B 3377

JÓZSEF ATTILA TUDOMÁNYEGYETEM

SZEGED

A RÉZ ÉS KADMIUM, MINT KÖRNYEZETSZENNYEZŐ NEHÉZFÉMEK HATÁSA A KLOROPLASZTISZOK KIALAKULÁSÁRA ZÖLDÜLŐ ÁRPA LEVELEKBEN

Egyetemi doktori értekezés

Készítette:
R. Oravecz Ágnes
KÉE Növényélettani Tanszék

Témavezető:
Dr. Horváth Gábor
egyetemi tanár
KÉE Növényélettani Tanszék

- 1996 -

BEVEZETÉS

Napjaink világméretű problémája a környezetszennyezés, melyben nagy szerepet játszanak a különböző átmeneti- és nehézfémek. Ezek toxikus hatása már régóta ismert és az a tény, hogy felhalmozódhatnak az ökoszisztémában: a talajban, a táplálékláncban és így végső soron az emberi szervezetben, mára a kutatások középpontjába helyezte ezen fémek élettani hatásának vizsgálatát. A nehézfémek különböző szintű hatásmechanizmusának vizsgálata több szempontból is kiemelt figyelmet érdemel:

A legkülönbözőbb ipari gyártástechnológiákban kiterjedt az alkalmazásuk, aminek következtében bizonyos területeken rendellenesen megemelkedhet a talaj nehézfém koncentrációja. A megnövekedett nehézfémtartalom a tápláléklánc minden egyes tagjában hosszú távon kimutatható károsodást okoz. Ebből a szempontból különösen fontos az emberi szervezetben felhalmozódásra hajlamos fémek (pl. Cd, Pb, stb.) hatásmechanizmusának vizsgálata.

Bár néhány nehézfém (pl. Cu, Zn, Mn, Fe stb.) létfontosságú a növények és az állatok esszenciális mikroelem igényeinek biztosításában, így a mezőgazdasági termelés fokozásában, az ipari szennyezés, valamint a termésnövelés érdekében helytelenül alkalmazott túladagolásuk viszont a fellépő gátlás miatt terméscsökkenést eredményez.

Az ökoszisztémát terhelő, növekvő mértékű nehézfémszennyezés tehát egyre több és bonyolultabb problémát vet fel. Ezek megoldásához hosszútávú környezetvédelmi stratégia kidolgozása szükséges ami azonban a nehézfémek hatásmechanizmusával kapcsolatos kiterjedt és részletes kutatási programot igényel. Ehhez kapcsolódóan munkánk során két jellegzetes környezetszennyező nehézfém, a kadmium és a réz növényélettani hatását vizsgáltuk, amelyet a növényi produktivitásért felelős kloroplasztisz kialakulására fejtenek ki.

IRODALMI BEVEZETÉS

Világszerte számtalan, sokrétű vizsgálatot végeztek a kadmium és a réz környezetszennyező hatásával kapcsolatban. A kisérleti adatokból kitűnik, hogy több oka is lehet toxikus mértékű feldúsulásuknak a környezetben, nagyon sok, szerteágazó forrásból származhatnak mint környezetszennyező tényezők. Az alábbiakban a legfontosabb szennyezőforrások rövid áttekintését adjuk.

Környezetszennyezési források

Ipari és bányászati tevékenység okozta szennyezés

Elemzés készült Presco (Északnyugat Anglia) sárgaréz előállító ipari vidékén a környék talajának réztartalma és erdeinek fanövekedése közötti összefüggésről. Az 1950 óta gyűjtött adatok szerint a talajterhelés a légköri kiülepedés miatt az üzemtől mintegy 3 km-re volt a legnagyobb. Bár 1975 után a kibocsátás mintegy 85 %-kal csökkent, a fák növekedési üteme (törzskörméretre vonatkoztatva) azonban a korábban akkumulálódott nagy mennyiségű réz miatt (ami a normál háttérérték több mint kilencszerese) még mindig 15-20 %-kal volt alacsonyabb mint más területeken. (TURNER és mtsai. 1993)

Hasonló vizsgálatot végeztek a Don-medencében, ahol azt tapasztalták, hogy az "Ukrcink" színesfémüzem légkörön keresztüli szennyező hatása 1,5 km sugarú körben volt a legerőteljesebb. Itt a réz-szennyezettség legalább kétszeres de néhol közel százszoros volt a természetes értékhez képest. A kadmium-szennyezés mértéke is a kétszeres illetve a huszonnégyszeres érték között váltakozott. Ennek

következtében ezen a területen a gabonafélék nehézfémfelvétele meghaladta az egészségügyi határértéket, és a termés is csökkent 50-70 %-kal. (KRIVONOSZOVA és mtsai. 1989)

Hazánkban a Metallochemia nagytétényi gyárát körülvevő terület nehézfém szennyezettségét elemezték részletesebben. Itt a kadmiumtartalom háromszorosan, a réztartalom négy-ötszörösen lépte túl a megengedett határértékeket. A szennyeződés a talaj felső 0-10 cm-es rétegében volt a legnagyobb mértékű, s ez légköri kiülepedésre utal. Ezt bizonyítja az is, hogy az uralkodó szélirány miatt (Északnyugat) a legszennyezettebb terület az üzemtől délkeleti irányban 800 méteren belül elhelyezkedő rész volt (SZABÓ 1991).

A közlekedés nehézfémszennyezése

Magyarországon az egyik legforgalmasabb autópálya, az M-7-es menti talaj és a gyepnövényzet nehézfémtartalmát vizsgálták. Mint ismert, a réz-szennyezés elsősorban a fékbetétek és súrlódó felületek kopásából, a kadmium pedig a gumiköpenyek porladásából és egyes fémalkatrészek kopásából származhat. A kapott adatokból kitűnik hogy a fémtartalom az úttól való távolság függvényében fokozatosan csökkent. Közvetlenül az autópálya mellet lévő 1 m-es sávhoz viszonyítva 100 m-es távolságban a talaj réz- és kadmiumtartalma harmadára, a gyeptakaró fémtartalma pedig a felére csökkent. Az útpadkán való feldúsulás arra utal, hogy a szennyezők részben közvetlenül az útra kerülnek, majd onnan az esővízzel a padkára mosódnak. A légkörbe jutó fémek másik része viszont több-kevesebb időt tölt a levegőben, és az uralkodó szelekkel sodródik távolabbi területekre (KÁDÁR 1993).

A közlekedés és az urbanizáció együttes hatását vizsgálták Budapesten. Azt tapasztalták, hogy a réz hétszeresére, a kadmium ötszörösére dúsult fel, főleg a belső városrészben az utcai sorfák alatt és az ipari körzetekben. Ez a mennyiség már meghaladja a növények által tolerálható koncentrációt. Ezért a város néhány területén, ahol gyümölcs- zöldség- és szőlőtermesztés is folyik a családi házak kertjében, fennáll annak a veszélye, hogy a növények nehézfém szennyezettsége meghaladja az elfogadható határértéket (KÁDÁR 1993).

A mezőgazdasági termelés által okozott szennyezés

A mezőgazdaságban a terméshozam növelése és a minőség javításának érdekében sokféle műtrágyát, talajjavító anyagot és növényvédőszert alkalmaznak. Ezek toxikus elemeket is tartalmazhatnak, így tartós használatuk után egyes növények és rajtuk keresztül a tápláléklánc több eleme is károsodhat. Megkülönböztetett figyelem kiséri például a széles körben használt foszforműtrágyák kadmiumtartalmát. Hiszen míg Európában az élelmiszerek ólomtartalma - az ólommentes benzin elterjedése miatt - csökken, az élelmiszernövények kadmiumtartalma - éppen a kiterjedt foszforműtrágyázás miatt - mindenütt emelkedik (CSATHÓ 1994).

Bár a Magyarországon használt műtrágyák kadmium mellett jelentős mennyiségű rezet is tartalmaznak, ez utóbbi főleg a növényvédőszerek használatakor válhat veszélyessé. Elöregedett gyümölcsösök, szőlők szántóföldi növényekkel történő felváltását, illetve új gyümölcsösök telepítését ezen kultúrákra gyakran lehetetlenné tette az a tény, hogy a korábbi kiterjedt növényvédőszer-használat következtében toxikus mértékben feldúsultak a különböző mikroelemek, köztük a réz is (BENSON 1968, BORNEMISZA 1985).

Mindkét fémből jelentős mennyiséget tartalmazhat a szennyvíziszap, amelyet a mezőgazdaságban talajjavító hatása miatt alakalmaznak. Az így kezelt területeken a fémtartalom 59-100 %-a a talaj felső 20 centiméterére lokalizálódott, de kis mennyiségben még 100 cm mélyen is kimutatható volt. Ezeken a területeken a takarmány- és gabonanövények levelében és szemtermésében is megnőtt a kadmium- és réztartalom (JUSTE és MENCH 1992).

A fémionok felvétele a talajból

A két fém felvételének mértéke és sebessége függ a talaj szerves- és ásványianyag tartalmától, kötöttségétől, pH-jától (XUE és HARRISON 1991).

A zöld muharral végzett kisérletekben azt tapasztalták, hogy az azonos mennyiségben kijuttatott $CdCl_2$-ból lényegesen többet vett fel a növény podzol talajon és az ún. vörösföldön mint csernozjom talajon. Köztudott, hogy ez utóbbiak humusztartalma nagyobb, szellőzése jobb, kötöttsége pedig kisebb mint a podzoloké, vörös- és szürkeföldeké (ALAKSZEJEV és ZÜRIN 1982). A talaj pH-jának főleg azért van nagy jelentősége, mert ha ez savas irányban tolódik el, csökken a talaj kationmegtartó képessége, tehát nő a talajkolloidokról a talajoldatba jutó nehézfémionok száma. Itt a réz leginkább szabad hidratált ion, a kadmium pedig szervetlen komplex formájában van jelen. A komplexek könnyebben mozognak a talajprofilban, ezért a növények számára viszonylag jobban hozzáférhető, könnyebben felvehető a kadmium (ALLOWAY 1990).

A kadmium és a réz felvételét befolyásolják még a hőmérséklet, a napsugárzás, a különböző agronómiai eljárások stb. (CSATHÓ 1994). Kukoricán végzett vizsgálatok során például azt tapasztalták, hogy az azonos koncentrációban adagolt

kadmiumból - miközben a hőmérsékletet 15°C-ról 25°C-ra emelték - a növény legtöbbet a legmagasabb hőmérsékleten vette fel (JUSTE és mtsai. 1989).

A fémek felvétele azonban nem csupán a külső tényezőktől függ, hanem az adott növény genotípusától és fejlettségi állapotától (kor, növekedési sebesség, gyökérzet mérete és mélységi eloszlása, transpirációs együttható stb.). Jelentős különbségek mutatkozhatnak például a különböző növényfajok és az egyes fajták között is. Ezt igazolják a kadmium-felhalmozásra szelektált kukorica hibridekkel végzett vizsgálatok. Ezekből kitűnik, hogy a kadmium-kizáró hibridek szemtermésében és hajtásában legalább egy nagyságrenddel kisebb volt a fémtartalom, mint a kadmium-felhalmozóknál (HINESLY és mtsai.1982).

KUBOI és mtsai (1986) 9 növénycsaládba tartozó 34 faj kadmium-felvételét vizsgálták. Méréseik alapján a vizsgált növénycsaládokat 3 csoportba osztották.Legkisebb volt az akkumulációja a pillangósoknak. A pázsitfüvekre, liliomfélékre, tökfélékre és az ernyősökre a közepes akkumuláció volt jellemző. A kadmium felhalmozása a libatopfélék, a keresztesvirágúak, a burgonyafélék és a fészkesek esetében volt a legnagyobb. Ennek ellenére a kadmium leginkább a pillangósvirágúakra, legkevésbé a keresztesvirágúakra volt fitotoxikus.

Az irodalmi áttekintés további részében az általunk vizsgált két nehézfém, a kadmium és a réz élettani, és ezen belül elsősorban a fotoszintetikus apparátusra gyakorolt hatását tekintjük át.

A kadmiumszennyezés élettani hatásai

A különböző szennyező nehézfémek közül a kadmium az egyik legmérgezőbb vegyszer, mivel a növény számára könnyen felvehető, nagy mennyiségben képesek

akkumulálni, s már viszonylag kis koncentrációban is számtalan élettani folyamatot befolyásol. Felhalmozódása a különböző növényi részekben a növekedés csökkenését eredményezi, ami például a levél felületének és a hajtás zöldtömegének csökkenésében nyilvánulhat meg (WEIGEL és JÄGER 1980). Befolyásolja a növények hormonháztartását is. Ezt bizonyítja, hogy az etilén szintézisére futóbabban serkentőleg hat a kadmiumkezelés. A hatás az amino ciklopropán-karboxiláz-szintetáz működésének befolyásolásán keresztül érvényesül (FUHRER 1982). A kadmium csökkenti a növény szárazságtűrését is. Normál és vízhiányos körülmények között nevelt futóbab palántákról nyert adatokat összehasonlítva jutottak erre a megállapításra (BARCELÓ és mtsai 1986). A hatás azzal magyarázható, hogy a kadmium növeli a sejtfalban az elasztikus modulus értékét, igy csökkenti a fal rugalmasságát. Szárazságtűrést csökkentő hatását erősíti az a tény, hogy a kadmium a sztómaműködést is gátolja.

A kadmium specifikusan hat a fotoszintézis legkülönbözőbb lépéseire. Ennek kapcsán, a különböző módszerekkel tötént kadmiumkezelés után, a fotoszintézis következő részfolyamatait és jellemzőit tanulmányozták: kloroplasztisz-szám, tilakoid-szerkezet, klorofill- és karotinoidtartalom, pigment-protein komplexek, PSII aktivitás, Calvin ciklus valamint a zöldülés, azaz a kloroplasztiszok kialakulásának folyamata.

A kloroplasztiszok száma - a kadmiumos tápoldatban nevelt paradicsom levelében - a kontrollhoz viszonyítva 56 %-ra csökkent, ha a kadmium koncentrációját 1μM-ról 20 μM-ra növelték. Ez a folyamat részben visszafordítható volt, ha a tápoldathoz 500 μM mangánt adtak (DUDKA 1983). Kimutatták, hogy a pigmentek felhalmozódását is gátolja a kadmium. Futóbab levelében például a klorofill- és karotinoid-tartalom 20-50 μM kadmium-koncentráció esetén 56 %-kal illetve 65 %-kal csökkent

(KRUPA és mtsai.1992). Hosszan tartó kadmiumkezelés esetén a kloroplasztisz egész struktúrája is degradálódik, ami igen nagy plasztoglobulusok megjelenésében és a gránumok szerkezetének fellazulásában nyilvánul meg (BASZYNSKI és mtsai.1980). Ezzel párhuzamosan a tilakoid membránok belső finomszerkezete is megváltozik, ami arra vezethető vissza, hogy a kadmiumkezelés hatására csökken a foszfatidil glicerolt alkotó transz-Δ^3-hexadekánsav mennyisége, amely felelős a fénybegyűjtő komplex oligomerizációjáért, és ennek kapcsán a PSII szabályos működéséért (KRUPA 1987).

BAZZAZ és GOVINDJEE (1974) kisérleti adatai szerint a kadmium elsősorban a PSII oxigéntermelését csökkenti. VAN DUIJVENDIJK-MATTEOLI és DESMET (1975) szerint is a nehézfém a PSII vízbontó oldalán fejti ki gátló hatását, a Mn-tartalmú fehérje mennyiségének csökkentésén keresztül. Ezzel szemben LI és MILES (1975) kimutatták, hogy a kadmium gátló hatásának elsődleges oka a PSII reakciócentrumának megváltoztatása.

BASZYNSKI és mtsai. (1980) izolált spenót kloroplasztiszokon vizsgálták a kadmium hatását a fotoszintetikus aktivitásra. Mesterséges elektrondonorokat és akceptorokat alkalmazva azt tapasztalták, hogy 20 μM kadmium 60 %-kal gátolta a PSII, és a PSII-PSI együttes aktivitását. Ha a PSI aktivitását elkülönítve vizsgálták, nem tapasztaltak gátló hatást.

A fenti eredményekkel ellentétben, kadmiummal kezelt babon végzett fluoreszcencia vizsgálatok során azt tapasztalták, hogy a fém nincs hatással a PSII primér fotokémiai folyamataira, azonban a PSII antenna méretét és a plasztokinon mennyiségét csökkenti (KRUPA és mtsai. 1992).

A növény növekedésének lelassulása, a levélfelület és a zöldtömeg csökkenése valószínűleg a szénhidrát anyagcsere, pontosabban a Calvin ciklus egyes enzimeinek (Rubisco, foszfoenolpiruvát-karboxiláz, glicerinaldehid-3-foszfát dehidrogenáz, ribulóz-5-foszfát kináz stb.) gátlásával magyarázható (KRUPA és mtsai.1991). A fentiek alapján valószínűsíthető, hogy a Calvin ciklus reakcióit gátolva csökken az ATP és NADPH igény, így másodlagosan csökken az elektrontranszport aktivitása (KRUPA és mtsai.1993).

Az előzőekben felsorolt kisérleteket zöld növényeken végezték, de bizonyos adatok arra utaltak, hogy ezek a hatások csak másodlagosak a kadmium zöldülési folyamatot befolyásoló hatásához képest (BASZYNSKI és mtsai.1980).

A zöldülést sötétben nevelt (etiolált) növények szabályozott körülmények között történő megvilágításával tanulmányozzák. Ezekben a növényekben a proplasztiszokból sötétben etioplasztiszok képződnek, melyek fő szerkezeti egysége a prolamelláris test. Ez egy rendezett struktúrájú membránrendszer, melynek fő fehérjealkotója a protoklorofillid-NADPH-oxidoreduktáz (PCR) enzim. Ez katalizálja a protoklorofillid-klorofillid átalakulást. Megvilágítás előtt ugyanis a prolamelláris test fő porfirin pigmentje a protoklorofillid, mely a PCR enzim alegységeivel és a NADPH-val komplexet alkot (BÖDDI és mtsai.1989). Megvilágítás hatására a protoklorofillid átalakul klorofilliddé, amely ezután leválik az enzimről. Eközben a prolamelláris test szerkezete megbomlik, vezikulumok fűződnek le, melyek az elektronmikroszkópos felvételen is jól láthatók. Ezután a vezikulumok primer lamellákat alkotnak, melyekből a továbbiak során kialakul a kloroplasztisz jellegzetes gránumos szerkezete (HOFFMAN 1987, LÁNG és VÁGÚJFALVI 1993). Tehát a kloroplasztisz szabályos struktúrájának kialakulása párhuzamosan megy végbe a klorofill bioszintézisének befejező lépéseivel.

Az irodalmi adatok azt mutatják, hogy a kadmium a kloroplasztisz biogenezise és ezen belül a klorofill bioszintézis több pontján is hatékony gátló tényező, befolyásolva a kloroplasztisz normális működéséhez szükséges struktúrális és funkcionális feltételek kialakulását.

PADMAJA és mtsai. (1989) babbal végeztek kisérleteket. A babszemeket különböző koncentrációjú kadmiummal kezelték, majd fényen illetve sötétben csíráztatták 4 napig. Mérték a csíranövények δ-aminólevulinsav (ALA), protoporfirin, Mg-protoprofirin-észter, protoklorofillid- és klorofilltartalmát, valamint az ALA-dehidratáz enzim aktivitását, amely a porfobilinogén ALA-ból való kialakulását katalizálja. Azt tapasztalták hogy a kadmium emelkedő koncentrációjával (0-50 μM) arányosan csökkent a sötétben csíráztatott, majd 7 órán keresztül megvilágított csíranövények levelében az ALA- és a klorofill szintje. Nem változott viszont a protoporfirin, a Mg-protoprofirin-észter valamint a protoklorofillid mennyisége. 50 μM kadmiumkezelés hatására az ALA-dehidratáz aktivitása is mintegy felére csökkent. Az eredményekből arra következtettek, hogy a nehézfém valahol a protoporfirin IX kialakulása előtt, valószínűleg az ALA-szintetáz és/vagy az ALA-dehidratáz működésének szintjén fejti ki gátló hatását a klorofill bioszintézisre.

