

BUDAPESTI CORVINUS EGYETEM

**CIRKÓNIUM-ASZKORBÁT HATÁSA A BÚZA
CSÍRANÖVÉNY KÉMIAI ÉS BIOKÉMIAI
PARAMÉTEREIRE**

Dr. FODOR MARIETTA

doktori értekezése

Készült a Budapesti Corvinus Egyetem

Alkalmazott Kémia Tanszékén

Budapest, 2004.

A doktori iskola

megnevezése:

Élelmiszer-tudományi Doktori Iskola

tudományága:

Élelmiszertudományok

vezetője:

DR. FEKETE ANDRÁS

egyetemi tanár

tudomány(ok) doktora, az MTA doktora

Budapesti Közgazdaságtudományi és Államigazgatási Egyetem,

Élelmiszertudományi Kar

Fizika- Automatika Tanszék

Témavezető:

DR. FODOR PÉTER

egyetemi tanár

tudomány(ok) doktora, az MTA doktora

Budapesti Közgazdaságtudományi és Államigazgatási Egyetem,

Élelmiszertudományi Kar

Alkalmazott Kémia tanszék

Az Iskola- és a témavezető jóváhagyó aláírása:

A jelölt a Budapesti Közgazdaságtudományi Egyetem Doktori Szabályzatában előírt valamennyi feltételnek eleget tett, az értekezés műhelyvitájában elhangzott észrevételeket és javaslatokat az értekezés átdolgozásakor figyelembe vette, azért az értekezés nyilvános vitára bocsátható.

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

TARTALOMJEGYZÉK	3
RÖVIDÍTÉSEK	7
1. BEVEZETÉS	9
1.1 A cirkónium vizsgálata.....	9
1.2. Célkitűzések	10
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	13
2.1. Ökológiai tényezők hatása a talaj ásványianyag-tartalmára.....	13
2.2. A talaj cirkónium-tartalma	18
2.3. A cirkónium élő szervezetekre gyakorolt hatása.....	19
2.3.1. Baktériumokra gyakorolt hatás	19
2.3.2. Gombákra gyakorolt élettani hatás.....	20
2.3.3. Algákra és növényekre gyakorolt élettani hatás.....	21
2.3.4. Állatélettani hatás	24
2.3.5. Humánélettani hatás	25
2.4. A növények ásványianyag-felvétele.....	28
2.2.1 A mikroelemek a talajban	28
A talaj szervesetlen és szerves alkotói.....	29
A talajban található komplex molekulák.....	29
2.2.2. Elemtranszport a talajból a gyökérbe	30
2.2.3. Transzlokáció a növényben.....	33
2.5. A növény és a stressz	34
2.5.1. A stressz fogalma, a stressz szindróma, a stresszválasz.....	35
2.5.2. A stressztípusok csoportosítása.....	36
2.5.2.1. Abiogén és biogén stressztényezők.....	37
2.5.2.2. Nehézfém–stressz.....	37
2.5.2.3. Oxidatív stressz	40
Gvajakol-peroxidáz (POD; E.C. 1.11.1.7.)	41
Aszkorbinsav-peroxidáz (APX, E.C. 1.11.1.11.).....	42
Glutation-reduktáz (GR, E.C. 1.6.4.2.)	43
3. ANYAG ÉS MÓDSZER.....	45
3.1. Növényanyag, nevelési körülmények	45
3.2. Mikroelemforrás.....	45
3.3. Cirkónium-aszkorbát hatásának vizsgálata	46

