spenót), 4.3.1. (Bazsalikom), 4.3.2. (Spenót) esetében is vagy a sterilizéssel, vagy önmagában növelte a kezelés a csírázási hatékonyságot. Más esetekben jelentéktelen eltérés tapasztalható.

5.1.3. A fertőtlenítés igazolása

Az 4.3.3. kísérletben tapasztalható a leginkább, hogy bár a kezelés a fertőzötteket nem képes teljesen eliminálni, de a sterilizés csírázásindító-hatását jelentős százalékban képes lehet helyettesíteni, ami a csírázást visszatartó patogének megtizedelésének köszönhető.

5.2. A dolgozat kérdésfeltevéseinek bizonyíttósága

1. A dolgozatban ismertetett kutatások bizonyították a vetőmagok lézeres kezelésének pozitív hatásait.
2. Megállapítottuk, hogy a lézeres kezelés pozitív hatásainak reprodukálhatósága, rendszerezettsége további bizonyítás tárgya, amelyet újabb kutatásokat igényel.
3. Az elvégzett kutatások megerősítették, hogy szükséges a vetőmagok lézeres kezelésének vizsgálata során az az újszerű módszertan, amely a kutatás során alkalmazásra került.
4. Sikertült bizonyítani, hogy a lézerek paramétereinek precíz és egyszerű állíthatósága lehetővé teszi a fajspecifikus optimális terápia megtervezését, kivitelezését és a paraméterek széles spektrumának vizsgálatát.

Összegezve megállapítható, hogy az elmélet oldaláról és a kutatás során is sikerült igazolni, hogy a lézeres terápia vetés előtt is alkalmazható, nem vált ki idő előtti csírázást, a kezelés növelheti a csírázási százalékot, és így közvetett módon a sikeres magok számának növelésével a terméshozam is nő.

Az elvégzett és elemzett kísérletek, a kutatás során használt újszerű módszertan a modern kutatási technológia hozzájárul az elméleti kérdések tisztázásán túl a kutatási eredmények gyakorlati hasznosulásához is.

6. Források

- [1] Perveen, R.; Wang, X.; Jamil, Y.; Ali, Q.; Ali, S.; Zakaria, M.Q.; Afzaal, M.; Kasana, R.A.; Saleem, M.H.; Fiaz, S. Quantitative Determination of the Effects of He–Ne Laser Irradiation on Seed Thermodynamics, Germination Attributes and Metabolites of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) in Relation with the Activities of Germination Enzymes. *Agronomy* 2021, *11*, 1411.
- [2] Klimek-Kopyra, A.; Neugschwandtner, R.W.; Ślizowska, A.; Kot, D.; Dobrowolski, J.W.; Pilch, Z.; Dacewicz, E. Pre-Sowing Laser Light Stimulation Increases Yield and Protein and Crude Fat Contents in Soybean. *Agriculture* 2022, *12*, 1510.
- [3] Seeds: Definition and Structure (With Diagram)
- [4] C. Hernandez Aguilar, F.A. Dominguez Pacheco, A. Cruz Orea, R. Ivanov Tsonchev — Thermal effects of laser irradiation on maize seeds
- [5] Heredia-Guerrero, José & Benítez, Jose & Dominguez, Eva & Cingolani, Roberto & Athanassiou, Athanassia & Heredia, Antonio. (2016). Infrared spectroscopy as a tool to study plant cuticles. *Spectroscopy Europe*. 28. 10
- [6] Partial characterization of extracellular polysaccharides produced by cyanobacterium *Arthrospira platensis*-February 2009[7] Gao L, Li Y, Shen Z, Han R. Responses of He-Ne laser on agronomic traits and the crosstalk between UVR8 signaling and phytochrome B signaling pathway in *Arabidopsis thaliana* subjected to supplementary ultraviolet-B (UV-B) stress. *Protoplasma*. 2018 May;255(3):761-771.
- [8] Glas AF, Maul MJ, Cryle M, Barends TR, Schneider S, Kaya E, Schlichting I, Carell T. The archaeal cofactor F0 is a light-harvesting antenna chromophore in eukaryotes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Jul 14;106(28):11540-5.
- [9] Zhang M, Wang L, Zhong D. Photolyase: Dynamics and electron-transfer mechanisms of DNA repair. *Arch Biochem Biophys*. 2017 Oct 15;632:158-174.
- [10] Zlatanova JS, Ivanov PV, Stoilov LM, Chimshirova KV, Stanchev BS. DNA repair precedes replicative synthesis during early germination in maize. *Plant Mol Biol*. 1987 Mar;10(2):139-44.
- [11] Manteifel V, Bakeeva L, Karu T. Ultrastructural changes in chondriome of human lymphocytes after irradiation with He-Ne laser: appearance of giant mitochondria. *J Photochem Photobiol B*. 1997 Mar;38(1):25-30.
- [12] White RR, Lin C, Leaves I, Castro IG, Metz J, Bateman BC, Botchway SW, Ward AD, Ashwin P, Sparkes I. Miro2 tethers the ER to mitochondria to promote mitochondrial fusion in tobacco leaf epidermal cells. *Commun Biol*. 2020 Apr 3;3(1):161.
- [13] Podleśna, Anna, Bożena Gładyszewska, Janusz Podleśny and Wojciech Zgrajka. “Changes in the germination process and growth of pea in effect of laser seed irradiation.” *International Agrophysics* 29 (2015): 485 - 492.
- [14] Klimek-Kopyra, A.; Dłużniewska, J.; Ślizowska, A.; Dobrowolski, J.W. Impact of Coherent Laser Irradiation on Germination and Mycoflora of Soybean Seeds—Innovative and Prospective Seed Quality Management. *Agriculture* 2020, *10*, 314.

[15] Wood , G.A.R. and Lass, R.A., 1992. Cocoa. Tropical Agriculture Series, Fourth Edition. Longman Press, London

[16] Urva, Hina Shafique, Yasir Jamil, Zia ul Haq, Tamveel Mujahid, Aman Ullah Khan, Munawar Iqbal, Mazhar Abbas, Low power continuous wave-laser seed irradiation effect on *Moringa oleifera* germination, seedling growth and biochemical attributes, Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, Volume 170, 2017, Pages 314-323, ISSN 1011-1344,

[17] Zack, G. W., Rogers, W. E., & Latt, S. A. (1977). Automatic measurement of sister chromatid exchange frequency. Journal of Histochemistry & Cytochemistry, 25(7)

Ezúton köszönjük a dolgozat elkészítéséhez nyújtott segítséget Prof. Dr. Hopp Bélának, az SZTE TTIK Fizika Intézet intézetvezető egyetemi tanárának, az ELI-ALPS Biomedical Applications Group és az Ultrafast Dynamics Group vezetőinek és munkatársainak, valamint a Bay Zoltán Kutatóintézet kutatóinak.

Bán Botond, Molekuláris bionika mérnöki BSc nappali

Szabó Csenger Márk, Biomérnök BSc nappali

hallgatók, SZTE TTIK Fizika Intézet

Prof. Dr. Hopp Béla, SZTE TTIK Fizika Intézet

intézetvezető egyetemi tanár