STOBART és mtsai. (1985) árpát csíráztattak sötétben és a sötét-fény periódus változtatásával mérték a klorofill koncentrációjának változását, a protoklorofillid-tartalmat és regenerációjának mértékét, a "szabad" protoklorofillid mennyiségét exogén ALA adagolásakor és az in vivo abszorpció spektrumot. Azt tapasztalták, hogy 10^{-4} M kadmium-kezelés is 60 %-os gátlást eredményezett a klorofill bioszintézisében. A nehézfém hatással volt a protoklorofillid regenerációjára is. Ebben az esetben regenerációnak azt a folyamatot nevezik, melynek során az etiolált növényt a megvilágítást követően újra sötétben tartják, s ennek következtében a

korábban fototranszformálódott protoklorofillid helyett újra protoklorofillid halmozódik fel. A kisérlet során azt tapasztalták, hogy a kontroll mintáknak 30-40 percre volt szüksége ahhoz, hogy 50 %-os felhalmozási szintet érjen el. A kadmium 10^{-4} M és 10^{-5} M koncentrációnál is jelentősen lassította a folyamatot: 50 %-os regenerációhoz 100 illetve 70 percre volt szükség. Magasabb kadmium koncentrációnál szinte egyáltalán nem tapasztalták a protoklorofillid újrafelhalmozását. A kadmiummal kezelt levelekben meghatározták a külsőleg adagolt ALA-ból származó protoklorofillid mennyiségét. A mérések eredményeiből kitűnik, hogy a kadmium és ALA együttes adagolásánál a "szabad" protoklorofillid szintjének csökkenése - a kontrollhoz képest - sokkal kisebb mértékű volt, mint a csak kadmiummal kezelt mintáknál. A "szabad pigment" kifejezés ez esetben fehérjéhez nem kötött pigmentet jelöl. A protoklorofillid in vivo elrendeződését is befolyásolja a kadmium. A levelekről mért in vivo abszorpció spektrumokban a 655 nm-es fősáv a kék felé tolódott el kadmium hatására: 630-635 nm-nél jelent meg. A felsorolt eredményekből arra következtettek, hogy a kadmiumnak a klorofill bioszintézisére gyakorolt gátló hatása annak köszönhető, hogy zavarja az ALA szintézisét és a protoklorofillid-NADPH-oxidoreduktáz enzim működését.

BÖDDI és mtsai. (1995) 8 napos etiolált árpa alcsony hőmérsékletű fluoreszcencia emissziós és gerjesztési spektrumait elemezték. Megállapították, hogy az etiolált növényben kadmium hatására jelentős mennyiségű rövid hullámhosszú (632,5 nm) protoklorofillid forma halmozódik fel. A nehézfém ezenkívül speciálisan befolyásolja, "fellazítja" a prolamelláris membrán szerkezetét, és jelentősen gátolja a fototranszformációt. Hatására 685 nm helyett 680,5 nm-nél alakul ki a klorofillid maximuma, ami arra utal, hogy egy megbontott szerkezetű komplexbe épül be. A

gátló hatás kivédhető vagy jelentősen csökkenthető volt a kadmiummal azonos koncentrációban adagolt NADPH segítségével.

PAREKH és mtsai. (1990) kukoricán végezték a vizsgálatokat. A nyolc napig sötétben nevelt növényekről levágott levélszegmenteket 24 órára fényre helyezték 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3} M $CdCl_2$ jelenlétében és a klorofill bioszintézis különböző prekurzorait adták a mintákhoz. Kimutatták, hogy már 4 órás megvilágítás esetén is a kadmium gátolta a klorofill felhalmozódását. A gátlás mértéke 0,1 mM $CdCl_2$ jelenlétében 80 % volt. A glicin, szukcinát, glutamát, 2-oxoglutarát, $MgCl_2$, cisztein stb. nem vagy alig fejtett ki védő hatást. A glutation jelenléte viszont teljesen megszüntette a nehézfém gátló hatását. A glutation nélkülözhetetlen számos biokémiai folyamathoz, mint például a fehérjeszintézis, DNS-szintézis, jelenléte elengedhetetlen sok enzim aktivitásához, különböző transzport- és anyagcsere folyamatokhoz. A kisérleti eredméynek azt mutatják, hogy a kadmium gátolja a glutation kialakulását, s ezen keresztül hat a klorofill bioszintézisére.

HORVÁTH és mtsai (1996) zöldülő árpán vizsgálták a kadmium hatását a fotoszintetikus apparátus kialakulására. Az alcsony hőmérsékletű fluoreszcencia emisszió spektrumokból kitűnt, hogy a protoklorofillidnek sem a szintézise, sem a fotokonverziója nem gátlódott a zöldülés során. Ennek ellenére azt tapasztalták, hogy a kadmiumkezelés erősen csökkentette a klorofill felhalmozásának mértékét. A klorofill fluoreszcenciájának élettartama és a fluoreszcencia indukció vizsgálata során arra a következtetésre jutottak, hogy a kadmium elsősorban a klorofill molekulák stabil pigment-protein komplexbe történő beépülését gátolja meg, amelyek elengedhetetlenül szükségesek a fotoszintetikus apparátus normális működéséhez.

A rézszennyezés élettani hatásai

A réz eszenciális mikroelemként elengedhetetlenül szükséges a növények normális fejlődéséhez, anyagcserefolyamataik zavartalanságához. Számos létfontosságú enzim (pl. polifenol oxidáz, aszkorbinsav oxidáz, Rubisco, szuperoxid dizmutáz és katekol oxidáz) lényeges alkotórésze vagy aktivátora (CLARKSON és HANSON 1980). Befolyásolja a szénhidrát - és fehérjeanyagcserét (DELHAIZE és mtsai. 1985), a polifenol anyagcserét (ROBSON és mtsai. 1981) s ez utóbbin keresztül a sejtfal szerkezetének kialakulását. Ezáltal hatással van a növények vízháztartására is (LONERAGAN 1982). Jelenléte szükséges a klorofill bioszintéziséhez, hiszen például árpa levélben a réz mennyiségének 50-60 %-os csökkenése a pigmenttartalom 50 %-os csökkenését eredményezte (BASZYNSKI és mtsai. 1978, DROPPA és HORVÁTH 1990). Közvetlen hatással van az elektrontranszportra, mint a transzportlánc egyik redox komponensének összetevője.

Nagy élettani jelentősége mellett a kutatások azt is igazolták, hogy magas koncentrációja toxikus hatású a növényekre.

STIBOROVÁ és mtsai. (1986) árpával végzett kisérletekben kimutatták, hogy a réz gátolta a gyökér és a hajtás növekedését. A fémkoncentráció növekedésével párhuzamosan csökkent a fehérjetartalom, s ez a tendencia erősebb volt a gyökérben mint a hajtásban. Hasonló eredményre jutottak MOUSTAKAS és mtsai. (1994) is, akik zabbal végeztek szabadföldi kisérleteket nehézfémmel erősen szennyezett területeken. Azt tapasztalták, hogy ahol magas volt a talaj fémkoncentrációja, a kontrollhoz képest lényegesen kisebb volt a növények zöldtömege és magassága.

LIDON és HENRIQUES. (1992) 0,002 - 6,25 g/m^3 rézkoncentrációjú tápoldat sorozaton nevelték a rizst. A csírázás 30. napján a réztartalom a legnagyobb

koncentrációnál a hajtásban harmincszoros, a gyökérben harminhétszeres volt a legkisebb koncentrációhoz viszonyítva. Ennek megfelelően a hajtáshossz hatodára, a gyökérhossz negyedére csökkent a kezelési koncentrációval arányban.

A réz-túladagolásnak a kloroplasztisz struktúrájára gyakorolt hatását vizsgálták spenóton (BASZYNSKI és mtsai. 1988) és zöld algán is (SANDMAN és mtsai. 1980). Mindkét kisérlet során azt tapasztalták, hogy réz hatására megnőtt a plasztoglobulusok, a tilakoidok közötti zárványok száma, csökkent a gránumok mennyisége, degradálódtak a sztróma lamellák, ilymódon teljesen felbomlott a kloroplasztisz finom szerkezete.

Az árpában a réz csökkentette a csíranövény klorofill tartalmát, és jelentősen gátolta a Rubisco aktivitását. A kisérleti adatokból úgy tűnik, hogy ez utóbbi hatás a fő oka a réz fotoszintézisre gyakorolt gátló hatásának (STIBOROVÁ és mtsai. 1986). Zabban a réz túladagolásának hatására 47 %-kal csökkent a klorofill tartalom, 7 %-kal a PSII aktivitása és egyéb fitotoxikus tünetek széles skáláját figyelték meg. Döntőnek azonban itt is a Rubisco aktivitására gyakorolt gátló hatás bizonyult, ami limitálta az egész fotoszintetikus aktivitást. (MOUSTAKAS és mtsai. 1994).

Vízkultúrában nevelt rizsen is vizsgálták a réz-túladagolás toxikus hatását. A kisérleti adatok alapján az alábbi következtetéseket vonták le:

- a réz gátló hatása a fotoszintetikus elektrontranszporton belül elsősorban a PSII oxidáló oldalán és a citokrómok szintjén jelentkezik,
- réz-túladagolás hatására sérül a fotoszintetikus membrán, s ez befolyásolja az ATP és a NADPH termelődését (LIDON és mtsai. 1993).

Magas réztartalmú talajon nőtt búzán fluoreszcencia vizsgálatokat végeztek. A kisérlet során a kontrollhoz képest alacsony F_m, F_v, $t_{1/2}$ és F_v/F_m értékeket kaptak, az F_0 értéke viszont ezekben a növényekben magasabb volt. Ezek az adatok arra

utalnak, hogy csökkent az elektron akceptorok mennyisége a PSII redukáló oldalán, destruálódott a PSII, ezáltal zavar keletkezett a fotokémiai reakcióiban (LANARAS és mtsai. 1993).

Futóbabon végzett vizsgálatok során arra a következtetésre jutottak, hogy a PSII aktivitásának 50 %-os csökkenése elsősorban a komplex akceptor oldalának szerkezeti átalakulására vezethető vissza (MAKSYMIEC és mtsai. 1994). Magas rézkoncentrációjú homokos talajon nőtt spenót fotoszintetikus apparátusát vizsgálva azt tapasztalták, hogy a PSII aktivitása nem változott, a PSI -é viszont némileg növekedett. Ez utóbbi jelenség a fokozott plasztocianin szintézisnek tulajdonítható. A kisérlet alatt a gyökerek növekedése csökkent, a hajtásé szinte semmit sem változott. A kisérleti adatok szerint a lipidek és a pigmentek szintézise némileg intenzívebb volt mint a kontrollban (BASZYNSKI és mtsai. 1982). A réznek a PSII aktivitására gyakorolt gátló hatását kimutatták cianobaktériumon is. A kisérleti adatok arra utalnak, hogy a gátlás helye a Mn^{2+} kötőhelye körül lokalizálható. Ezt bizonyítja az a tény is, hogy a gátló hatás kivédhető volt Mn adagolásával (GUPTA 1988). Az elektrontranszportra gyakorolt gátló hatást vizsgálták például sötétben és fényen inkubált, izolált spenót kloroplasztiszokon. A gátlás foka kisebb volt sötétben és alacsony fényintenzitáson, mint teljes megvilágításnál. Ha a reakciócentrumokat elkülönítve vizsgálták a PSI rezisztensebbnek tűnt, s legérzékenyebbnek a PSII oxidáló oldala bizonyult (CEDENO-MALDONADO és SWADER 1972). SAMUELSSON és mtsai. (1980) szintén izolált spenót kloroplasztisszal dolgozva azt tapasztalták, hogy a réz magas koncentrációban gátolta az elektrontranszport sebességét és aszkorbát jelenlétében a PSI aktivitását. Ez utóbbi hatás lehet annak a következménye, hogy a réz katalizálja az aszkorbát autooxidációját, ezáltal nagy mennyiségű H_2O_2 felhalmozódását eredményezheti. A réznek az elektrontranszportra

gyakorolt fitotoxikus hatását izolált spenót kloroplasztiszon vizsgálva azt tapasztalták, hogy a réz indukálja a membránlipidek peroxidációját, ezáltal előidézi a telítetlen zsírsavak destrukcióját. Ez a hatás a fotoszintetikus membrán dezorganizációját eredményezi (SANDMANN és BÖGER 1980).

CÉLKITŰZÉS

Az irodalmi adatokat áttekintve nyilvánvaló, hogy bár az utóbbi évek során számos kisérletet végeztek a környezetszennyező nehézfémek, ezen belül a kadmiumnak és a réznek a kifejlett növények fotoszintézisére gyakorolt hatásával kapcsolatban, az eredmények azonban gyakorta ellentmondanak egymásnak. Az irodalmi adatok ellentmondásossága jellemző a kadmiumnak a kloroplasztisz biogenezisére gyakorolt hatásával kapcsolatban is. Bár a rézzel kezelt zöld növényekben kimutatták a klorofilltartalom csökkenését és a kloroplasztisz ultrastruktúrájának felbomlását, a plasztisz kialakulásával kapcsolatos irodalmi adatok nagyon korlátozottak.

Ezért munkánk során célul tűztük ki, hogy a kadmium- és a rézszennyezésnek a kloroplasztisz biogenezisére gyakorolt hatásának összehasonlító vizsgálatát azonos növényen, azonos nevelési körülmények között végezzük el. Ennek során a különböző kadmium- és rézkoncentrációval kezelt zöldülő árpa levélben vizsgáltuk a nehézfémek felhalmozódásának mértékét, és ennek kapcsán választ kerestünk arra, hogy a felhalmozott nehézfém hogyan befolyásolja a fotoszintetikus pigmentek szintézisét és akkumulációját, csökkenti-e a plasztiszfehérjék szintézisét, hatással van-e a kloroplasztisz normális szerkezetének kialakulására, valamint a fenti sajátságok megváltozása milyen mértékben befolyásolja a fotoszintetikus funkció kialakulását.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Vizsgált anyag

A kisérleteket kétsoros őszi árpával (Hordeum vulgare L. Triangel, Hollandia) végeztük.

Vetés előtt a magokat 0,3 %-os H_2O_2-dal fertőtlenítettük, majd 12 órán keresztül desztillált vízben duzzasztottuk. Ezt követően autoklávban sterilizált, perlittel kevert földbe vetettük, majd sötét termosztátban, 21°C-on neveltük a csíranövényeket. Az öntözés felére higított Hoagland oldattal történt.

A 7 napos csíranövények levelét a levélnyaknál levágtuk, s főzőpohárba állítva 12 órán keresztül sötétben inkubáltuk 0,01; 0,1 és 1 mM $CdCl_2$, illetve 0,01; 0,1 és 1 mM $CuSO_4$ oldatokban, amelyek 2 cm magasságban lepték el a levél tövét. Kontrollként desztillált vízzel kezelt növényeket használtunk.

Ezt követően ugyanezekben az oldatokban, fénypanel alatt, szobahőmérsékleten 48 órán keresztül folyamatosan megvilágítottuk a növényeket. A megvilágítás intenzitása 120 µmól m^{-2} sec^{-1} volt.

A különböző vizsgálatokhoz a mintavétel a fénykezelés kezdetét követően a 6., 12., 24. és 48. órában történt. A zöldülés kezdeti pontjaként a 12 óráig sötétben inkubált mintát használtuk.

Vizsgálati módszerek

A minták fémtartalmának meghatározása

A fémtartalom meghatározásához az árpa leveleket 105°C-on 36 órán keresztül kiszárítottuk, porrátörtük, majd 2-2 ml 30 %-os H_2O_2-dal és 65 %-os HNO_3-val kezeltük. Ezután a mintákat teflonedényben nagy nyomáson, magas hőmérsékleten roncsoltuk, majd leszűrtük. A méréseket ICAP-61E típusú atomabszorpciós spektrofotométeren végeztük a KÉE Kémiai és Biokémiai Tanszékén Bertényiné Divinyi Zsuzsa segítségével.

A pigmenttartalom meghatározása

A 0,2-1g árpa levelet 6 ml 80 %-os acetonban eldörzsöltük, 4000g-n 5 percig centrifugáltuk, majd az acetonos kivonat abszorpcióját 663 nm, 644 nm és 480 nm hullámhosszokon mértük (ARNON 1949, HORVÁTH és mtsai. 1972). A minták friss súlyra vonatkoztatott pigmenttartalmát a következő képletek alapján számoltuk ki:

klorofill (a+b) µg / g friss súly = $(20{,}2 \times A_{644} + 8{,}02 \times A_{663}) \times V/w$;

karotinoidok µg / g friss súly = $5{,}01 \times A_{480} \times V/w$;

ahol: V = a szövetkivonat térfogata (ml), w = a szövet friss tömege (g), A = az adott hullámhosszon 80 % - os acetonnal szemben mért fényelnyelés.

A felülúszók abszorpció spektrumát 400 - 750 nm között SHIMADZU UV - 160 típusú spektrofotométeren vettük fel.

A kloroplasztisz membránfehérjéinek mennyiségi meghatározása

4 g árpa levelet 5 ml 20 mM tricint (pH 7,8), 400 mM szacharózt, 10 mM NaCl-ot és 5 mM $MgCl_2$-ot tartalmazó pufferben homogenizáltuk, 4 réteg gézen szűrtük, majd a szűrletet 10 percig 6000g-vel centrifugáltuk. A csapadékot az izoláló pufferrel egyszer mostuk és az így kapott üledéket 1 ml izoláló pufferben szuszpendáltuk fel (DROPPA és mtsai. 1990). A fehérjemeghatározáshoz MARKWELL és mtsai. (1981) módszerét használtuk . A 10 µl plasztiszszuszpenziót desztillált vízzel 1 ml-re egészítettük ki, majd hozzámértünk 3 ml reagenst, amelynek összetétele 100 rész 2 % Na_2CO_3, 1 % SDS, 0,4 % NaOH 0,16 % Na-tartarát, és egy rész 4 % $CuSO_4$ volt. A mintákat 10 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk, majd 0,3 ml felére higított Folin-Ciocalteu reagenst adtunk hozzá, és 45 perc elteltével 660 nm-nél mértük az oldatok abszorpcióját. A fehérjék mennyiségét 0,1-1 mg BSA-val készült kalibrációs egyenesről olvastuk le.

Fluoreszcencia emisszió spektrumok felvétele

A levél csúcsának 1 cm-es darabját eltávolítottuk, a következő 2-3 cm-es darabot üveg mintatartóba helyeztük és folyékony nitrogénben lefagyasztottuk. A mérést PERKIN-ELMER MPF-44B típusú alacsony hőmérsékletű, regisztráló spektrofotométeren végeztük, az ELTE Növényélettani Tanszékén. A gerjesztő fény hullámhossza 440 nm volt. A regisztrált spektrumokat az "SPSERV" számítógépes programmal dolgoztuk fel. (A programot Bagyinka Csaba - MTA, SzBK, Biofizikai Intézet - készítette.)

Elektronmikroszkópos felvételek készítése

A megfelelően kezelt és megvilágított levelekből 1 mm^2-es darabokat kimetszettünk és glutáraldehidben 4 órán keresztül fixáltuk, majd 0,15 M foszfát pufferrel (pH 7,2) mostuk. Ezután a mintákat 2 óra hosszat 1 %-os ozmium tetroxid oldatban tartottuk, s ezt újabb pufferes mosás követte. A víztelenítést növekvő koncentrációjú (25 % - 96 %) alkoholos oldattal végeztük. Ezt követte a kétszer 15 perces propilénoxidos kezelés, majd a mintákat 1 órára propilénoxid és durkupán I 1:1 arányú keverékébe áztattuk. Ezután durkupán I oldatban áztak 24 óráig, majd durkupán II-ben 3 óra hosszat. A metszés utáni kontrasztosításnál a metszeteket 4 percig 5 %-os uranilacetáttal és 5 percig ólomnitráttal festettük. A vizsgálatokat HITACHI 7100 típusú készüléken végeztük, az ELTE Növényszervezettani Tanszékén Kristóf Zoltán segítségével.

Fluoreszcencia indukció vizsgálata

A méréseket Plant Efficiency Analyser (PEA) - Hansatech Ltd., King's Lynn, U.K. - típusú készülékkel végeztük. Első lépésben az árpa levelek csúcstól 2 cm távolságra lévő szakaszát a berendezéshez tartozó csipeszek segítségével 20 percig sötétben inkubáltuk. Ezt követően 30 másodpercig 60 %-os fényintenzitású megvilágítást alkalmaztunk. A fényerősség 1800 µmól m^{-2} s^{-1} volt. A gerjesztő fény hullámhossza 650 nm volt, a fluoreszcenciát 695 nm-nél regisztráltuk. Az indukciós görbéket a PEA Data Transfer (P02.002) nevű számítógépes programmal elemeztük.