3.3.1. Zr-ASC hatásának vizsgálata tápoldatos kísérletekben	46
3.3.2. Zr-ASC hatásának vizsgálata kadmium-tartalmú tápoldatban nevelt búza csíranövényre	46
3.3.3. Zr-ASC hatásának vizsgálata levélpermetezéssel kísérletben.....	46
3.4. Vizsgálati módszerek	47
3.4.1. Csírázási százalék meghatározása.....	47
3.4.2. Növény méreteinek meghatározása.....	47
3.4.3. Szárazanyagtartalom meghatározása.....	47
3.4.4. Elemösszetétel meghatározása	47
3.4.4.1. Mintaelőkészítés az elemanalízishez.....	47
3.4.4.2. Elemanalízis	48
3.4.5. Biogén aminok meghatározása	48
3.4.5.1. Mintaelőkészítés a szabad aminosav analízishez.....	48
3.4.5.2. Aminosav-analízis.....	49
3.4.6. Klorofilltartalom mérése	49
3.4.7. Összfenol-tartalom meghatározása	49
3.4.8. Enzimaktivitás meghatározása	49
3.4.8.1. Gvajakol-peroxidáz	50
3.4.8.2. Aszkorbinsav-peroxidáz.....	50
3.4.8.3. Glutathion-reduktáz.....	50
3.5. Statisztikai módszerek.....	50
4. EREDMÉNYEK	51
4.1. Cirkóniumkezelés hatásának eredményei	51
4.1.1. Csírázási százalék.....	51
4.1.2. Zr-ASC hatása a búza csíranövények növekedésére.....	51
4.1.3. Szárazanyag-tartalom változása	53
4.1.4. A búza csíranövény fejlődési paramétereire gyakorolt hatás kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések.....	53
4.1.5. Elemösszetétel vizsgálata.....	54
4.1.5.1. A cirkónium felvétele és eloszlása a búza csíranövényben.....	54
4.1.5.2. Esszenciális mikroelemek koncentrációváltozása a Zr-ASC kezelés során.....	55
4.1.5.4. Az elemösszetételre gyakorolt hatás kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések	60
4.1.6. Aminosav-tartalom.....	62

4.1.6.1. Az aminosav-összetételre gyakorolt hatás kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések.....	67
4.1.7. Klorofilltartalom vizsgálata	68
4.1.7.1 A klorofilltartalomra gyakorolt hatás kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések	69
4.1.8. Összfenol mennyiségének mérési eredményei.....	69
4.1.8.1 Az összfenol-tartalomra gyakorolt hatás kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések.....	70
4.1.9. A növények antioxidáns hatású enzimatis védekező rendszere	70
4.1.9.1. Gvajakol-peroxidáz (POD)	70
4.1.9.2. Aszkorbinsav-peroxidáz (APX)	71
4.1.9.3. Glutathion reduktáz (GR).....	72
4.1.9.4 Az enzimaktivásra gyakorolt hatás kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések	73
4.2. Cirkónium kezelés hatása kadmiumtartalmú tápoldatban nevelt búza csíranövényre	74
4.2.1. Csírázási százalék meghatározása.....	75
4.2.2. A Zr-ASC hatása a Cd-kezelt búza csíranövények növekedési paramétereire	75
4.2.3. Szárazanyag-tartalom meghatározása	77
4.2.4. A búza csíranövény fejlődési paramétereire gyakorolt hatás kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések.....	78
4.2.5. Elemösszetétel vizsgálata.....	79
4.2.5.1. Cd-tartalmú tápoldatban nevelt búza csíranövény cirkóniumfelvétele	79
4.2.5.2. Néhány esszenciális mikroelem koncentrációjának változása a Cd-tartalmú tápoldatban nevelt, Zr-ASC oldattal kezelt búza csíranövényben	80
4.2.5.3. A Zr-ASC és a Cd, elemösszetételre gyakorolt hatásának kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések.....	87
4.2.6. Klorofilltartalom változása.....	88
4.2.6.1. A klorofilltartalomra gyakorolt hatásának kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések.....	88
4.2.7. Összfenol-tartalom változása	89
4.2.7.1. Az összfenol tartalomra gyakorolt hatás kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések.....	90
4.2.8. A kadmium- és Zr-kezelt növények antioxidáns hatású enzimatis védekező rendszere	91
4.2.8.1. Gvajakol-peroxidáz (POD)	91

4.2.8.2. Aszkorbinsav-peroxidáz (APX)	92
4.2.8.3. Glutation-reduktáz (GR)	92
4.2.8.4. Az enzimaktivitására gyakorolt hatás kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések	93
4.3. Levélpermetezési kísérlet eredményei	94
4.1.6.1. A búza csíranövényre levélpermetezéssel kijuttatott Zr-ASC felszívódásának kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések	95
5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	97
5.1. Új tudományos eredmények a cirkónium-aszkorbát búza csíranövényre gyakorolt hatása terén	97
5.2. Új tudományos eredmények a cirkónium-aszkorbátnak a kadmium- tartalmú tápoldatban nevelt búza csíranövényre gyakorolt hatása terén	98
6. ÖSSZEFOGLALÁS	101
SUMMARY	104
7. HOGYAN TOVÁBB?	109
MELLÉKLETEK (IRODALOMJEGYZÉK)	111
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	121