KISÉRLETI EREDMÉNYEK

A fémtartalom változása zöldülő árpa levelekben

Vizsgálataink során elsőként arra kerestünk választ, miként változik a két fém koncentrációja a kezelt levelekben.

I. táblázat *A kadmiumtartalom változása (µg kadmium/g friss súly) zöldülő árpa levelekben az idő és a külső oldat koncentrációjának függvényében*

Megvilágítási idő (h)	Kontroll	0,01 mM	0,1 mM	1,0 mM
0	0,77 ± *0,46*	5,60 ± *4,51*	22,35 ± *14,43*	150,00 ± *34,50*
6	0,91 ± *0,18*	6,97 ± *3,42*	30,22 ± *11,29*	161,89 ± *4,94*
12	1,05 ± *0,19*	15,72 ± *8,77*	43,86 ± *11,39*	413,20 ± *55,00*
24	1,21 ± *0,16*	17,81 ± *4,49*	97,80 ± *13,27*	723,00 ± *152,00*
48	1,99 ± *0,46*	31,90 ± *1,74*	200,23 ± *25,73*	1392,10 ± *345,00*

Az I. táblázat adataiból kitűnik, hogy a sötétben 12 óra hosszat kadmiummal kezelt árpalevélnél is jelentős különbség mutatkozik a kontroll és az egyes kezelési koncentrációk között, tehát a fém felvételét elsősorban a külső oldat töménysége

határozza meg. A zöldülés első hat órájában a kadmiumtartalom a kiindulási állapothoz képest csak kismértékben növekszik. További megvilágítás hatására a kadmium felvétele jelentősen megnő, ami arra utal, hogy a kadmium akkumulációja nem csupán a külső oldat koncentrációjától függ, hanem a kezelés idejével is arányos. A zöldülés 48. órájában a két legnagyobb koncentrációnál már egy nagyságrenddel nagyobbak a mért értékek a kezdeti állapothoz képest.

II. táblázat *A réztartalom (µg réz/g friss súly) változása zöldülő árpa levelekben az idő és a külső oldat koncentrációjának függvényében*

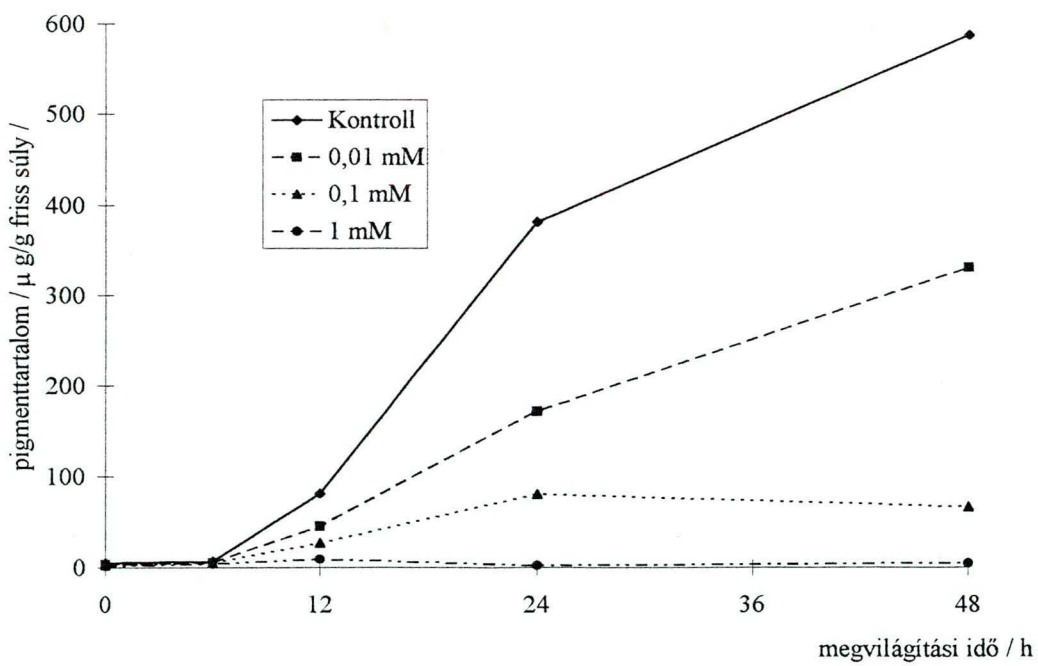
Megvilágítási idő (h)	Kontroll	0,01 mM	0,1 mM	1,0 mM
0	2,33 ± *1,23*	5,66 ± *3,00*	31,70 ± *20,52*	109,46 ± *73,61*
6	3,78 ± *3,54*	4,87 ± *3,57*	29,55 ± *24,70*	111,65 ± *71,56*
12	2,96 ± *1,78*	9,00 ± *5,95*	43,07 ± *24,10*	188,00 ± *96,92*
24	2,73 ± *1,64*	10,10 ± *5,25*	57,18 ± *21,34*	339,65 ± *168,70*
48	5,44 ± *1,29*	18,36 ± *1,89*	102,49 ± *27,41*	762,41 ± *8,40*

A kadmiumhoz hasonló tendenciák érvényesülése figyelhető meg a réz esetében is (II. táblázat). A sötétben történt inkubáció után a külső oldat koncentrációjának függvényében növekszik a levelek réztartalma, és a legnagyobb koncentrációval kezelt levélben ez az érték közel ötvenszeres a kontrollhoz képest. A megvilágítás

első 6 órájában itt sem növekszik jelentősen a fémtartalom. A további megvilágítás hatására bekövetkező réztartalom változás arra utal, hogy a levelek réz akkumulációja is koncentráció- és időfüggő folyamat. Ha összehasonlítjuk a legnagyobb koncentrációval kezelt levelekben a két fém felhalmozódását, jól látható, hogy a réz akkumulációja kisebb mértékű, mint az a kadmium esetében megfigyelhető volt.

A különböző koncentrációjú $CdCl_2$ és $CuSO_4$ oldattal kezelt etiolált árpa pigmentartalmának változása a megvilágítás hatására

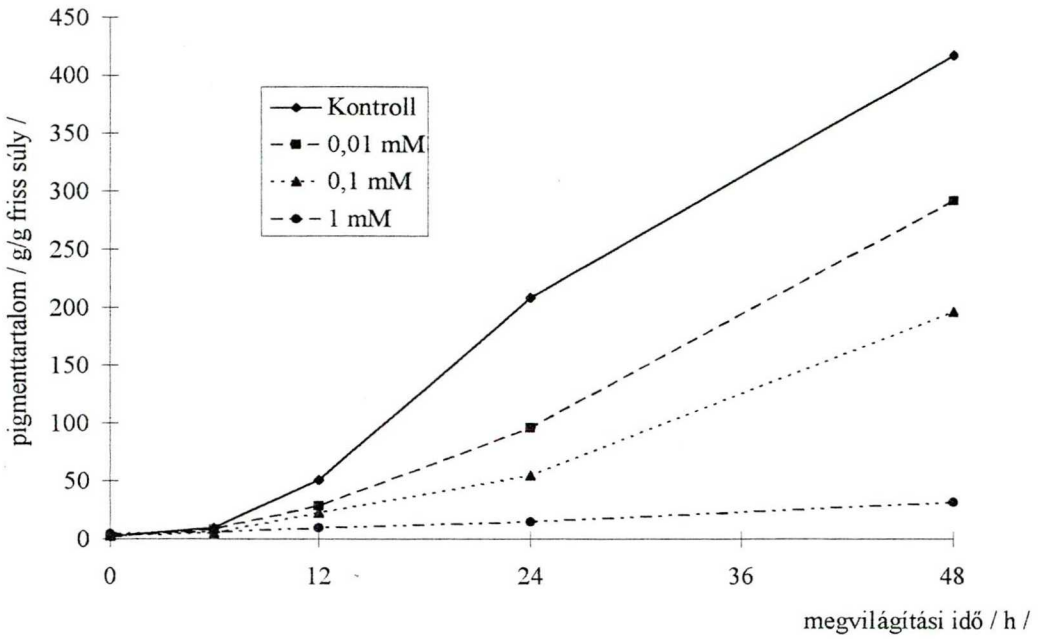
Mindkét fémnél megfigyelhető, hogy a növekvő koncentráció a megvilágítás hatására bekövetkező pigmentfelhalmozást csökkenti.



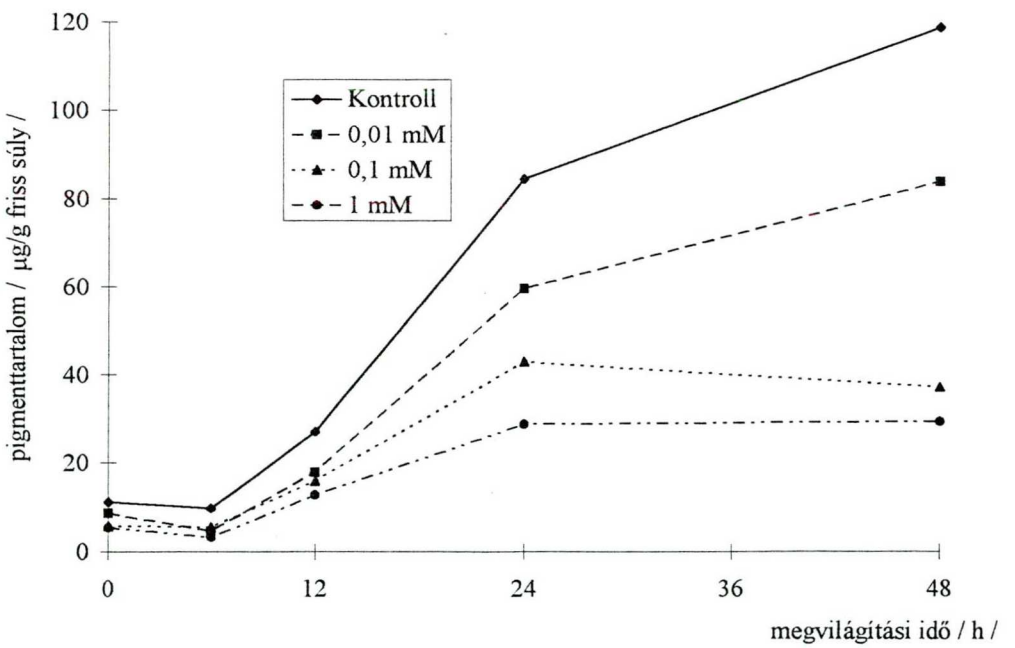
1. ábra *Kadmiummal kezelt etiolált árpa klorofilltartalmának változása a zöldülés során*

A kontroll levelekben a klorofill intenzív felhalmozódása csak egy kb. 6 órás lag periódus után indul meg, s ez a folyamat még az 1 mM kadmiumkezelés esetében is megkezdődik (1. ábra). A zöldülés 12. órájáig minden minta esetében megfigyelhetünk bizonyos mértékű akkumulációt, amelynek nagyságát a külső oldat koncentrációja határozza meg. A továbbiakban a kontroll és a két kisebb kadmium-koncentráció esetében folytatódik a pigmenttartalom növekedése, bár a felhalmozás mértéke erősen függ az alkalmazott kadmium koncentrációtól. A 1. ábrán jól látható viszont, hogy az 1 mM kadmiummal kezelt minta esetében a korábban kialakult kis mennyiségű klorofill is elbomlik. A 48 óra hosszat megvilágított levelek klorofilltartalma erősen függ az inkubáló oldat kadmiumtartalmától. Már a legkisebb koncentráció is 40 %-os, a 0,1 mM kezelés közel 90 %-os gátlást eredményez. Az 1 mM kadmiumkezelés pedig teljes mértékben gátolja a klorofill felhalmozódását. Az 1. ábrán a görbék elhajlásából arra lehet következtetni, hogy 48 óra után a klorofill akkumulációjában telítődés alakul ki.

A rézkezelés hatására a klorofill akkumulációban az első 12 órában hasonló változásokat figyelhetünk meg mint a kadmiummal végzett méréseknél (2. ábra). A kontroll és a két kisebb rézkoncentráció esetében a pigmenttartalom növekedésének menete a megvilágítás további szakaszában is hasonlít ahhoz, amit a kadmiumnál megfigyeltünk. Azonban a gátlás mértéke itt kisebb: a 0,01 mM 25 %-kal, a 0,1 mM réz pedig csak 50 %-kal csökkentette a pigmentfelhalmozást. A kadmiummal összehasonlítva jelentős különbség tapasztalható a legnagyobb koncentráció esetében, hiszen a réznél még 1 mM kezelésnél is megfigyelhető egyértelmű pigmenttartalom növekedés.

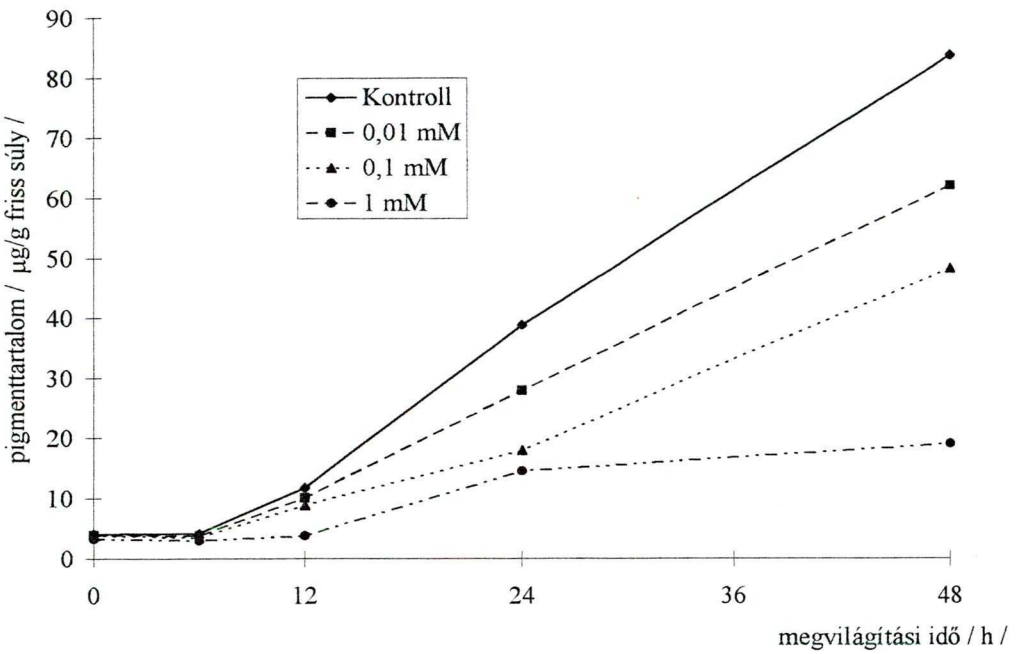


2. ábra *Rézzel kezelt etiolált árpa klorofilltartalmának változása a zöldülés során*



3. ábra *Kadmiummal kezelt etiolált árpa karotintartalmának változása a zöldülés során*

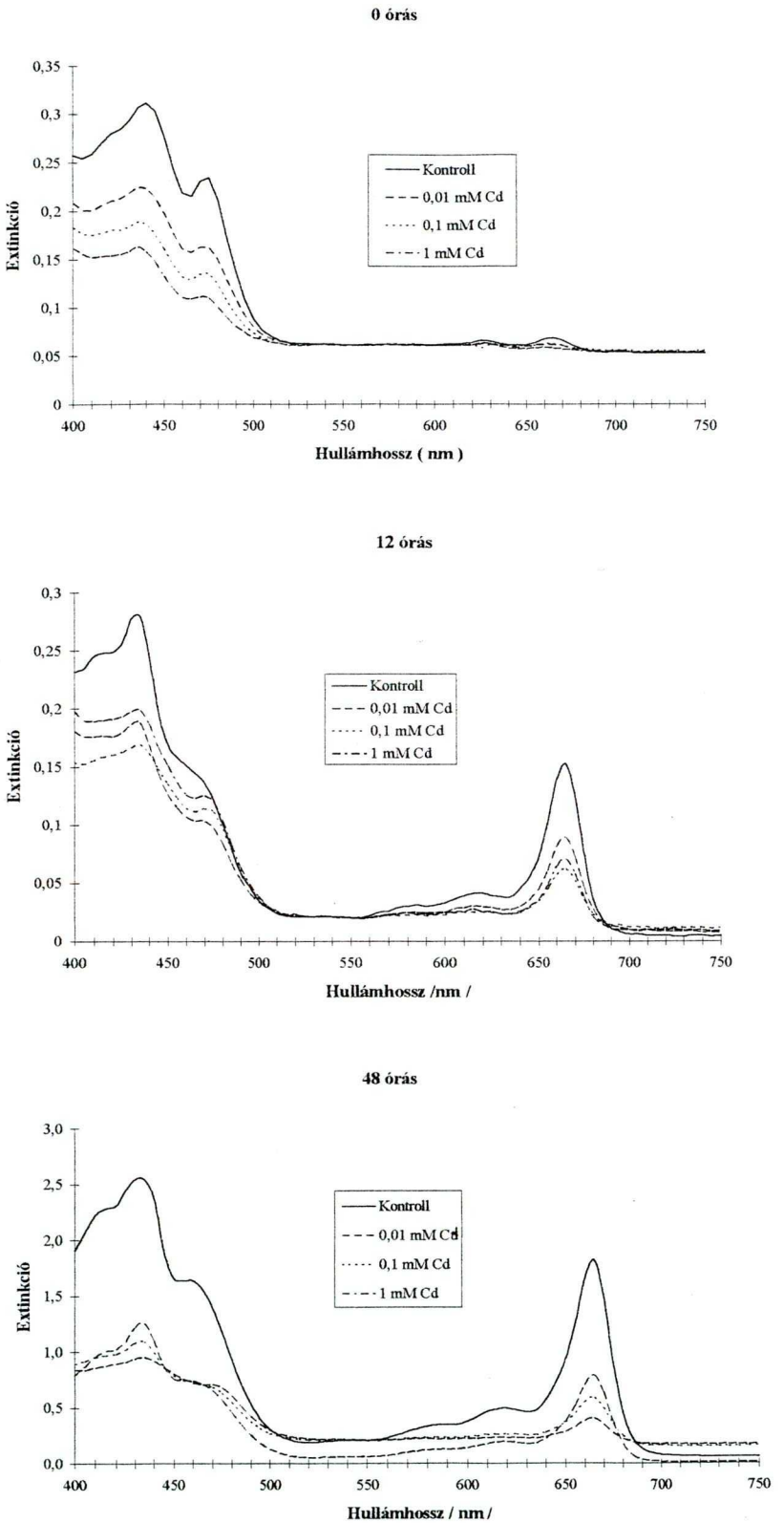
A 3. ábrán jól látszik, hogy a zöldülés során a karotinoidok felhalmozódása is csak a lag periódus után indul meg. Az akkumuláció mértéke ebben az esetben is függ a kadmium koncentrációjától, de a kezelés hatására kialakult gátlás sokkal kisebb mértékű mint az a klorofillnál megfigyelhető volt. 48 órás megvilágítás után még az 1 mM kadmiummal kezelt levelekben is 30 µg/g friss súly a karotinoidtartalom, ami negyede a kontrollban mért értéknek.