RÖVIDÍTÉSEK

*	szignifikáns változás (ábrákon használt jelölés)
μM	μmól/l koncentráció rövidítése
APX	aszkorbinsav-peroxidáz
ASC	aszkorbinsav
DHA	dehidroaszkorbinsav
DTNB	5,5'-ditio-bisz-(2-nitrobenzoesav)
DTPA	dietilén-triamin-pentaecetsav
DTT	ditiothreitol
EC ₅₀	effektív koncentráció érték, amely a vizsgált élő rendszer 50%-ánál bármilyen hatást előidéz
EDTA	etilén-diamin-tetraecetsav diNa,Ca sója
GABA	γ-amino-vajsav
GR	glutation-reduktáz
GSH	glutation redukált formája
GSSG	glutation oxidált formája
HO ₂ [•]	peroxigyök
HPLC	nagy teljesítményű folyadék-kromatográfia
hTF	humán szérum transferrin
kat	katal (1 mol átalakított szubsztrát vagy keletkezett termék/1 s)
K-ASC	kálium-aszkorbát
KH	kimutatási határ (μg/g sz.a.)
KH _x	adott elem kimutatási határa, ahol x helyén az elem vegyjele szerepel
LD ₅₀	letális dózis = a vizsgált egyedek 50%-a az adott koncentráció értéknél elpusztul
LHC II	fénybegyűjtő klorofill-protein komplex
M	mól/l koncentráció rövidítése
mM	mmól/l koncentráció rövidítése
MBC	minimum bactericidal concentration: a vegyület baktericid hatását jellemzi. Azt a legalacsonyabb koncentrációt tekintik baktericidnek, amely 96 óra alatt gátlást okoz
MDHA	mono-dehidro-aszkorbinsav
MIC	minimum inhibitory concentration: a vegyület bakteriosztatikus hatását jellemzi. Bakteriosztatikusnak azt a legalacsonyabb koncentrációt tekintik, amely 24 óra alatt gátlást okoz
NADP ⁺	nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát oxidált formája

NADPH	nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát redukált formája
n. tömeg	nedves tömeg
NTA	nitrilotriacetát
$O_2^{\bullet-}$	szuperoxid gyök
$OH^{\bullet}$	hidroxil-gyök
PAL	fenilalanin-ammónia-liáz
PMSF	fenilmetil-szulfonil-fluorid
POD	peroxidáz, gvajakol-peroxidáz
Ser+	szerin + threonin + aszparagin + glutamin koncentrációja
SOD	szuperoxid-dizmutáz
SumAA	összaminosav koncentráció
sz.a.	szárazanyag
TAL	tirozin-ammónia-liáz
Ti-ASC	titán-aszkorbát
TRIS	trisz-(hidroximetil)-amino-metán
Zr	cirkónium
Zr-ASC	cirkónium-aszkorbát
Zr ₂ hTF	cirkónium-humán szérum transzferrin

1. BEVEZETÉS

Tanszékünk, az Élelmiszertudományi Kar Alkalmazott Kémia Tanszéke, kutatási területét évtizedekkel ezelőtt Pais István professzor alapozta meg az akkor még új fogalomnak és a tudomány számára is kevésbé ismert területnek számító mikroelem-kutatással. Ez a kutatási munka eleinte olyan elemek élettani hatásának vizsgálatával foglalkozott, amelyekről nem voltak ismereteink. Így vált ismertté a titán és a gallium növényekre és állatokra gyakorolt hatása.

1989-ben kapcsolódtam be a tanszéken folyó mikroelem-kutatásba. A titánnal kapcsolatban elért sikeres hazai és nemzetközi eredmények ismeretében, érdeklődésem egy új, eddig még alig vizsgált elem, a cirkónium irányába fordult. Ez a választás alapvetően azzal magyarázható, hogy a cirkónium a titánnal egy mellékcsoportba (IV B) tartozik, így több szempontból érdekes lenne annak meghatározása, hogy e két (rokon szerkezetű, hasonló kémiai természetű) elem kémiai és biológiai viselkedésében mennyi hasonlóság illetve különbség mutatható ki.

A tudomány fejlődése és életkörülményeink megváltozása az évek során egyre inkább arra a területre fordította figyelmünket, hogy kapcsolatot keressünk a mikroelemek és az élő szervezetet érő stresszhatások között.

Algák és élesztőtörzseken végzett kísérleteim eredményei – amelyeket 1993-ban egyetemi doktori dolgozatban foglaltam össze – biztató előjelnek tekinthetők, hiszen a titánhoz hasonlóan kedvező hatást tapasztaltam az algák fotoszintetikus színanyag-összetételében, valamint az élesztőtörzsek mikroelem-felvételében és aminosav koncentrációjában.

A Zr-ASC alacsonyabb rendű szervezetekre (algák, élesztőtörzsek) gyakorolt hatását ezúttal egy magasabb rendű, nagy gazdasági jelentőségű kultúrnövényre, a búzára terjesztettem ki.

Dolgozatomban a búza csíranövénnyel végzett kísérleteim eredményeit ismertetem.

1.1 A CIRKÓNIUM VIZSGÁLATA

Felmerülhet az a kérdés, vajon miért kell egy olyan elemmel foglalkoznunk, amelyről ugyan vannak irodalmi adatok, de ezek elsősorban geológiai szempontból vizsgálják a Zr jelentőségét. Kevésbé ismert az a tény, hogy a földkéregben az átmeneti fémek közül csak a vas, a titán és a mangán gyakoribb elem a cirkóniumnál. A földkéreg átlagosan 0,025%-a cirkónium

(250 mg/kg). A természetben előforduló cirkóniumsók, ásványok nem tulajdonítottak nagy jelentőséget, amely azzal magyarázható, hogy ezek a vegyületformák nagyrészt vízben oldhatatlan szilikát és oxid. Ezek a vegyületek mállási folyamatoknak ellenállnak, feldúsulásuk elsősorban tengerparti üledékben várható (MÜNKER et al., 2000).

A környezetvédelmi szempontokból káros emberi tevékenységek következtében környezeti elemeink (a levegő, a víz, a talaj) összetétele olyan minőségi és mennyiségi változáson mentek keresztül, amelyet nagyon nehéz kontrollálni. Tekintettel arra, hogy a Zr különböző vegyületei a talajban széles koncentráció-tartományban megtalálhatók, számolnunk kell azzal, hogy a környezeti elemek nehezen követhető kémiai összetételének változása olyan vegyületformák kialakulását teszi lehetővé, amelyek a növények számára felvehetőek s így bekerülve a táplálékláncba állat- és humánegészségügyi problémákat okozhatnak.

1.2. CÉLKITŰZÉSEK

„Azt bebizonyítani, hogy egy mikroelem esszenciális, nagyon nehéz feladat, de azt igazolni, hogy nincs élettani fontossága, gyakorlatilag lehetetlen”

(SCHWARZ, 1970)

Tíz évvel ezelőtt kezdtem foglalkozni a cirkónium aszkorbinsavval és citromsavval képezett komplexének hatásával. Ekkor zöldalgákat és élesztőtörzseket vizsgáltam. Az itt kapott biztató eredmények (ld. 2.3.2. és 2.3.3. fejezetek) inspiráltak arra, hogy tovább folytassam a vizsgálatokat.

Célom az volt, hogy megállapítsam, milyen hatással van a cirkónium-aszkorbát a magasabb rendű növények fejlődésére. Vizsgálataimat *Triticum aestivum* L. Mv. 20 búzafajtával végeztem. A Zr-ASC adagolási kísérletek során a következő kérdésekre kerestem a választ:

1. Képes-e a gyökér a Zr-ot felvenni, és az akkumuláció mellett tapasztalható-e transzlokáció?
2. Van-e toxikus hatása a cirkóniumnak a vizsgált koncentráció-tartományban?
3. A kezelés okoz-e változást a minták elemkoncentrációjában, különös tekintettel a növényélettani szempontból esszenciális mikroelemekre, s ha igen, mi magyarázhatja ezt a hatást?
4. Tapasztalható-e változás a minták aminosav-összetételében, s ha igen mi magyarázhatja ezt a hatást?

5. A Zr-ASC-nak van-e hatása a növényi anyagcsere egyik legjelentősebb folyamatára, a klorofill bioszintézisére?
6. Mérhető-e változás a minták összfenol koncentrációjában, valamint bizonyos antioxidáns hatású enzimek aktivitásában?
7. Mennyiben hasonlítható össze a Zr-ASC növényélettani hatása az ilyen szempontból már ismert mikroelemek hatásával?
8. Részt vesz-e a Zr-ASC a növény védekezési mechanizmusában, kadmiumszennyezés esetén?