4. ábra *Rézzel kezelt etiolált árpa karotintartalmának változása a zöldülés során*

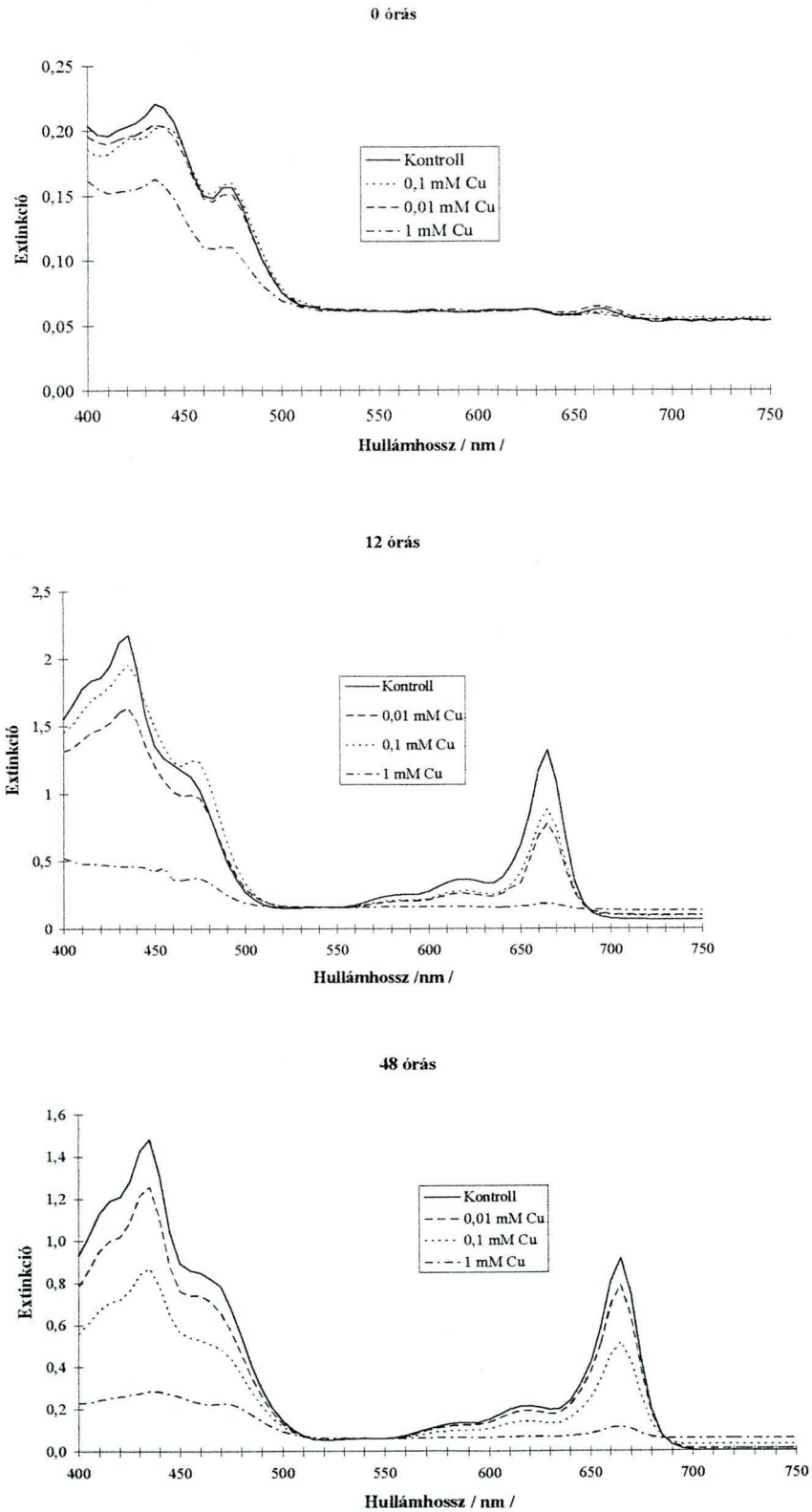
A rézkezelés hatására is koncentrációtól függően változik a karotinoidtartalom (4.ábra). Az 1 mM rézzel kezelt levelek karotinoidtartalma negyede a kontrolban mért értékeknek.

A fenti adatokból tehát levonható az a következtetés, hogy mindkét fém koncentrációtól függően csökkenti a pigmentek felhalmozódását, és a gátlás mértéke a klorofillok esetében sokkal kifejezetteb, mint az a karotinoidoknál tapasztalható volt.



5. ábra *Kadmiummal kezelt etiolált árpa abszorpciós spektrumainak változása a zöldülés során*

Az 5. ábrán jól látható, hogy a kontroll növényekben a klorofill vörös elnyelése már 12 óránál jellegzetes 663 nm-es sávként jelenik meg, és a 48 órás megvilágítás során az abszorpciós spektrum vörös és kék maximumánál egyaránt intenzív a növekedés, ami a klorofill és a karotinoidok szintézisével hozható kapcsolatba. A kadmium-kezelés hatására kialakult abszorpciós spektrumoknak a kontrolltól való eltéréseire a már korábban megmért, koncentrációtól függő pigmenttartalom csökkenés ad magyarázatot (v.ö. 2-4. ábra). Ez az oka annak, hogy a klorofillokra jellemző vörös maximum korlátozottan nő kadmiumkezelés hatására. A karotinoidokra jellemző kék tartományban is koncentrációtól függően csökkennek a maximumok értékei a kontrollhoz képest, de itt a csökkenés kisebb mértékű, mint azt a vörös tartományban tapasztaltuk: az 1mM kadmiumra jellemző érték negyede a kontrollénak. Ez is alátámasztja a pigmentek akkumulációjának vizsgálatakor korábban kapott adatainkat. Mint az a 6. ábrán látható, a különböző koncentrációjú rézzel kezelt zöldülő mintákról felvett abszorpciós spektrumok a kadmium jelenlétében mért spektrumokhoz hasonló tendenciákat mutatnak. A koncentrációtól függő változás már a zöldülés 12. órájában is megfigyelhető, bár a kontrolltól való eltérés itt még csak a legnyagyobb koncentrációnál jelentős. 48 óra megvilágítás után a vörös és a kék tartományban is a réz mennyiségével arányosan csökkennek az abszorpciós maximumok. A karotinoidokra jellemző csúcs 0,01 mM-nál 86 %, 0,1 mM-nál 56%, 1mM esetében pedig csupán 16 % a kontrollhoz képest. A vörös tartományban is hasonló arányokat kapunk: a 0,01 mM-ra jellemző abszorpciós maximum 88 %, 0,1 mM-nál ez 55 %, 1mM esetében pedig 11 % a kontroll értékéhez képest.

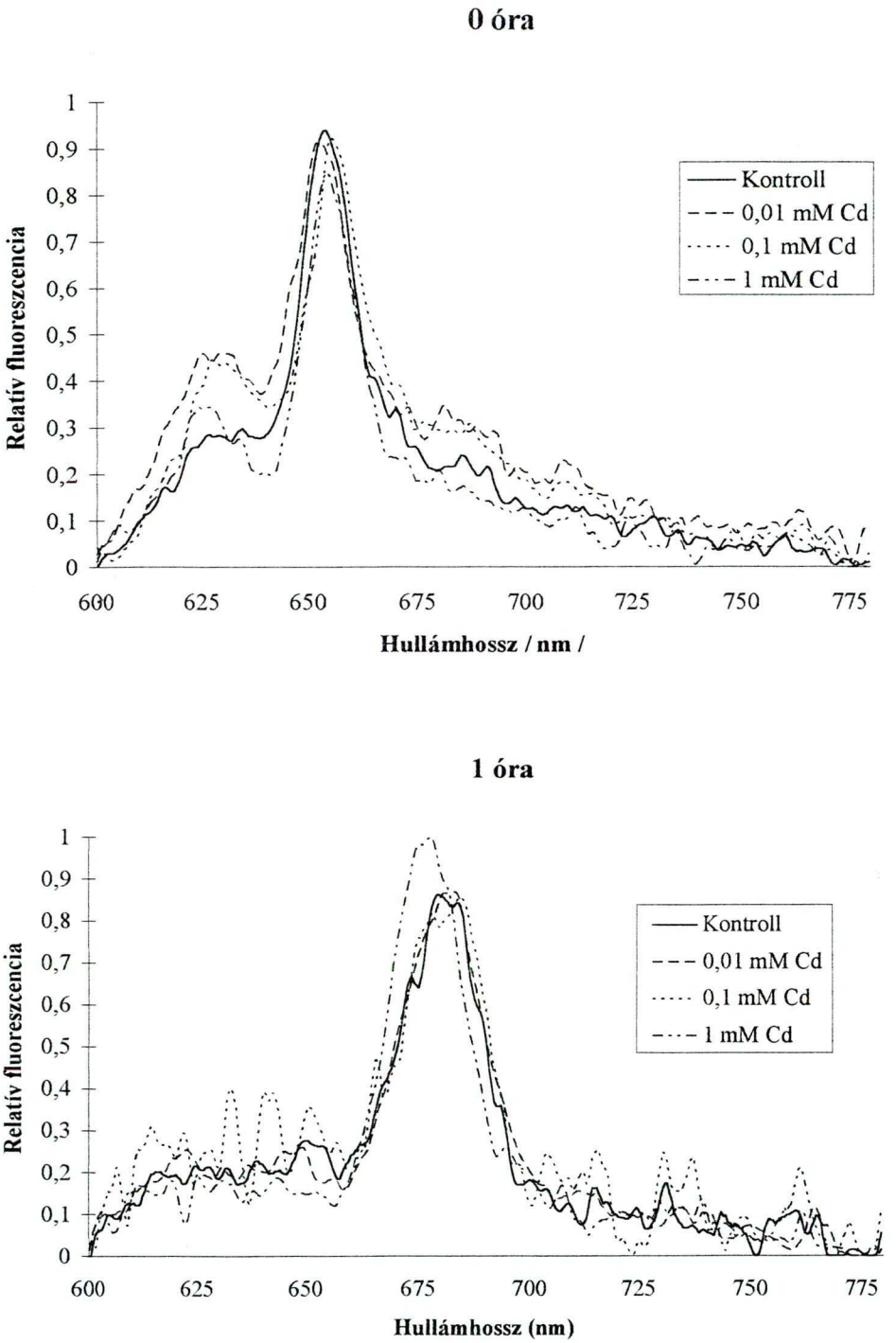


6. ábra *Rézzel kezelt etiolált árpa abszorpciós spektrumainak változása a zöldülés során*

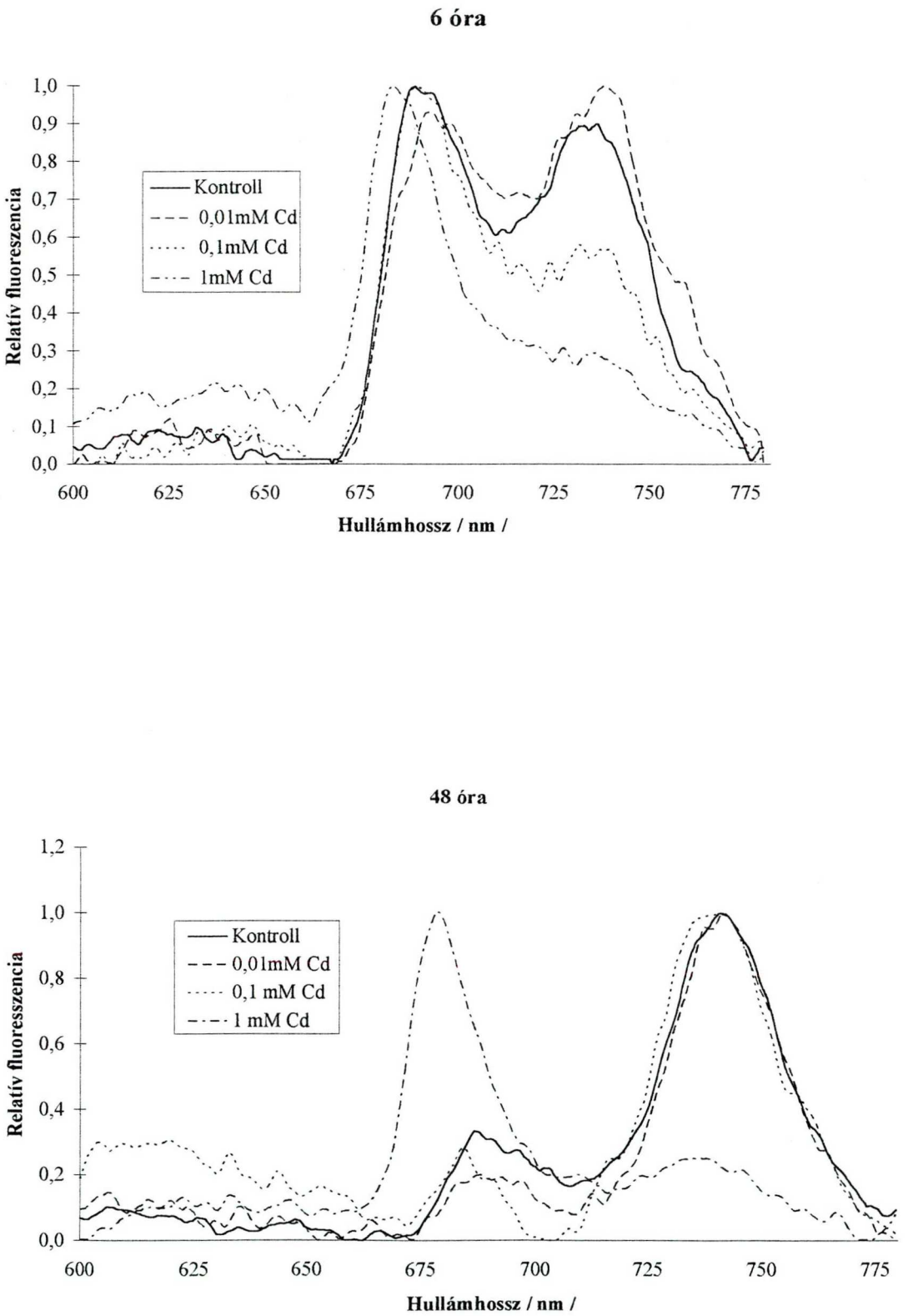
Az etiolált árpa alacsony hőmérsékletű fluoreszcencia emisszió spektrumának változása megvilágítás hatására $CdCl_2$-dal és $CuSO_4$-tal kezelt levelekben.

Ez a mérési módszer - amely a fotoszintetikus pigmentek fototranszformációjáról és a közöttük lévő kapcsolat kialakulásáról szolgáltat információkat - pontosabb és részletesebb adatokat nyújt mint a szobahőmérsékletű abszorpciós spektrumok. Ennek oka, hogy az egyes klorofillformák emissziós sávjai közötti távolság nagyobb, továbbá az alacsony hőmérséklet nagyobb felbontást, tehát nagyobb érzékenységet eredményez.

A kontroll és a kadmiummal kezelt levelekről a zöldülés kezdetekor felvett emissziós spektrumokon jól látszik (7. ábra), hogy minden mintában megtalálható a 630 és 650 nm-es protoklorofillid forma, ezek kialakulása nem gátlódott a 12 órás, sötétben történt inkubáció alatt. 1 óra megvilágítás után mindegyik levélben lezajlott a fototranszformáció, a képződött klorofillid abszorpciós maximuma 685 nm-nél jelentkezik a kontroll és az alacsonyabb kadmium koncentrációjú kezelés esetében. Viszont a legnagyobb, 1 mM kadmium koncentrációval kezelt minta maximuma rövidebb hullámhossznál, 677 nm-nél alakul ki. Ez arra utal, hogy itt a klorofillid molekulák nem tudnak komplexbe épülni, így "szabad" vagy lazán kötött formában lehetnek jelen (RASKIN 1981).



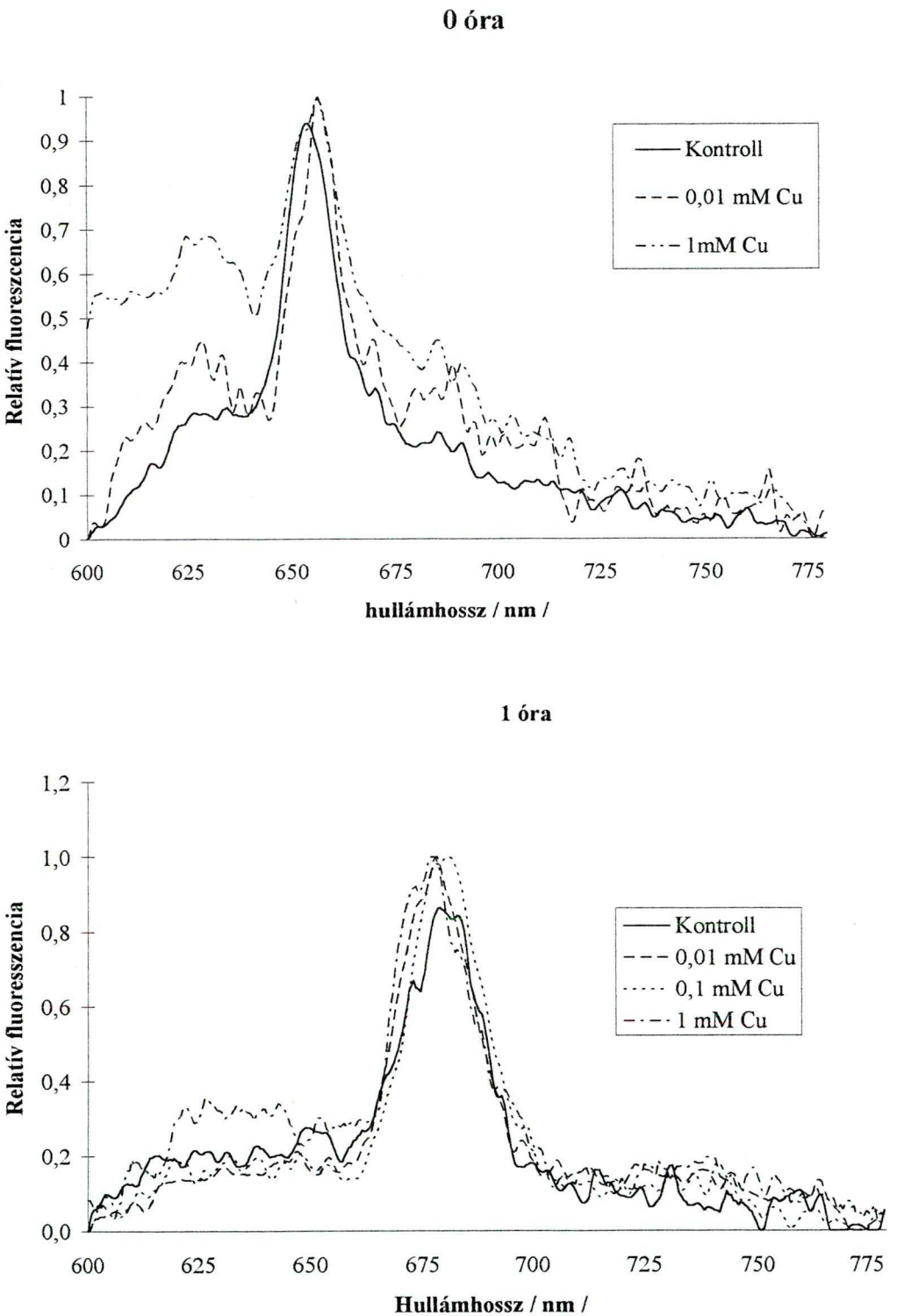
7. ábra *Kadmiummal kezelt etiolált árpa fluoreszcencia emisszió spektrumának változása a zöldülés kezdetén*