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

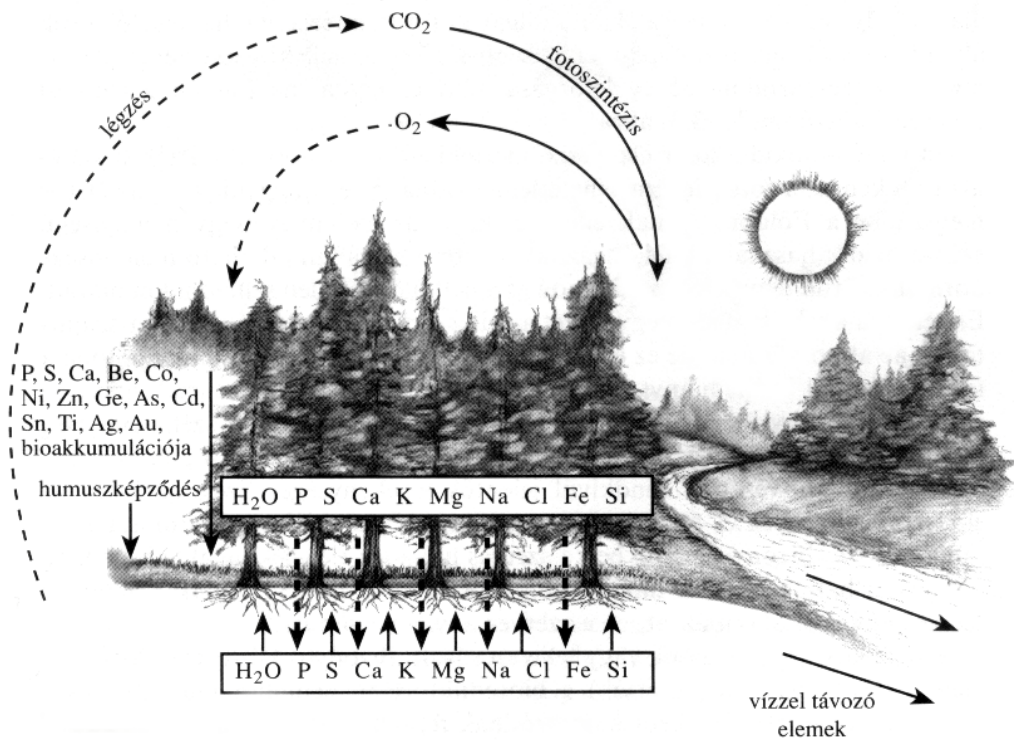
2.1. ÖKOLÓGIAI TÉNYEZŐK HATÁSA A TALAJ ÁSVÁNYIANYAG-TARTALMÁRA

A XX. század emberiségének egyik legsúlyosabb problémája a környezetszennyezés. Napjaink iparának szennyezőanyagai nemcsak mennyiségükben különböznek a megelőző időszak természetben előforduló, ásványi és biológiai anyagaitól, hanem minőségükben is: a radioaktív ásványok feldolgozása, felhasználása (ipari nyersanyag, energiaforrás, hadianyagok) következtében megjelentek, pl. a radioaktív szennyezések a talajban, vízben és a levegőben.

A vegyipar tevékenysége következtében számos elem természetben elő nem forduló vegyületeként szennyez; új szintetikus anyagok jelentek meg szennyezőként, amelyeket a természetes környezet sem fizikai, sem kémiai, sem biológiai úton nem képes ártalmatlanítani, vagy ártalommentesen befogadni; a környezeti elemek eredeti összetétele tehát megváltozott.

Az élőlények és környezetük között állandó anyagforgalom van. Az elemek a biogeokémiai folyamatok során két körfolyamatban vesznek részt: a bioszférában és az ökoszisztémában. A bioszférában játszódik le az elemek nagy biogeokémiai körforgása, az ökoszisztémában pedig az ún. lokális körforgalom; itt játszódik le a humifikáció és a mineralizáció (1. ábra)

Az elmúlt két évszázad alatt az ipari társadalmak oly módon változtatták meg a Földön a kémiai körfolyamatokat, hogy ennek beláthatatlan ökológiai és ökonómiai következményei vannak és lesznek. Itt elsősorban három tényezőnek van szerepe: az éghajlati változások következtében, valamint az erózió és a defláció hatására bizonytalanná válik az élelmiszer-ellátásunk, a légszennyezés és a savas esők erdőpusztulást okoznak és megváltoztatják a talaj kémiai összetételét, valamint a vegyi környezetszennyezés veszélyezteti az emberi egészséget.



1. ábra: Lokális anyagforgalom erdő-ökoszisztémában (MOSER és PÁLMAI, 1999)

($\longrightarrow$ biogén felhalmozódás, $\dashrightarrow$ mineralizáció)

A kiegyensúlyozott tápláléklánc (pl. az anyag-és energiaáramlás az erdő-ökoszisztémában) (1. ábra) a környezetszennyezés következtében súlyosan sérült. A zöld növények, mint egyedüli tápanyagtermelők, élettere a légkör – talaj – víz szennyeződése következtében beszűkült. Ezek az okok elsősorban hétköznapi tevékenységeinkből fakadnak. Mértékük és sebességük következtében tartósan károsítják az évmilliók során kialakult természetes rendszereket. (MOSER és PÁLMAI, 1999).