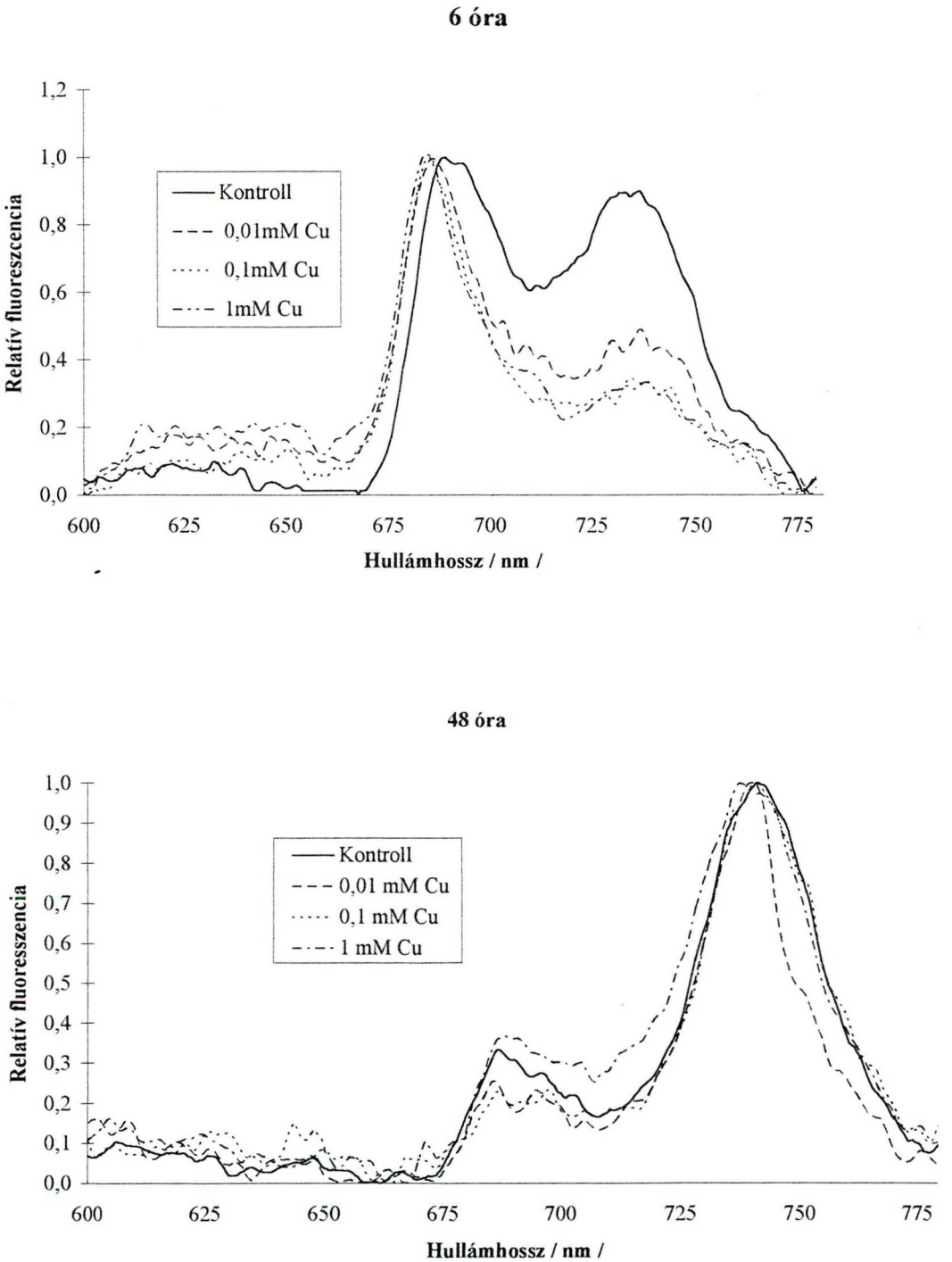
8. ábra *Kadmiummal kezelt etiolált árpa fluoreszcencia emisszió spektrumának változása a zöldülés későbbi szakaszában*

A 6 órán keresztül megvilágított kontroll és a két kisebb kadmiumkoncentrációval kezelt levelekben (8. ábra) már megjelenik a 730 nm-es forma is. Mennyisége a kontrollban és 0,01 mM kadmiumnál közel azonos a 685 nm hullámhosszú formával, 0,1 mM kadmium esetében viszont a 730/685 nm-es arány csak 0,5. Az 1 mM kadmiummal kezelt levelekben a 730 nm-es hullámhosszú forma alig jelenik meg, és a rövid hullámhossznál kialakult maximum is a kék felé tolódik. 48 óra megvilágítás után a 730/685 nm-es arány a kontroll esetében 4:1, s ettől a két kisebb kadmium-koncentrációval kezelt mintákról felvett spektrumok sem térnek el jelentősen.Az 1 mM $CdCl_2$ koncentrációjú kezelés hatására a hosszú hullámhosszú formák jóformán teljesen hiányoznak, a spektrum maximuma 680 nm-nél rövidebb hullámhossznál figyelhető meg. A 0,1 mM kadmiummal kezelt mintákban a rövid hullámhosszú maximum ugyancsak a 680 nm-nél alacsonyabb hullámhosszra tolódott (8. ábra).

A sötétben 12 óráig rézben inkubált levelekről felvett emissziós spektrumokon minden koncentrációnál megfigyelhető a 630 és 650 nm-es protoklorofillid formákra jellemző maximum, tehát kialakulásuk ebben az esetben sem gátlódott, bár arányuk a réz koncentrációjától függően változott (9. ábra). 1 óra megvilágítás után a kontrollban és minden kezelt mintában lezajlott a teljes fototranszformáció, és a kadmiummal ellentétben a magasabb rézkoncentrációval kezelt minták emissziós spektrum maximuma közelebb van a kontroll maximumához mint az az 1 mM kadmium koncentrációnál megfigyelhető volt (9. ábra).



9. ábra *Rézzel kezelt etiolált árpa fluoreszcencia emisszió spektrumának változása a zöldülés kezdetén*



10. ábra R*ézzel kezelt etiolált árpa fluoreszcencia emisszió spektrumának változása a zöldülés későbbi szakaszában*

A kontrollnál a 6. órában a hosszú és a rövid hullámhosszú formák maximuma közel azonos, a különböző rézkoncentrációval kezelt mintáknál viszont ez az arány 0,5. Ugyanakkor a rövid hullámhosszú emissziós csúcs minden rézzel kezelt spektrumnál a kontrollhoz képest rövidebb hullámhossznál figyelhető meg (10. ábra) A hosszú hullámmhosszú forma kialakulását gátló hatás minden rézkoncentrációnál szinte azonos mértékű. 48 óra után azonban a spektrumok nagyjából fedik egymást, ami arra utal, hogy a klorofill bizonyos idejű késleltetés után a rézzel kezelt mintákban is beépülhetett normális működésre alkalmas, stabil komplexekbe.

A különböző koncentrációjú $CdCl_2$ és $CuSO_4$ oldattal kezelt etiolált árpa plasztiszfehérje tartalmának változása megvilágítás hatására

Ezzel a vizsgálattal arra a kérdésre kerestünk választ, hogy a kadmium és a réz milyen mértékben gátolja a plasztisz fehérjéinek szintézisét, s ezáltal hogyan befolyásolja a fotoszintetikus apparátus normális szerkezetének kialakulását.

A III. táblázat adataiból látható, hogy a megvilágítási idő előrehaladtával a fehérjetartalom mind a kontroll mind a kadmiummal kezelt mintákban fokozatosan nő, ami arra utal, hogy a kontroll mintákban intenzív fehérjeszintézis indul meg, és a fehérjetartalom 48 óra alatt kb. háromszorosára nő.. Ez a mennyiségi növekedés a 0,01 és 0,1 mM kadmiumnál kb. két és félszeres, 1 mM esetében pedig kb. kétszeres. Tehát még a legnagyobb kadmium koncentrációnál is csak 35 %-os gátlást tapasztalunk a fehérjefelhalmozásban, ami messze kisebb mértékű mint az a klorofillfelhalmozás esetében tapasztalható volt.

III. táblázat *A fehérjetartalom (mg fehérje/g friss súly) változása kadmiummal kezelt zöldülő árpa levelekben az idő és a külső oldat koncentrációjának függvényében*

Megvilágítási idő (h)	Kontroll	0,01 mM	0,1 mM	1,0 mM
0	3,98 ± *1,00*	5,00 ± *2,87*	4,46 ± *2,49*	5,85 ± *0,06*
6	5,70 ± *1,82*	5,62 ± *1,76*	4,88 ± *1,11*	3,89 ± *2,60*
12	8,00 ± *2,00*	5,10 ± *0,89*	5,20 ± *1,00*	5,33 ± *1,71*
24	9,52 ± *3,22*	8,10 ± *1,53*	7,41 ± *2,95*	8,00 ± *0,88*
48	13,10 ± *2,70*	10,50 ± *1,81*	9,00 ± *1,83*	8,29 ± *1,11*

IV. táblázat *A fehérjetartalom (mg fehérje/g friss súly) változása rézzel kezelt zöldülő árpa levelekben az idő és a külső oldat koncentrációjának függvényében*

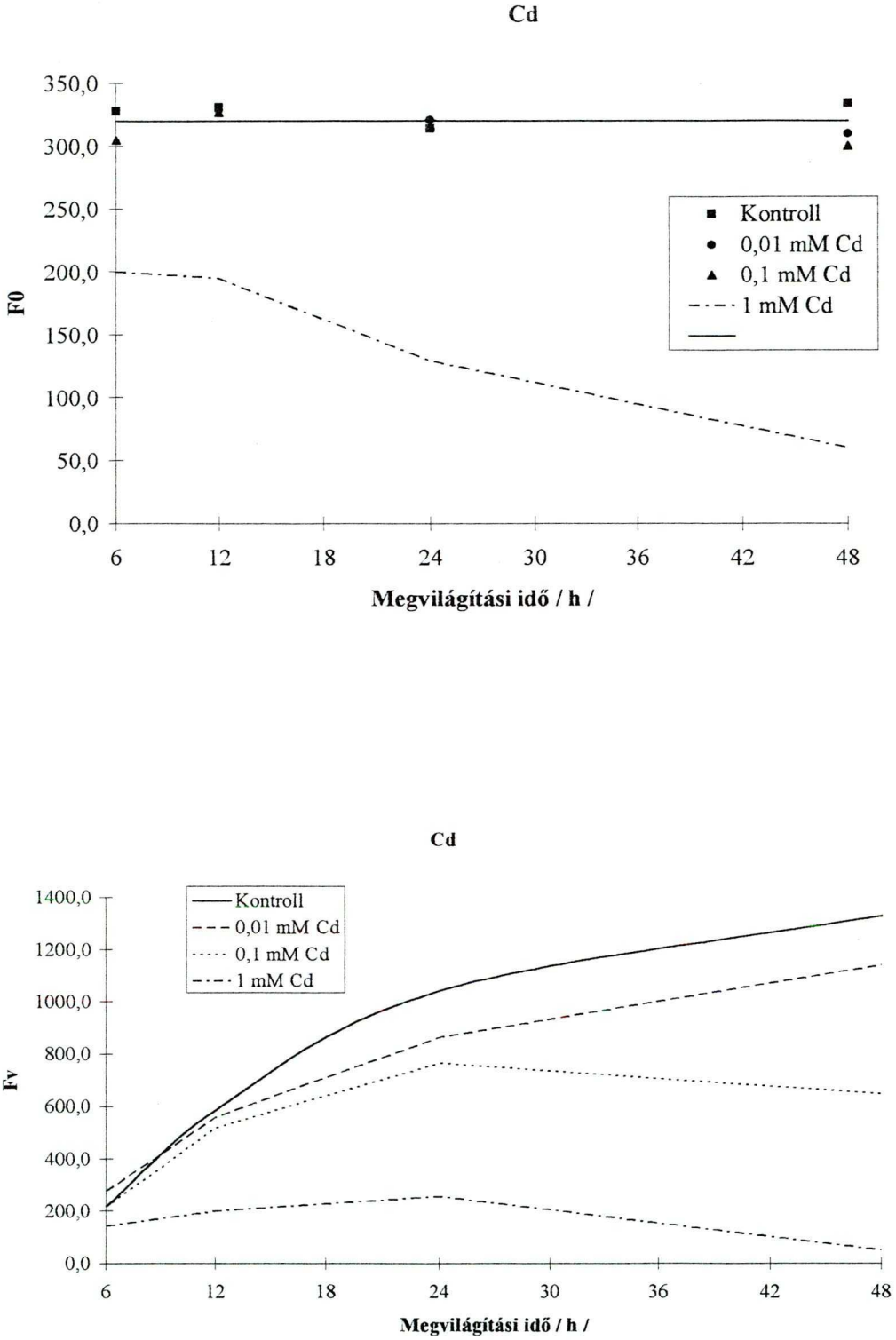
Megvilágítási idő (h)	Kontroll	0,01 mM	0,1 mM	1,0 mM
0	3,98 ± *1,00*	8,60 ± *0,61*	7,64 ± *3,72*	6,18 ± *11,29*
6	5,70 ± *1,82*	4,39 ± *2,39*	4,42 ± *1,17*	4,63 ± *2,98*
12	8,00 ± *2,00*	9,25 ± *3,20*	6,50 ± *0,78*	5,56 ± *0,73*
24	9,52 ± *3,22*	7,22 ± *1,70*	7,85 ± *2,63*	9,55 ± *2,11*
48	13,10 ± *2,70*	13,53 ± *2,12*	10,33 ± *2,28*	8,99 ± *1,75*

Mint az a IV. táblázat adataiból is kitűnik, fehérjetartalomban hasonló változásokat tapasztalhatunk a rézzel kezelt minták esetében is. A megvilágítás hatására mind a kontroll mind a rézzel kezelt növényeknél megindul a fehérjefelhalmozás, amely a zöldülés 6. órája után válik intenzívvé. 48 órás megvilágítás után a rézkoncentráció függvényében kismértékű csökkenés figyelhető meg a fehérjetartalomban a 0,1 mM vagy annál magasabb rézkoncentrációk esetében, de a legnyagyobb koncentráció is csupán 30 %-os gátlást eredményez a fehérjeszintézisben. A fenti két táblázat adataiból tehát világosan látható, hogy mindkét fémnek a fehérjefelhalmozásra gyakorolt gátlásának a mértéke messze elmarad a klorofillfelhalmozásra kifejtett gátló hatásához képest.

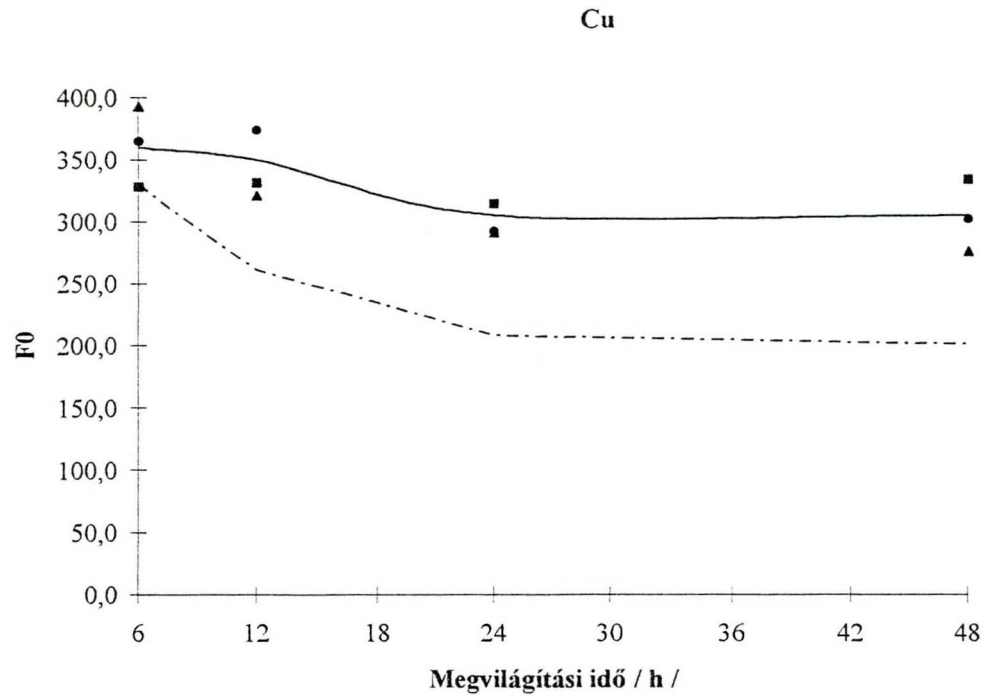
A kadmium és a réz hatása a zöldülő árpa levelek fluoreszcencia indukció sajátságaira

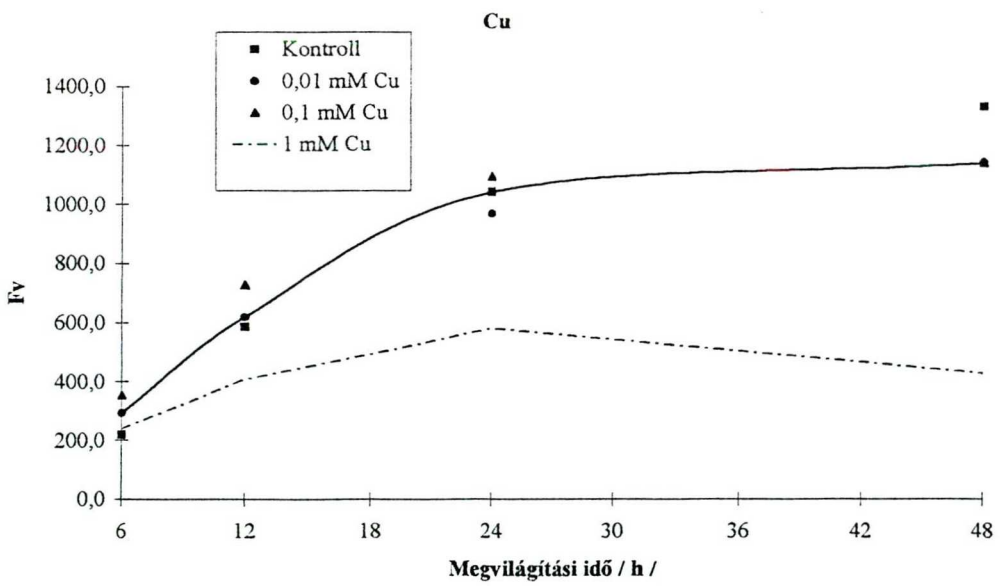
A fluoreszcencia indukció vizsgálatokkal arra kerestünk választ, hohgy miként módosul az etiolált árpa levél fotoszintetikus funkciója a zöldülés során, illetve hogy ezt a folyamatot hogyan befolyásolja a nehézfémszennyezés. A méréseket a megvilágítás 6. órájától kezdve végeztük, mivel a zöldülésre általában jellemző nagy szórásértékek miatt a korábbi időpontok eredményei nagyon nehezen voltak értékelhetők.

Az 11. ábrán látható, hogy a kontroll és a két kisebb koncentrációjú kadmiummal kezelt levelekben az "alap" fluoreszcencia intenzitásának szintje (Fo) a megvilágítás 6. órájától a zöldülés 48. órájáig közel azonos, és értéke a zöldülés során nem változik. Ezzel szemben az 1mM kadmiummal kezelt levelek Fo értéke már a 6. órában is lényegesen alacsonyabb mint a kontrollé, s a zöldülés során tovább csökken: a megvilágítás 48. órájában a kontrollnak csupán a hatoda. A változó fluoreszcencia (Fv) értéke a 6. órában a kontrollban és a két kisebb kadmium koncentráció esetében közel azonos, s a megvilágítás során a kontroll és a 0,01 mM kadmiummal kezelt növényekben folyamatosan nő. A 48. órában kb. öt-hétszerese a kiindulási értéknek. A növekedési folyamatot a 0,1 mM kadmium koncentrációnál is megfigyelhetjük a zöldülés 24. órájáig. Ezután viszont az Fo értéke jelentősen csökken, a megvilágítás végén a kontrollnak csupán 50 %-a. 1 mM kadmium esetében az Fv értéke már a kiindulásnál is valamivel alacsonyabb mint a többi mintában, s bár a 24. óráig itt is látható egy nagyon kismértékű növekedés, a zöldülés végére az Fv értéke gyakorlatilag nullára csökken.