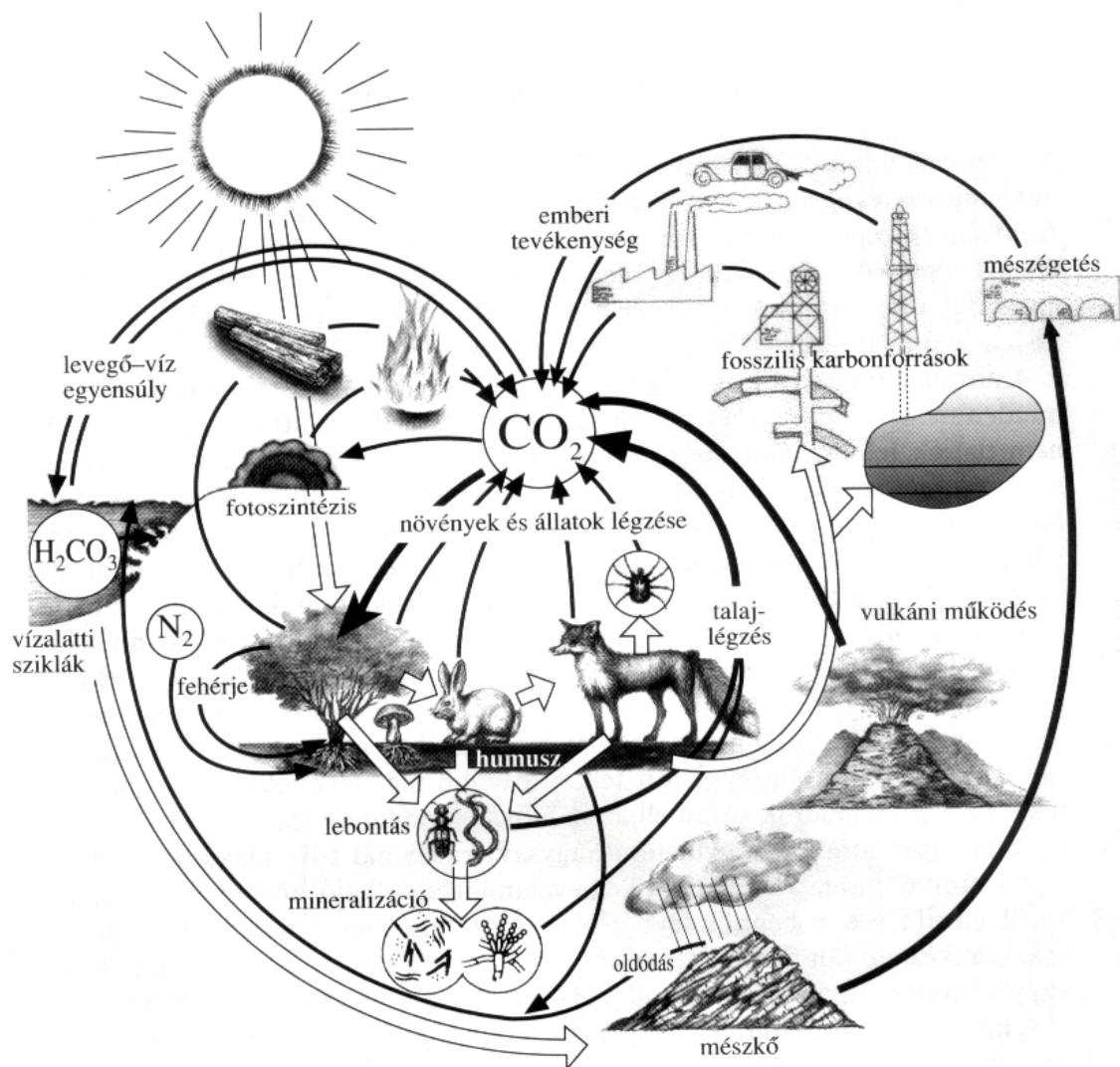
A kiegyensúlyozott tápláléklánc kialakulásában fontos szerepe van az elemek körforgásának (2. ábra), illetve ezen belül a mikroelemek biogeokémiai ciklusának (3. ábra).

A Földön az élő anyag tömegének 95%-a mindössze 6 elemből (szén, hidrogén, oxigén, nitrogén, foszfor, kén) tevődik össze. Mivel ezek az anyagok nem állnak korlátlan mennyiségben rendelkezésre, ezért dinamikus körfolyamatokban vesznek részt. Az elmúlt évtizedekben azt kellett tapasztalnunk, hogy az emberi tevékenység tartósan megzavarja ezeket a körfolyamatokat, különös tekintettel a szénre, a nitrogénre és a kénre (MOSER és PÁLMAI, 1999).

A fosszilis tüzelőanyagok elégetésével igen nagymértékben megnövekedett CO_2 -kibocsátás hatását súlyosbítja, hogy az olajfelhasználás következtében a levegő metántartalma is jelentős mértékben nőtt. A kettő együttes hatásaként kialakult az üvegházhatás, amely többek között jelentős légköri felmelegedést okoz (4. ábra).

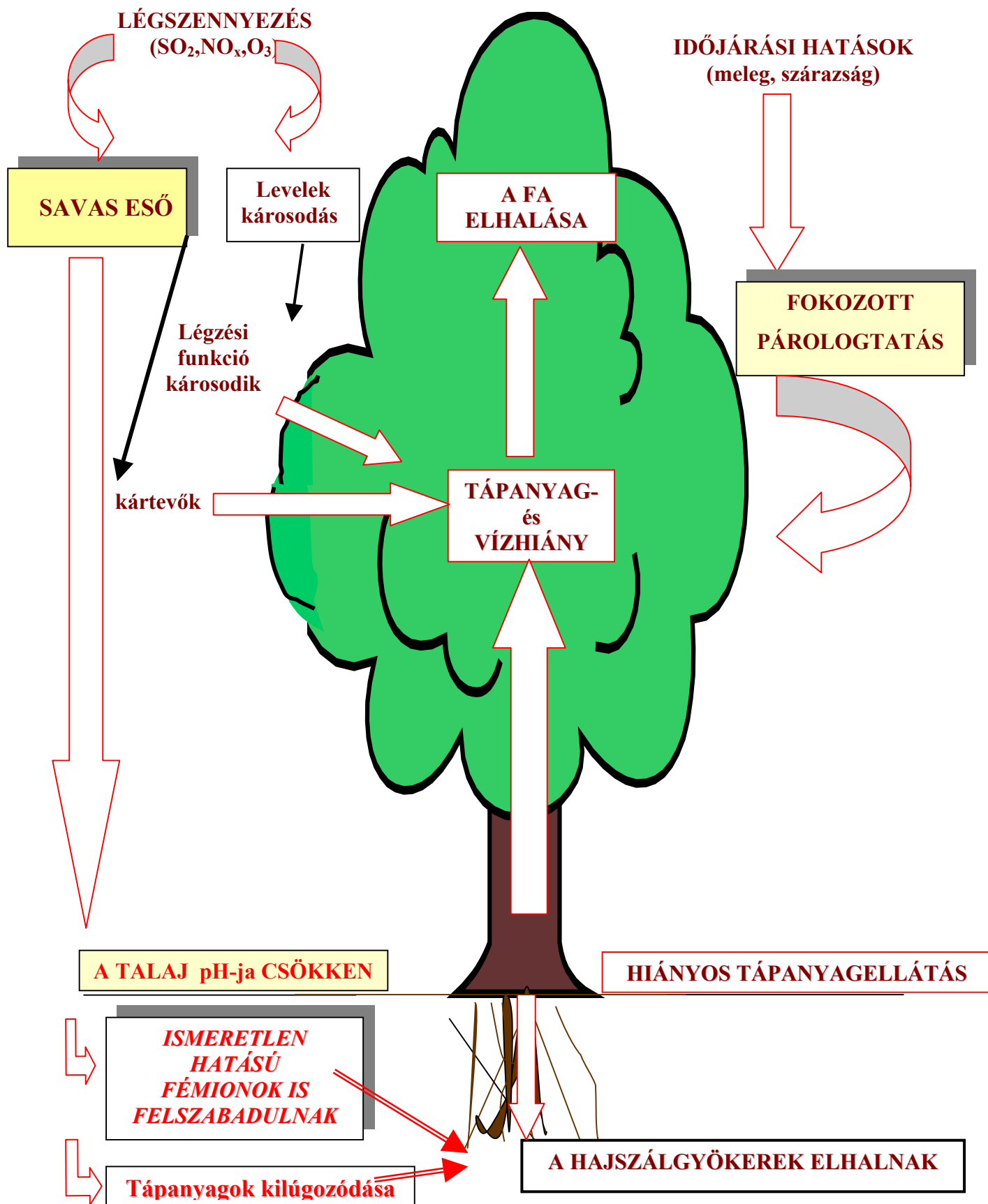
Az üvegházhatás közvetlenül és közvetve egyaránt befolyásolja az élő szervezetek ásványianyag forgalmát. A megváltozott éghajlati körülmények (hőmérséklet, csapadék) közvetlenül befolyásolják az elsőrendű tápanyagtermelő zöld növények ásványianyag ellátottságát és felvételét, míg a közvetett hatás a fogyasztók esetében észlelhető.