11. ábra *Kadmiummal kezelt árpa levél Fv és F_0 értékeinek változása zöldülés során*

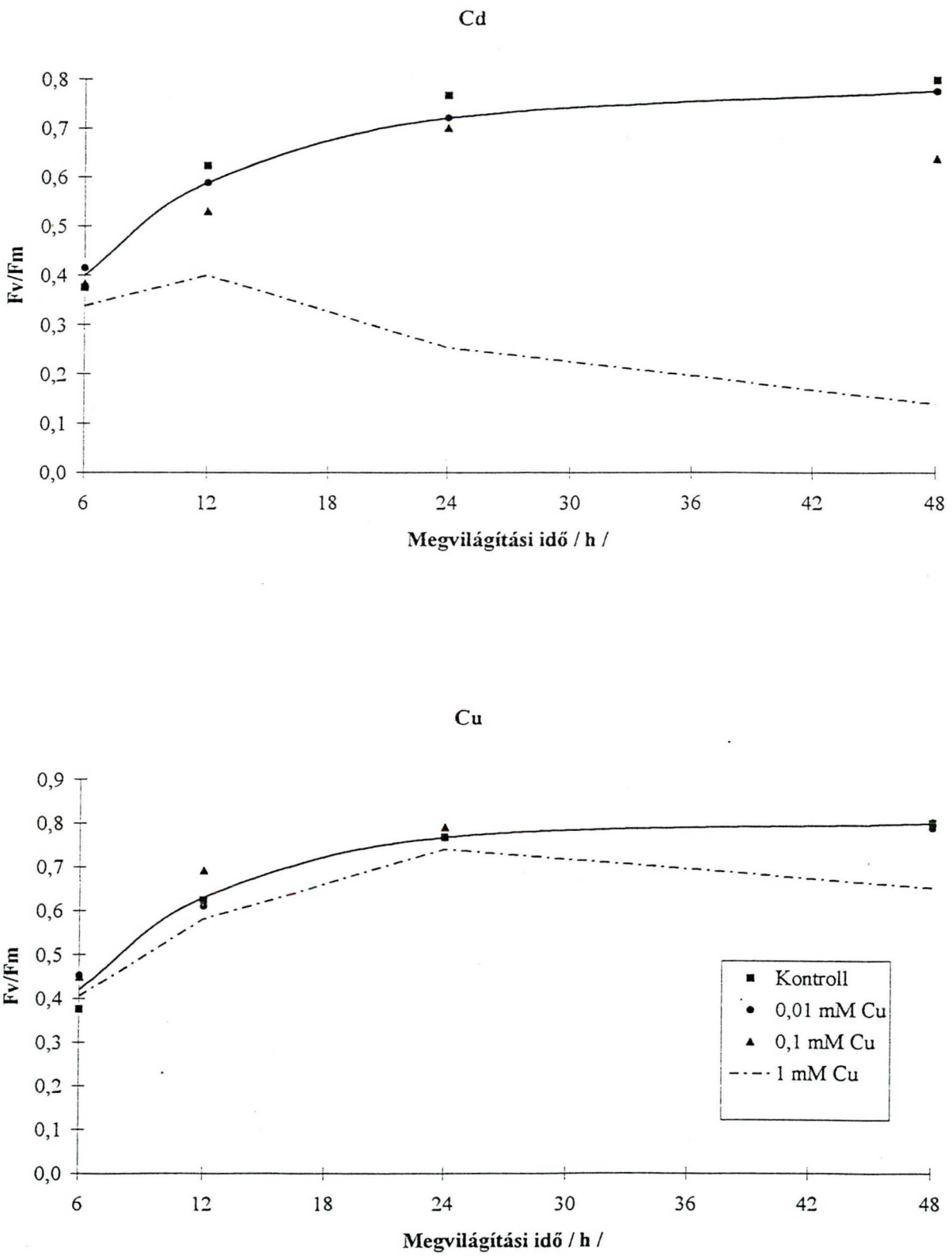




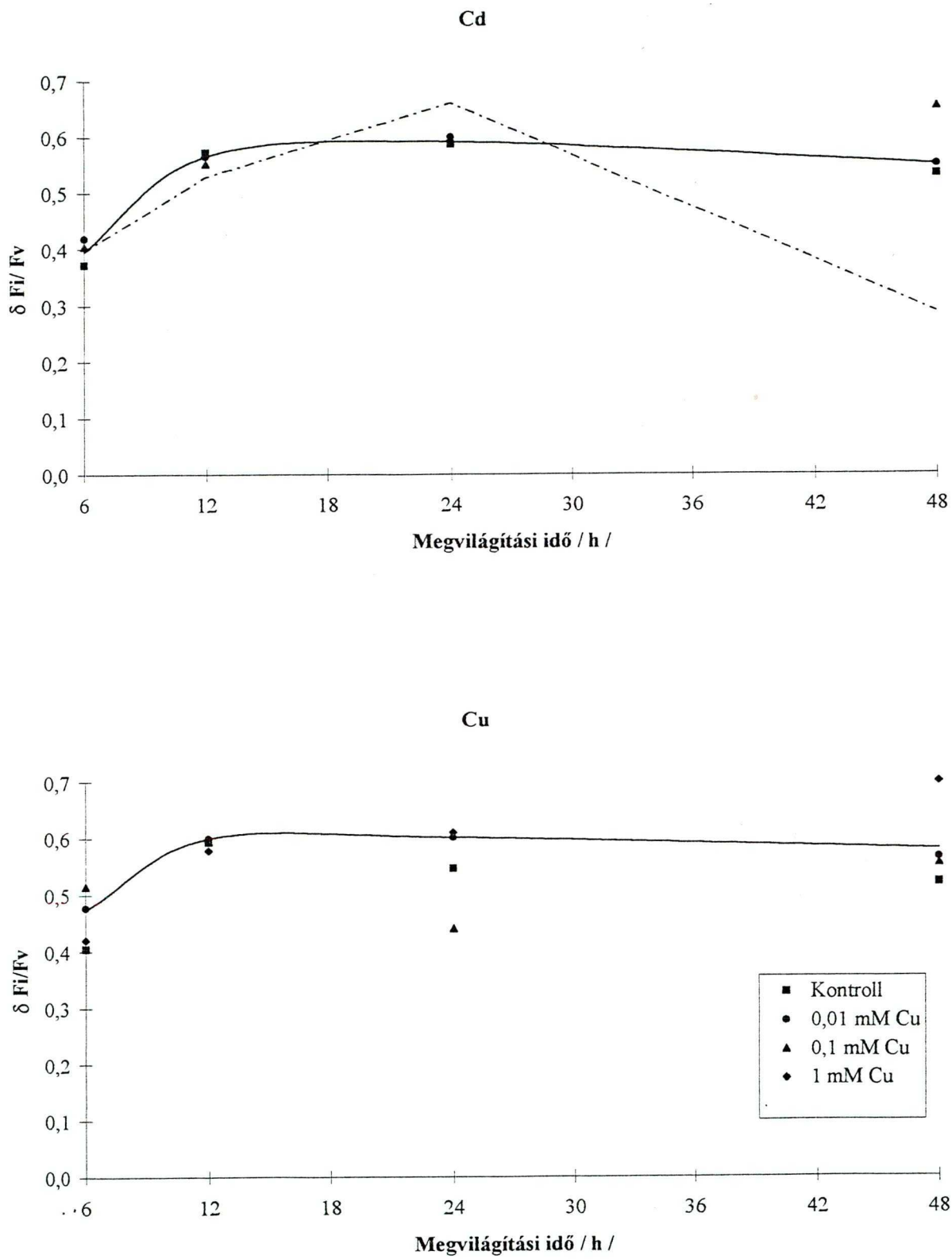
12. ábra *Rézzel kezelt árpa levél Fv és F_0 értékeinek változása a zöldülés során*

A 12. ábrán az Fo érték a megvilágítás 6. órájában szóráson belül közel azonos a kontroll és mindhárom rézkoncentráció esetében. A kontroll és a két kisebb réz koncentráció esetében az Fo értéke bár kismértékű csökkenést mutat, ennek mértéke a zöldülés során nem volt szignifikáns.. Az 1 mM kadmiumkezelésnél viszont az Fo értéke a megvilágítás 24. órájáig egyértelműen csökken, s bár ezután szintje már nem változik, a 48. órában a kontrollnak mindössze kétharmada. Az Fv a kontroll, valamint a 0,01 mM és a 0,1 mM rézkoncentráció esetében a megvilágítás egész ideje alatt intenzív növekedést mutat. Ettől eltér az 1 mM rézzel kezelt minta, amelynek Fv értéke a megvilágítás 24. órájáig enyhe, a többinél jóval kisebb mértékű növekedést mutat, ezután viszont egyértelműen csökken. A 48. órában értéke közel 30 %-a a kontrollnak, tehát a réz tendenciájában ugyanolyan, csak kisebb mértékű gátlást fejt ki mint a kadmium.

Az Fv/Fm hányados az elektrontranszportlánc állapotáról, működéséről ad felvilágosítást. Optimális esetben, fejlett zöld növényeknél értéke 0,80-0,83 között változik. A 3. ábrán látható, hogy a kontroll, a 0,01 mM kadmium, valamint a 0,01 mM és 0,1 mM réz koncentráció esetében a zöldülés 6. órájában az Fv/Fm hányados értéke mindössze 0,4 körüli, de a zöldülés előrehaladtával intenzív növekedést mutat. A megvilágítás 24. órájában ezeknél a mintáknál telítési értéket ér el, ami kb. 0,8, tehát megfelel a zöld növényekre jellemző Fv/Fm hányadosnak. A legnagyobb koncentrációjú rézkezelés hatására kialakult növekedés mértéke a 24. óráig megegyezik az előbb említett mintákéval, ezután viszont a hányados értéke a kontrollhoz képest 20 %-kal csökken. Az 1mM kadmiummal kezelt levelekben az Fv/Fm hányados csak a megvilágítás 12. órájáig növekszik, a későbbiekben erőteljesen csökken. Értéke a zöldülés végén a kontrollnak mindössze ötöde.



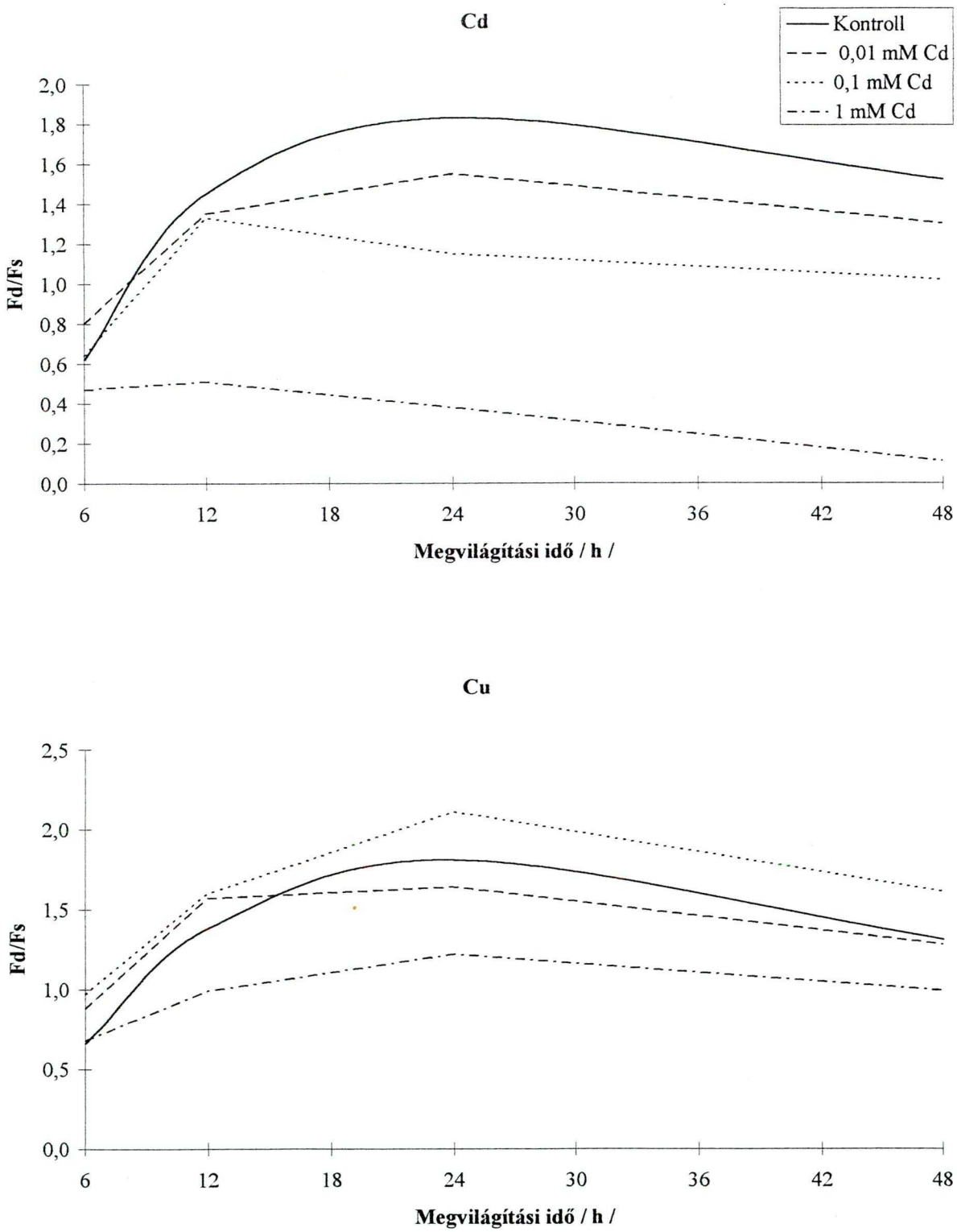
13. ábra *Kadmiummal és rézzel kezelt árpa levél Fv/Fm értékének változása a zöldülés során*



14. ábra *Kadmiummal és rézzel kezelt árpa levél δ Fi/Fv értékének változása zöldülés során*

A fotoszintetikus elektrontranszport működéséről, elsősorban a PSII-höz tartozó elektrontranszporton belül fellépő gátlásról szolgáltat információkat az Fi/Fv hányados. Értéke a 14. ábrán a megvilágítás elején minden mintánál közel azonos, a zöldülés 12. órájáig egyöntetűen növekszik, ezután pedig gyakorlatilag nem változik. Ettől csak az 1 mM kadmiummal kezelt minta tér el, amelynek Fi/Fv értéke a megvilágítás 24. órája után rohamosan csökken, s a zöldülés végén csupán fele a kontrollnak.

Az Fd/Fs hányados a fotoszintetikus kapacitás változásáról tájékoztat. Ez az érték a kontroll, valamennyi réz és a két kisebb kadmium koncentráció esetében a zöldülés kezdetén igen alacsony. A megvilágítás hatására meginduló intenzív növekedés eredményeként 24 óra múlva a hányados kétszerese annak az értéknek, ami az alacsony fényintenzitáson nevelt növényekre az irodalmi adatok szerint jellemző. A zöldülés későbbi szakaszában viszont egyértelmű csökkenés jellemzi ezeket a görbéket. A fentiektől eltér az 1 mM kadmiummal kezelt levelek Fd/Fs értékének változása. A hányados értéke ugyanis 6 óra megvilágítás után kisebb mint azt a többi koncentrációnál tapasztaltuk, s a zöldülés egész ideje alatt folyamatosan csökken, s végül gyakorlatilag 0 lesz.

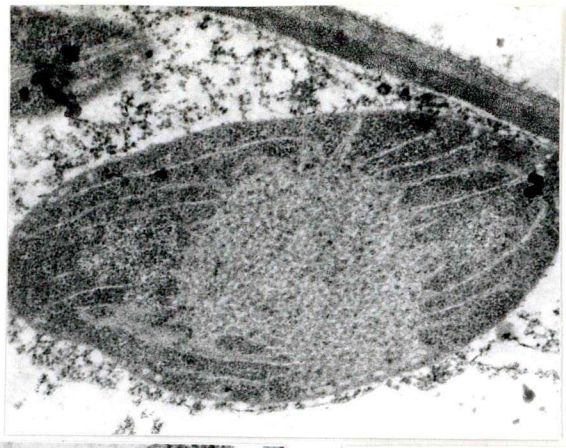


15. ábra *Kadmiummal és rézzel kezelt árpa levél Fd/Fs értékének változása zöldülés során*

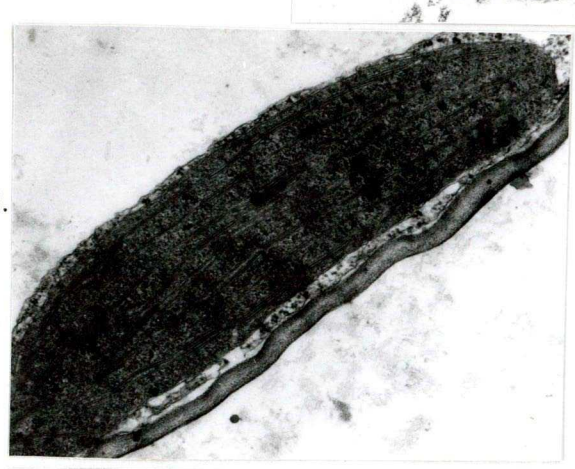
A kadmium és a réz hatása zöldülő árpa levelek kloroplasztiszának finomszerkezetére

Az előzőekben leírt kisérletek eredményei arra utaltak, hogy a kadmium és a réz különböző mértékű, metabolizmust gátló hatása mellet a kezelt mintákban fényindukálta destrukciós folyamatok is fellépnek. Ezt bizonyítják az elektronmikroszkópos felvételek is.

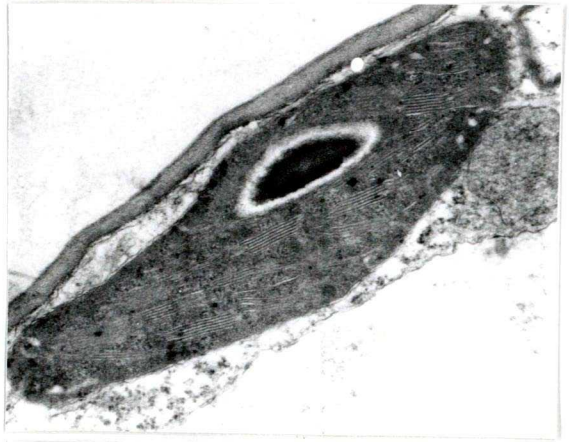
A fényképeken (16. ábra) jól látszik, hogy az etiolált levél plasztiszaiban szabályos szerkezetű prolamelláris test alakul ki. Ebből a kontroll mintákban a megvilágítás során szabályos, gránumos szerkezet fejlődik ki, amely a zöld növények kloroplasztiszaira jellemző. Mind a kadmiummal, mind a rézzel kezelt mintákban a zöldülés kezdetén megindul a plasztisz finomszerkezetének kialakulása, megjelenneka gránumok így a megvilágítás 12. órájában még alig találunk különbséget a kontroll és a kezelt minták között. A zöldülés 48. órájában viszont a vizsgált plasztiszok zöménél azt tapasztaltuk, hogy az 1 mM kadmiumkoncentráció hatására szerkezetük teljesen destruálódott, az 1 mM rézkoncentrációval történt kezelés pedig azt eredményezte, hogy a gránumtilakoidok "felfújódtak", ezáltal a membránhoz kötött funkciók itt is gátlódtak. Megjegyzendő viszont, hogy mind a kadmiummal, mind a rézzel történt kezelés során is találtunk szabályos szerkezetű plasztiszokat a mintákban.



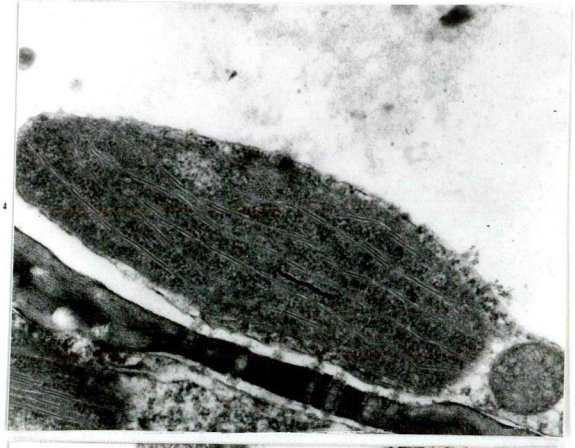
1.



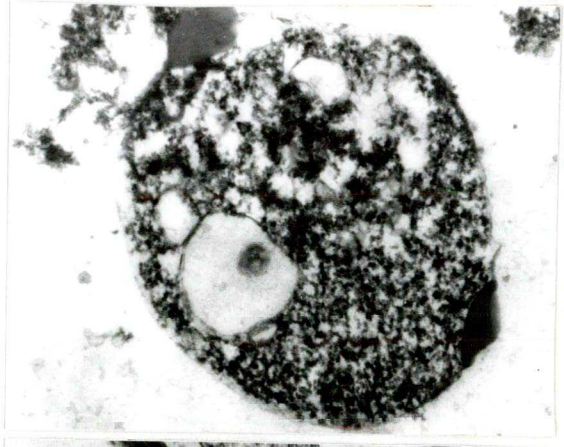
2.



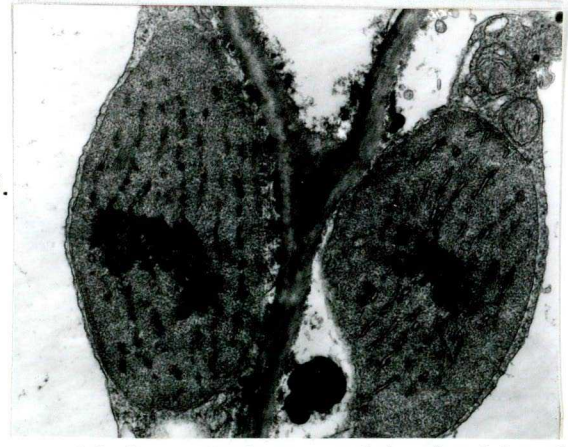
3.



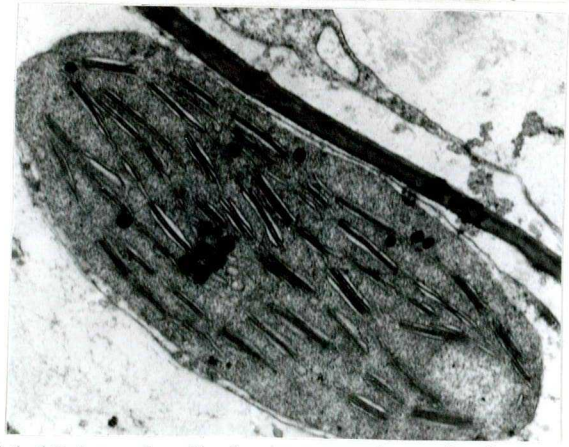
4.



5.



6.



7.

16. ábra *Kadmiummal és rézzel kezelt zöldülő árpa levél plasztiszszerkezetének változása a megvilágítás során. 1.= etiolplasztisz, 2.= 12 órás kontroll, 3.= 48 órás kontroll, 4.= 12 órás 1 mM kadmium, 5.= 48 órás 1 mM kadmium, 6.= 12 órás 1mM réz, 7.= 48 órás 1 mM réz.*

AZ EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA

Munkánk során két jellegzetes környezetszennyező nehézfémnek, a kadmiumnak és a réznek a kloroplasztisz kialakulására gyakorolt hatását vizsgáltuk zöldülő árpa levélen. Az atomabszorpciós mérések alapján megállapítható, hogy mindkét fém felvételének mértéke arányos a külső oldat koncentrációjával és a kezelés idejével. A fémek akkumulációja az excizált levélben a megvilágítás 12. órájától gyorsul fel, és a 48. órában az egyes kadmium- és rézkoncentrációk között nagyságrendi különbségek figyelhetők meg. Az adatok összhangban vannak KÁDÁR (1993) eredményeivel, aki a kukorica nehézfémfelvételét vizsgálta szabadföldi kisérletekben. Kimutatta, hogy a talaj fémkoncentrációjának növekedésével arányban nőtt a növény gyökerének és hajtásának fémtartalma is. Hasonló eredményre jutottak LIDON és mtsai. (1992) akik vízkultúrában nevelt rizs rézfelvételét nézték. A hajtás réztartalma a tápoldat rézkoncentrációjának arányában növekedett. Megjegyzendő, hogy mindkét kisérletnél gyökéren keresztül történt a nehézfém felvétele, ezért akkumulációjuk kisebb mértékű volt, mint amit mi tapasztaltunk. A megvilágítás 48. órájában ugyanis az excizált zöldülő árpa levélben egy nagyságrenddel nagyobb kadmium- illetve réztartalmat mutattunk ki, mint amit a kukoricában és a rizsben mértek.

A felhalmozódott nehézfémek befolyásolták a fotoszintetikus pigmentek akkumulációját. A kontroll növényekben a pigmentek felhalmozódásában tapasztalható lag periódus hossza a környezeti tényezőktől - pl. relatív páratartalom, fényintenzitás stb. - függ (BOURQUE és mtsai. 1971, ALBERTE és mtsai. 1972, ALBERTE és mtsai. 1973). Esetünkben a lag periódus nagyjából 6 óra időtartamú mind a kontroll, mind a kadmiummal és rézzel kezelt növényeknél. A klorofill

felhalmozódásának mértéke egyértelműen függött az alkalmazott nehézfém koncentrációjától (PAREKH és mtsai. 1986). A legkisebb kadmiumkoncentráció 40 %-os, a 0,1 mM 90 %-os gátlást eredményezett a klorofillfelhalmozásban, és 1 mM kadmium esetében szinte egyáltalán nem tapasztaltuk a klorofill akkumulációját. Igaz viszont, hogya legnagyobb koncentráció görbéjének kezdeti szakaszán kismértékű emelkedést láthatunk, ami a 12. óra után letörik. Ez arra utal, hogy ezekben a levelekben is megindul a klorofill szintézise, de a kialakult pigment a megvilágítás során lebomlik. Hasonló eredményre jutottak HORVÁTH és mtsai. (1996), akiknél a kadmiumkoncentráció növelése ugyanilyen arányú csökkenést eredményezett a klorofilltartalomban, valamint STOBART és mtsai. (1985), akinél a 0,1 mM kadmiumkezelés 60 %-os gátlást eredményezett a klorofillfelhalmozásban. STIBOROVÁ és mtsai. (1986) árpában, MOUSTAKAS és mtsai. (1994) zabban kimutatták, hogy a rézkoncentráció növekedésével arányban csökken a levelek klorofilltartalma. Ha a külső oldat rézkoncentrációja 0,1 mM volt, az árpa levelének klorofilltartalma 25 %-kal csökkent a kontrollhoz képest. A zab endogén réztartalmának 20 mg kg-1-ra emelkedése a klorofilltartalom 47 %-os csökkenését idézte elő. Kisérletünk során azt tapasztaltuk, hogy ha a külső oldat rézkoncentrációja 0,1 mM volt, ez kb. 50 %-os csökkenést eredményezett a klorofilltartalomban. Az általunk mért nagyobb arányú gátlásnak is lehet az az oka, hogy a mi esetünkben nem gyökéren keresztül történt a rézfelvétel, így a levélbe jutott nehézfémkoncentráció nagyobb mértékű volt mint az intakt növény levelében felhalmozódott nehézfém mennyisége.

Mivel a karotinoidok bioszintézise sötétben is lejátszódik, mind a kontroll, mind a fémmel kezelt levelek kb. 10 ug/g karotinoidot tartalmaztak. További felhalmozódásukat viszont mindkét fém gátolta, s a hatás koncentrációfüggő volt, de

kisebb mértékű mint a klorofillok esetében. Míg 1 mM kadmium a klorofill akkumulációjában teljes gátlást eredményezett, addig a karotinoidok felhalmozódását csupán 75 %-kal csökkentette. 1 mM réz pedig a klorofillfelhalmozásban 90 %-os, a karotinoid felhalmozásban viszont csupán 75 %-os gátlást okozott. A klorofill és a karotinoidok akkumulációja közötti különbség arra utal, hogy mindkét fém a pigmentek közül elsősorban a klorofill felhalmozódását gátolja.

Ezt a megállapítást támasztják alá az abszorpciós spektrumok vizsgálatakor kapott eredmények is. Mindkét fém esetében megfigyelhetjük az abszorpciós maximumok koncentrációtól függő csökkenését mind a vörös, mind a kék tartományban. Az egyes spektrumokon belül viszont a különböző csúcsarányok alig változnak. Ezek az adatok összevetve a pigmentakkumuláció adataival arra utalnak, hogy a kadmium és a réz gátló hatása elsősorban mennyiségi és nem minőségi változást eredményez a pigmenttartalomban.

Az alacsony hőmérsékletű fluoreszcencia emisszió spektrumok vizsgálatakor azt tapasztaltuk, hogy a 12 órás, sötétben történő inkubálás során sem a kadmium sem a réz nem gátolta a protoklorofillid kialakulását, még 1 mM koncentrációban sem. Minden spektrumon megfigyelhető ugyanis a 630 és 650 nm-es csúcs, és arányukból arra lehet következtetni, hogy a kialakult protoklorofillid molekulák jelentős része komplexbe épült (BÖDDI és mtsai. 1989). Ettől némileg eltérnek BÖDDI és mtsai. (1995) kisérleti eredményei. Sötétben 12 óráig kadmiummal kezelt etiolált árpát vizsgálva ugyanis azt tapasztalták, hogy a nehézfém gátolta a kialakult protoklorofillid molekulák komplexbe épülését. Megjegyzendő, hogy kisérletük során az általunk alkalmazott koncentrációnál egy nagyságrenddel nagyobbat, 10 mM kadmiumkoncentrációt használtak, és a tapasztalt gátlás kivédhető volt a

kadmiummal azonos koncentrációjú NADPH adagolásával. A NADPH csökkentette a kadmiumnak a protoklorofillid fototranszformációjára gyakorolt gátlását is, amit STOBART és mtsai. (1985) már korábban is kimutattak. Kisérletünkben ilyen gátlást nem tapasztaltunk, hiszen egy óra megvilágítás után a kontroll valamint a kis kadmium- és rézkoncentrációval kezelt mintáknál lezajlott a fototranszformáció, és a klorofillid maximuma 685 nm-nél alakult ki, ami a szabályos komplexbe épült molekulára jellemző (RASKIN 1981). Az 1 mM kadmium- és rézkoncentráció hatására rövidebb hullámhossznál alakult ki a klorofillid maximuma, ami arra utal, hogy a képződött klorofillid molekulák nem tudtak komplexbe épülni (GARAB és mtsai. 1974). A zöldülés későbbi szakaszában a nagy koncentrációval kezelt minták emissziós spektrumai arra utalnak, hogy a növekvő kadmiumkoncentráció egyre intenzívebben gátolja a normális pigment-protein komplexek kialakulását, hiszen még 48 órai megvilágítás után is a rövid és a hosszú hullámhosszú formák aránya a kontrollhoz (0,25) képest eltérő: 1 mM kadmium esetében a 685/730 arány 4. Az eltérés magyarázata lehet: a., a pigmentek képződésének gátlása, b., a fehérjék szintézisének gátlása, c., a komplexek létrejöttének megakadályozása. Feltételezésünk szerint a gátlás elsősorban nem pigmentszintézist csökkenti, mint ahogy ezt a fototranszformációval kapott eredményeink mutatták és HORVÁTH és mtsai. (1996) már korábban igazolták is. Kisérletükben kontroll és kadmiummal kezelt etiolált árpát rövid idejű megvilágításnak tettek ki és azt tapasztalták, hogy mindegyik mintában megtörtént a protoklorofillid fototranszformációja. Ha a leveleket ismételten sötétbe rakták, megindult a protoklorofillid újrafelhalmozódása, és ezt a folyamatot sem gátolta jelentősen a kadmium (HORVÁTH és mtsai. 1996). A fentiekkel összhangban van az a megfigyelésünk, hogy a zöldülés korai szakaszában még a legnagyobb, 1 mM kadmiumkoncentrációnál is tapasztaltunk

enyhe klorofillakkumulációt. A rézzel kezelt levelekről felvett emissziós spektrumokon jól látszik, hogy 6 óra megvilágítás után a rövid és a hosszú hullámhosszú formák arányában még számottevő a különbség a kontroll és a rézzel kezelt minták között. A zöldülés 48. órájában viszont nem tapasztalható ilyen eltérés, a spektrumok szinte fedik egymást. Ha ezt a tényt összevetjük a klorofill felhalmozási görbékkel levonhatjuk azt a következtetést, hogy bár a réz koncentrációtól függően csökkenti a klorofill akkumulációját, a kialakuló klorofill molekulák be tudtak épülni a megfelelő pigment-protein komplexekbe, a magas rézkoncentráció csak késlelteni tudta ezt a folyamatot.

Annak a kérdésnek a megválaszolásához, hogy vajon a két fém milyen mértékben gátolja a kloroplasztisz fehérjéinek szintézisét, megvizsgáltuk a plasztiszfehérjék mennyiségének fémkoncentrációtól függő változását. Korábbi irodalmi adatok szerint a kadmium és a réz eltérő módon gátolta több fehérje szintézisét. STIBOROVÁ és mtsai. (1986) kimutattak, hogy 0,1 mM réz 10 %-kal csökkentette a hajtás, és 45 %-kal a gyökér összfehérjetartalmát. A kadmium ugyanilyen koncentrációban a hajtás összfehérjetartalmát nem változtatta meg, csak a gyökérét csökkentette 10 %-kal. VAN-DUIJVENDIJK és DESMET (1975) szerint a kadmium csökkenti a PSII vízbontó oldalán az oxigéntermelésben résztvevő Mn-tartalmú fehérje mennyiségét. FLÜCKIGER és mtsai. (1978) birsalmán végzett vizsgálataik során kimutatták, hogy a nehézfémmel szennyezett növényekben közel 50 %-kal magasabb volt az aminósavtartalom mint a kontrollban. Feltételezésük szerint az aminósavak mennyiségének növekedése a fehérjék fokozott bomlásának lehet a következménye. Kisérleteink során azt tapasztaltuk, hogy a zöldülés előrehaladtával minden mintában nőtt a fehérjetartalom, de a növekedés mértéke a kadmium- és rézkoncentráció függvényében változott. A fehérjék felhalmozásának gátlása viszont

mindkét fém esetében sokkal kisebb mértékű volt, mint azt a fotoszintetikus pigmentek akkumulációjának gátlásakor megfigyelhettük. Ugyanis 1 mM kadmium teljes mértékben, 1 mM réz pedig 90 %-kal csökkentette a klorofill felhalmozódását. Ezzel szemben a legnagyobb kadmium- és rézkoncentráció csak 30-35 %-os gátlást eredményezett a fehérjefelhalmozásban. Ebből azt a következtetést vontuk le, hogy a kadmium és a réz elsődleges gátló hatása nem a fehérjék bioszintézisére irányul.

Korábbi irodalmi adatok szerint a kadmium és a réz jelentősen gátolja a fotoszintetikus elektrontranszport működését is (LIDON és mtsai. 1993, MAKSYMIEC és mtsai. 1994, SAMUELSSON és mtsai. 1980, DROPPA és HORVÁTH 1990). Ennek vizsgálatára a fluoreszcencia indukció mérését választottuk. Ennek a módszernek az az előnye, hogy a vizsgálatok intakt levélen végezhetők, és az így a kapott eredmények gyakorlatilag pontosan tükrözik az in vivo állapotokat. A kontroll növényekben az „alap" fluoreszcencia intenzitásának szintje (Fo) a megvilágítás 6. órájától a 48. óráig közel azonos, és értéke a zöldülés során nem változik. Ezzel szemben a maximális intenzitás (Fm) folyamatosan nő, ennek megfelelően a változó fluoreszcencia (Fv) értéke, amely az Fm és az Fo különbsége, szintén egyértelmű növekedést mutat, a 48. órában kb. öt-hétszerese a kiindulási értéknek (MELIS 1984). Az Fv/Fm hányados az elektrontranszportlánc állapotáról, működéséről nyújt tájékoztatást (LICHTENTHALER és RINDERLE 1988). Optimális esetben, fejlett zöld növényeknél értéke 0,80-,083 között változik (BOLHÁR-NORDENKAMPF és ÖQUIST 1993). A kontroll etiolált árpa levelekben a megvilágítás 6. órájában ez az érték mindössze 0,40 körüli, de a zöldülés előrehaladtával intenzív növekedést mutat. A 24. órában telítési értéket ér el, ami kb. 0,80, tehát megfelel a zöld növényekre jellemző Fv/Fm hányadosnak. Szintén a fotoszintetikus elektrontranszport működéséről, elsősorban a PSII-höz tartozó

elektrontranszporton belül fellépő gátlásról szolgáltat információkat az δFi/δFv (Fi-Fo / Fm-Fo) hányados (DARR és mtsai. 1981, HIDEG és mtsai. 1986). Értéke a kontroll levelekben a megvilágítás 12. órájáig kismértékű növekedést mutat, ezután pedig gyakorlatilag nem változik. Az 1 mM kadmiummal kezelt mintáknál a hányados értéke a kontrollhoz képest csökken, ami a dezorganizációs folyamatok következménye. Ez arra utal, hogy nem a PSII akceptor oldali elektrontranszportjának gátlásáról van szó. Az Fd/Fs hányados a fotoszintetikus CO_2-fixációs kapacitásról tájékoztat (LICHTENTHALER és RINDERLE 1988). Értéke a zöldülés kezdetén igen alacsony, a megvilágítás hatására viszont intenzív növekedésnek indul, így a kontroll levelekben a hányados 24 óra múlva eléri azt az értéket, ami az alacsony fényintenzitáson nevelt növényekre az irodalmi adatok szerint jellemző (LICHTENTHALER és RINDERLE 1988). A további zöldülés során enyhe csökkenés fiogyelhető meg az Fd/Fs értékében, amely a karboxilációs kapacitás növekedésével magyarázható (BOLHÁR-NORDENKAMPF és ÖQUIST 1993) A kis koncentrációjú nehézfémkezelés a fenti adatokat nem módosította jelentősebben a kontrollhoz képest. 1 mM kadmium- és rézkoncentrációk esetében viszont az Fo, Fm, Fv érték, valamint a hányadosok értéke lényegesen alacsonyabb mint a kontroll árpa levelekben. Az Fv és Fo értékek meghatározásakor kapott adataink részben ellentmondanak LANARAS és mtsai. (1993) kisérleti eredményeinek, akik réztartalmú talajon nőtt búzán végeztek fluoreszcencia indukció vizsgálatokat. Méréseik szerint is alcsonyabb volt az Fv, Fm és az Fv/Fm érték a magas réztartalmú búzában mint a kontrollban, tapasztalataik szerint viszon az Fo érték ezekben a növényekben volt magasabb. Az eltérés származhat abból, hogy ők kifejlett zöld növényen, mi pedig sötétben csíráztatott zöldülő árpán végeztük a méréseket. A mi eredményeinkhez hasonló adatokat kapott viszont HSU és LEE

(1988), akik rézzel kezelt spenót kloroplasztiszokon mérték a fluoreszcencia indukciót, és az általunk is vizsgált értékek koncentrációtól függő csökkenését tapasztalták. Ezt támasztják alá KRUPA és mtsai. (1993) adatai is, akik kadmiummal kezelt babon végeztek méréseket, és az Fv/Fm hányados fémkoncentrációtól függő csökkenését tapasztalták.

Annak eldöntésére, hogy elsődleges hatásnak tekinthetők-e a nehézfémkezelésnél megfigyelt funkcionális változások, megvizsgáltuk a plasztisz finomszerkezetének változását a zöldülés során, és alakulását a nehézfémkezelés hatására. Megjegyzendő, hogy a magas kadmium- és rézkoncentrációnak a plasztiszszerkezetre gyakorolt destruáló hatását korábban már számos kisérlettel igazolták. BASZYNSKI és mtsai. (1988) spenóton, SANDMAN és mtsai. (1980) zöld algán vizsgálták a réz-túladagolás hatását. Mindkét kisérlet során azt tapasztalták, hogya réz hatására megnőtt a plasztoglobulusok, a tilakoidok közötti zárványok száma, csökkent a gránumok mennyisége, degradálódtak a sztróma lamellák, ilymódon teljesen felbomlott a kloroplasztisz szerkezete. LIDON és mtsai. (1993) is azt tapasztalták, hogy réz-túladagolás hatására sérült a fotoszintetikus membrán. BASZYNSKI és mtsai. (1980) kimutatták, hogy hosszan tartó kadmiumkezelés esetén is degradálódik a kloroplasztisz egész struktúrája, ami igen nagy plasztoglobulusok mejelenésében és a gránumok szerkezetének fellazulásában nyilvánul meg. Elektronmikroszkópos vizsgálataink során azt tapasztaltuk, hogy mind a kadmiummal, mind a rézzel kezelt mintákban a zöldülés kezdetén megindult a plasztisz finomszerkezetének kialakulása, megjelentek a gránumok, így a megvilágítás 12. órájában még alig találtunk különbséget a kontroll és a kezelt minták között. A zöldülés 48. órájában viszont a vizsgált plasztiszok zöménél azt tapasztaltuk, hogy az 1 mM kadmiumkoncentráció hatására szerkezetük teljesen

destruálódott, az 1 mM rézkoncentrációval történő kezelés pedig azt eredményezte, hogy a gránumtilakoidok "felfújódtak", ezáltal a membránhoz kötött funkciók is gátlódtak.

A felsorolt eredmények alapján feltételezzük, hogy a kadmium elsődleges gátló htása nem a fotoszintetikus pigmentek és nem a plasztisz fehárjéinek bioszintézisére irányul, hanem elsősorban a pigment-protein komplexek kialakulását akadályozza meg (HORVÁTH és mtsai. 1996). Viszont oxidatív körülmények között, fényen a szabad pigmentek destruálódnak, ezáltal lehetetlenné válik a fotoszintetikus apparátus normális működése.

Eredményeink alátámasztják SANDMAN és BÖGER (1980) korábbi következtetéseit, miszerint a kétértékű réz ion a fotoszintetikus membránban szabadgyököket generál, fokozza a lipidek peroxidációját, ezáltal a plasztisz finomszerkezetének dezorganizációját idézi elő, ami lehetetlenné teszi a szabályos fotoszintetikus működést.

ÖSSZEFOGLALÁS

Munkánk során a kadmiumnak és a réznek a fotoszintetikus apparátus kialakulására gyakorolt hatását vizsgáltuk zöldülő árpa levélen. Kisérleti eredményeink az alábbiakban foglalhatók össze:

Az excizált zöldülő árpa levél nehézfémfelvétele erősen függ a külső oldat koncentrációjától és arányos a megvilágítás idejével.

A két fém növekvő endogén koncentrációja jelentősen gátolja a fotoszintetikus pigmentek (klorofillok, karotinoidok) felhalmozódását a zöldülés során. Az akkumuláció csökkenése jelentősebb a klorofilloknál. A zöldülés első 12 órájában viszont még a legnagyobb, 1mM fémkoncentrációval kezelt mintáknál is megfigyelhetünk kismértékű klorofillhalmozást. A gátló hatás intenzívebb a kadmium esetében mint a réznél.

Az abszorpciós spektrumok vizsgálatakor azt tapasztaltuk, hogy a maximumok értéke fémkoncentrációtól függő csökkenést mutat mind a vörös, mind a kék tartományban, a különböző csúcsarányok viszont nem változnak.

A kadmium és a réz gátolja ugyan a plasztiszfehérjék szintézisét, de a gátlás sokkal kisebb mértékű, mint azt a pigmentek felhalmozódásánál tapasztaltuk.

Az alacsony hőmérsékletű fluoreszcencia emisszió vizsgálatok eredményei azt mutatják, hogy a kadmium és a réz még 1mM koncentrációban sem gátolja a protoklorofillid kialakulását és fototranszformációját klorofilliddé. Viszont a kialakult klorofillid molekulák komplexbe épülését az 1mM rézkoncentrációjú kezelés késlelteti, 1 mM kadmium pedig teljesen megakadályozza.

A fluoreszcencia indukció mérések eredményei azt mutatják, hogy bár a kisebb koncentrációjú nehézfémkezelés hatására nem változnak az adatok a kontrollhoz

képest, 1 mM kadmium- és rézkezelés hatására 48 óra megvilágítás során sérül a fotoszintetikus elektrontranszportlánc.

Az elektronmikroszkópos felvételek azt mutatják, hogy a zöldülés során minden mintában megindul a plasztisz szabályos finomszerkezetének kialakulása, ami viszont az 1 mM kadmiummal és rézzel kezelt mintákban a további megvilágítás hatására teljesen felbomlik.

A fenti eredményekből azt a következtetést vontuk le, hogy a kadmium elsődleges gátló hatása a szabályos pigment-protein komplexek kialakulásának megakadályozására irányul, a réz pedig a fotoszintetikus membrán dezorganizációját idézi elő, ezáltal lehetetlenné válik a szabályos fotoszintetikus működés.

IRODALOMJEGYZÉK

ALAKSZEJEV, A. A., ZÜRIN, N. G. : (1982) Povedenie kadmija v sziszteme pocsvarasztenie. *Vesztn. Moszkovszkogo Univ. 1982/3, 23-31.*

ALBERTE, R. S., THORNBER, J. P., NAYLOR, A.W.: (1972) Time of appearance of photosystems I and II in chloroplasts of greening jack bean leaves. *J. Exp. Bot. 23, 1060-1069.*

ALBERTE, R. S., THORNBER, J. P., NAYLOR, A. W.: (1973) Biosynthesis of the photosystem I chlorophyll-protein complex in greening leaves of higher plants. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 70, 134-137.*

ALLOWAY, B. J. : (1990) Heavy metals in soils. *Blackie and Son Ltd. Glasgow-London. 339 p.*

ARNON, D. : (1949) Copper enzymes in isolatad chloroplasts. Polyphenol oxidase in Beta vulgaris. *Plant Physiol. 24, 1-15.*

BARCELÓ,., POSCHENRIEDER, CH., ANDREU, I., GUNSÉ, B. : (1986)Cadmium-induced decrease of water stress resistance in bush bean plants (phaseolus vulgaris L. cv. Contender). I. Effects of Cd on water potential, relativa water content and cell wall elasticity. *J. Plant Physiol. 125, 17-25.*

BASZYNSKI, T., KRÓL, M., KRUPA, Z., RUSZKOWSKA, M., WOJCIESKA, U., WOLINSKA, D.,: (1982) Photosynthetic Apparatus of Spinach Exposed to Excess Copper. *Z. Pflanzenphysiol. Bd. 108. S. 385-395.*

BASZYNSKI, T., RUSZKOWSKA, M., KROL, M., TUKENDORF, A., WOLINSKA, D. : (1978) The effect of copper deficiency on the photosynthetic apparatus of higher plant. *Z. Pfanzenphysiol. 89, 207-216.*

BASZYNSKI, T., TUKENDORF, A., RUSZKOWSKA, M., SKÓRZYNSKA, E., MAKSYMIEC, W., : (1988) Characteritics of the Photosynthetic Apparatus of Copper Non-tolerant Spinach Exposed to Excess Copper. *J. Plant Physiol. 132, 708-713.*

BASZYNSKI, T., WAJDA, L., KRÓL, M., WOLINSKA, D., KRUPA, Z., TUKENDORF, A. : (1980) Photosynthetic activites of cadmium treated tomato plants. *Physiol. Plant. 48, 365-370.*

BAZZAZ, M. B., GOVINDJEE, : (1974) Effects of cadmium nitrate on spectral characteristics and light reactions of chloroplasts. *Environ. Lett. 6, 1-12.*

BENSON, N. R. : (1968) Trace metals in soils, plants and animals. *Advances in Agronomy. 24, 267-326*

BOLHÁR-NORDENKAMPF, H. R., ÖQUIST, G. O.: (1993) Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. *Photosynthesis and production in a changing environment. Chapman and Hall. 193-205.*

BORNEMISSZA, E. : (1985) Középamerikai talajtani problémák és gyakorlati vonatkozásuk. *Agrokémia és Talajtan. 34, 185-190.*

BOURQUE, D. P., NAYLOR, A. W. (1971) Large effects of small water deficits on chlorophyll accumulation and ribonucleic acid synthesis in etiolated leaves of jack bean. /Canavalia ensiformis L. DC./ *Plant Physiol. 47, 591-594.*

BÖDDI, B., LINDSTEIN, A., RYBERG, M., SUNDQVIST, C. : (1989) On the aggregational states of protochlorophyllide and its protein complexes in wheat etioplasts. *Physiol. Plant 76, 135.*

BÖDDI, B., ORAVECZ, A. R., LEHOCZKI, E. : (1995) The effect of cadmium on the molecular organization of protochlorophyllide in dark-grown leaves and etioplast

inner membrane preparations of wheat and on the protochlorophyllide photoreduction. *Photosynthetica 31 (3), 411-420.*

CATALDO, D., GARLAND, T., WILDUNG, R. : (1981) Cadmium distribution and chemical fate in soybean plants. *Plant Physiol. 68, 835-839.*

CEDENO-MALDONADO, A., SWADER, J., A., : (1972) The Cupric Ion as an Inhibitor of Photosynthetic Electron Transport in Isolated Chloroplasts. *Plant Physiol. 50, 698-701.*

CLARKSON, D. T., HANSON, J. B. : (1980) The mineral nutrition of higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. 31, 239-298.*

CSATHÓ, P. : (1994) A környezet nehézfém szennyezettsége és az agrártermelés. Tematikus szakirodalmi szemle. MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete, Budapest

DARR, S., MACHADO, V. S., ARNTZEN, C. J.: (1981) Uniparental inheritance of a chloroplast photosystem II polypeptide controlling herbicide binding. *Biochim. Biophys. Acta 634, 219-228.*

DELHAIZE, E., LONERAGAN, J., F., WEBB, J.,: (1985) Development of Three Copper Metalloenzymes in Clover Leaves. *Plant Physiol. 78,4-7.*

DROPPA, M., HORVÁTH, G.,: (1990) The Role of Copper in Photosynthesis. *Plant Sciences,Vol. 9, 111-123.*

DROPPA, M., MASOJIDEK,J., HORVÁTH, G.,: (1990) Changes of the Polypeptide Composition in Thylakoid Membranes during Differentiation. *Z. Naturforsch. 45c, 253-257.*

DUDKA, G., WOLINSKA, D., BASZYNSKI, T. : (1983) Chloroplast volume and number in leaves of cadmium-treated tomato plants. *Photosynthetica 17, 597-601.*

FLÜCKIGER, W., FLÜCKIGER-KELLER, H., OERTLI, J. J.: (1978) Biochemische Veranderungen in jungen Birken im Nahbereich einer Autobahn. *Eur. J. For. Path. 8, 154-163.*

FUHRER, J. : (1982) Ethylene biosynthesis and cadmium toxicity in leaf tissue of beans (Phaseolus vulgaris). Plant Physiol. 70, 162-167.

GARAB, GY., HORVÁTH, G., FALUDY, D. Á.: (1974) Resolution of the fluorescence bands in greening chloroplasts of maize. *Biochem. Biophys. Res. Com. 56, 1004-1009.*

GUPTA, S., L., : (1988) Copper inhibition of Photosystem II activity in the cyanophage AS-1-resistant mutant. *J. Gen. Appl. Microbiol., 34, 1-5.*

HIDEG, É., RÓZSA, ZS., VASS, I., VÍGH, L., HORVÁTH, G.: (1986) Effect of homogeneus catalytic hydrogenation of membrane lipids on luminescence characteristics of the Photosystem II electron transport. *Photobiochemistry and Photobiophysics 12, 221-230.*

HINESLY, T. D.,ALEXANDER, D.E., REDBORG, K.E., ZIEGLER, E.L. : (1982) Differential accumulations of cadmium and zinc by corn hybrids grown on soil amended with sewage sludge. *Agron. J. 74, 468-474.*

HOFFMANN, P. : (1986) Fotoszintézis. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.

HORVÁTH, G., DROPPA, M., ORAVECZ, Á., RASKIN, V. I., MARDER, J. B.: (1996) Formation of the photosynthetic apparatus during greening of cadmium-poisoned barley leaves. *Planta (in press)*

HSU, B. D., LEE, J. Y.: (1988) Toxic effects of copper on Photosystem II of spinach chloroplasts. *Plant Physiol. 87, 116-119.*

JUSTE, C., GOMEZ, A., DESENFANTS, C. : (1989) Nutrient solution temperature effect on uptake of cadmium and nickel by maize (Zea mays L.) seedlings. *Heavy*

metals in the environment. Int. Conf. Sept. 1989. Geneva ,Italy. Vol.2. (Ed. Vernet, J. P.) 201-205.

JUSTE, C., MENCH, M. : (1992) Long-term application of sewage sludge and its effect on metal uptake by crops. *Biochemistry of trace metals (Ed. Adriano, D. C.) 159-193. Lewis Publishers.*

KÁDÁR, I. : (1993) Adatok a közlekedés, település és az ipar által okozott talajszennyezés megitéléséhez. *Növénytermelés 42, 185-190.*

KRIVONOSZOVA, G. M, DZSAMAL, V. A., GOLOVINA L. P., LÜSZENKO, M. N.: (1989) Tehnogennoe zagrjaznenie pocsv Donibasza vübroszami predprijatij csornoj i cvetnoj metallurgii. In: Agroekol. obszt na szh. ugodjah USzSzR i puti Sznizsenija ih zagrjaznenija tokszics. vescs. Dokl. 38-39.

KRUPA, Z., ÖQUIST, G., HUNER, N. : (1992) The influence of cadmium on primary photosystem II photochemistry in bean as revealed by Chlorophyll/a fluorescence - a preliminary study. *Acta Physiol. Plant. Vol. 14. No. 2.*

KRUPA, Z., ÖQUIST, G., HUNER, N. : (1993) The effects of cadmium on photosynthesis of Phaseolus vulgaris L. - a fluorescence analysis. *Physiol. Plant. 88, 626-630.*

KRUPA, Z., SKÓRZYNSKA, E., MAKSYMIEC, W., BASZYNSKI, T. : (1987) Effect of cadmium treatment of the photosynthetic apparatus and its photochemicalactivites in greening radish seedlings. *Photosynthetica 21, 156-164.*

KUBOI, T., NOGUCHI, A., YAZAKI, J. : (1986) Family-dependent cadmium accumulation characteristics in higher plants. *Plant and Soil, 92, 405-415.*

LANARAS, T., MOUSTAKAS, M., SYMEONIDIS, L., DIAMANTOGLOU, S., KARATAGLIS, S.,: (1993) Plant metal content, growth responses and some

photosynthetic measurements on field-cultivated wheat growing on ore bodies enriched in Cu. *Physiologia Plantarum 88, 307-314.*

LÁNG, F., VÁGÚJFALVI, D. : (1993) ELTE Egyetemi jegyzet, ELTE Jegyzetkiadó, Budapest.

LI, E. H., MILES, C.D. : (1975) Effects of cadmium on photoreaction II of chloroplasts. *Plant Sci. Lett. 5, 33-40.*

LICHTENTHALER, H. K., RINDERLE, U.: (1988) The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plants. *CRC Critical Reviews in Analytical Chemistry, Vol. 19, Suppl. 1, 29-85.*

LIDON, F., C., HENRIQUES, F., S., : (1991) Limiting step on photosynthesis of rice plants treated with varying copper levels. *J. Plant Physiol. 138, 115-118.*

LIDON, F., C., HENRIQUES, F., S., : (1992) Effects of copper on the nitrate to ammonia reduction mechanism in rice plants. *Photosynthetica 26 (3), 371-380.*

LIDON, F., C., RAMALHO, J., C., HENRIQUES, F., S., : (1993) Copper Inhibition of Rice Photosynthesis. *J. Plant Physiol. Vol.142. pp. 12-17.*

LONERAGAN, J. F. : (1982) III. Mineral Nutrition: Response of plants to trace elements. *Progress in Botany. 44, 92-102.*

MAKSYMIEC, W., RUSSA, R., URBANIK-SYPNIEWSKA, T., BASZYNSKI, T.,: (1994) Effect of excess Cu on the photosynthetic apparatus of runner bean leaves treated at two different growth stages. *Physiológia Plantarum 91: 715-721.*

MELIS, A.: (1984) Light regulation of photosynthetic membrane structure, organization and function. *J. of Cell. Biochemistry 24, 271-285.*

MOUSTAKAS, M., LANARAS, T., SYMEONIDIS, L., KARATAGLIS, S.,: (1994) Growth and some photosynthetic chracteristics of field grown Avena sativa under copper and lead stress. *Photosynthetica 30 (3): 389-396.*

PADMAJA, K.., PRASAD, D. D. K., PRASAD, A. R. K. : Inhibition of chlorophyll synthesis in Phaseolus vulgaris L. seedlings by cadmium acetate.

PAREKH, D., PURANIK, R. M., SRIVASTAVA, H. S. : (1990) Inhibition of chlorophyll biosynthesis by cadmium in greening maize leaf segments. *Biochem. Physiol. Pflanzen 186, 239-242.*

RASZKIN, V.,I. : (1981) Fotovosztanovlenie protoklorofillida. *Nauka i Tehnika, Minszk*

ROBSON, A. D., HARTLEY, R. D., JARVIS, S. C. : (1981) Effect of copper deficiency on phenolic and other constituents of wheat cell walls. *Amer. J. Bot. 89, 361-371.*

SAMUELSSON, G., ÖQUIST, G.,: (1980) Effects of copper chloride on photosynthetic electron transport and chlorophyll-protein complexes of Spinacia oleracea. *Plant & Cell Physiol. 21(3): 445-454.*

SANDMANN, G., BÖGER, P., : (1980) Copper-mediated lipid peroxidation processes in photosynthetic membranes. *Plant Physiol. 66, 797-800.*

STIBOROVÁ, M., DOUBRAVOVÁ, M., BREZINOVÁ, A., FRIEDRICH, A., : (1986) Effect of heavy metals ions on growth and biochemicl chracteristics of photosynthesis of barley (Hordeum vulgare L.). *Photosynthetica 20 (4), 418-425.*

STOBART, A., GRIFFITHS, W. T., AMEEN-BUKHARI, I., SHERWOOD, R. : (1985) The effect of Cd2+ on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley. *Physiol. Plant. 63, 293-298.*

SZABÓ, P. : (1991) A talajok ólomszennyezettsége Nagytétény környékén. *Agrokémia és talajtan. 40, 297-302.*

TURNER, A.P., WATMOUGH, S. A., DICKINSON, N. M. : (1993) Ecotoxicology of 60 years of copper, cadmium and zinc processing in North-West England. *Int. Conf. on Heavy Metals in the Environment. Vol. 2, 578-581.*

VAN DUIJVENDIJK-MATTEOLI, M. A., DESMET, G. M. : (1975) On the inhibitory action of cadmium on the donor side of photosystem II in isolated chloroplasts. - *Biochim. Biophys. Acta 408, 164-169.*

WEIGEL, H. J., JAGER, H. J. : (1980) Different effects of cadmium in vitro and in vivo on enzyme activities in bean plants (Phaseolus vulgaris L. c. v. Sankt Andreas). *Z.Pflanzenphysiol. 97, 103-113.*

XUE, Q. I., HARRISON, H. : (1991) Effect of soil zinc, pH and cultivar on cadmium uptake in leaf lettuce. *Plant Ancal. 22, 975-991.*

TARTALOMJEGYZÉK

BEVEZETÉS	1.
IRODALMI BEVEZETÉS	2.
Környezetszennyezési források	2.
A fémionok felvétele a talajból	5.
A kadmiumszennyezés élettani hatásai	6.
A rézszennyezés élettani hatásai	13.
CÉLKITŰZÉS	17.
ANYAG ÉS MÓDSZER	18.
Vizsgált anyag	18.
Vizsgálati módszerek	19.
KISÉRLETI EREDMÉNYEK	22.
A fémtartalom változása zöldülő árpa levelekben	22.
A pigmenttartalom változása	24.
Az alacsony hőmérsékletű fluoreszcencia emisszió spektrumok változása	31.
Az etiolált árpa plasztiszfehérje tartalmának változása megvilágítás hatására	37.
Fluoreszcencia indukció mérések	40.
Elektronmikroszkópos vizsgálatok	48.
AZ EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA	50.
ÖSSZEFOGLALÁS	59.
IRODALOMJEGYZÉK	61.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetet szeretnék mondani Dr. Horváth Gábor egyetemi tanárnak szakmai irányításáért, hasznos tanácsaiért, amivel végig segítette munkámat.

Köszönet illeti a KÉE Növényélettani Tanszék minden munkatársát, és külön köszönettel tartozom Krammarikné dr. Kissimon Juditnak a fluoreszcencia indukciós méréseknél, valamint Dr. Droppa Magdolnának a dolgozat megírása során nyújtott közvetlen segítségéért.

Köszönetet szeretnék mondani Dr. Láng Ferenc egyetemi tanárnak, amiért az ELTE Növényélettani Tanszékén lehetővé tette számomra az alacsony hőmérsékletű fluoreszcencia emissziós mérések elvégzését, és külön köszönet illeti Dr. Böddi Bélát a mérések során nyújtott segítségért.

Köszönettel tartozom Dr. Gyurján István egyetemi tanárnak, amiért az ELTE Növényszervezettani Tanszékén lehetővé tette számomra az elektronmikroszkópos felvételek elkészítését, és külön köszönet illeti Dr. Kristóf Zoltánt a mérések során nyújtott közvetlen segítségéért.

Köszönetet szeretnék mondani Dr. Mustárdy Lászlónak, az MTA SZBK munkatársának az elektronmikroszkópos felvételek elkészítéséért.

Köszönettel tartozom Dr. Fodor Péter egyetemi tanárnak, amiért lehetővé tette számomra az atomabszorpciós vizsgálatok elvégzését, valamint Bertényiné dr. Divinyi Zsuzsának a mérések során nyújtott segítségéért.

Ezúton szeretnék köszönetet mondani a Magyar Tudományos Akadémia Támogatott Kutatóhelyek Osztályának, amiért a három éves "Fiatal kutatók" ösztöndíjjal lehetővé tette számomra a munka elvégzését.