A felelőtlen emberi tevékenységet (fosszilis tüzelőanyagok – szén és kőolaj – elégetése, egyéb ipari és mezőgazdasági tevékenységek, a növények felégetése, az erdők kipusztítása stb) tükröző súlyos környezeti ártalom a savas eső, ami bonyolult kémiai reakciók sorozatán keresztül kén és nitrogén-vegyületekből alakul ki (5. ábra).



4. ábra: A szén körforgása (MOSER és PÁLMAI, 1999)

(→körforgásba visszakerülő szén, ⇒fosszilis alakban rögzített szén)



5. ábra: A savas ülepedés hatása a növényre (HENCSEI et al., 1998)

A savas eső – környezetromboló hatása mellett – komoly kárt okoz a talaj összetételében. A savas eső hatására lecsökken a talaj pH-értéke, s ez a folyamat jelentősen kedvez az egyébként nem vízoldható formában jelenlevő ásványianyag komponensek vízoldhatóvá válásának. Az oldhatósági viszonyok megváltozása a növények tápanyag-ellátottságára is kihat. Számos olyan elem – többek között a cirkónium is – válik a növény számára felvehető tápanyaggá, amelynek biokémiai hatásával ezidáig kevésbé kellett számolnunk. (BRESSER és SALOMONS, 1991).

2.2. A TALAJ CIRKÓNIUM-TARTALMA

A földkéreg Zr-tartalmáról megoszlanak az irodalmi adatok, 30-2000 mg/kg közötti értékekről lehet olvasni, átlagosan 250 mg/kg talajkoncentrációval számolnak. Legismertebb ásványi formája a cirkon – $4[\text{ZrO}_2 \cdot \text{SiO}_2]$ – és a baddelit – $4[\text{ZrO}_2]$ –. Általánosságban elmondható, hogy a Föld 20. leggyakoribb eleme. Az említett kristályformái mellett elsősorban szervesetlen vegyületeit találjuk meg a talajban. Koncentrációja a homokos talajban a legnagyobb (SMITH és CARSON, 1978; ANGELONE és BINI, 1992). A talajban található mikroelemek közül koncentráció szempontjából megelőzi a nikkelt, cinket, rezet és ólmot (SCHALLER, 1984).

A nagyszámú nukleáris kísérletek, valamint a különböző kisebb-nagyobb atomreaktor-balesetek miatt a természetben feldúsult a cirkónium 95 és 93 tömegszámú radioaktív izotópja. A 95 tömegszámú izotópnak 65 nap, a 93 tömegszámúnak $1,5 \cdot 10^6$ év a felezési ideje. Így számolnunk kell a talaj radioaktív Zr-koncentrációjának növekedésével. A jelenség azért is figyelemreméltó, mert a nukleáris balesetknél legnagyobb mennyiségben keletkező 95 tömegszámú izotóp igen mozgékony, s a talajba kerülő radioaktív elem mennyiségének 95%-a rendkívül gyorsan abszorbeálódik a területen található növényekben (SHAPIRO, 1993).

A Zr jellemzően +4 oxidációs számmal képez kovalens jellegű vegyületeket, de ritkább esetben +3 és +2 oxidációs számmal is megtalálható. Betöltetlen 4d pályája, kis ionsugara és magas töltése révén jó komplexképző. Komplexeit 6, 7, 8, 9 koordinációs szám jellemzi, ezek közül a leggyakoribb a 8 (PAIS és JONES, 1997). Számos szervesetlen (OH^- , F^- , PO_4^{3-} stb.) ionnal és szerves (citromsav, borkősav, tejsav, almasav stb.) molekulával képes stabil komplexet kialakítani (BLUMENTHAL, 1958; SMITH és CARSON, 1978).

Tekintettel a Zr komplexképző hajlamára és a talajban található kelátképző ligandumok jelenlétére, számolnunk kell azzal a jelenséggel, hogy a megváltozott környezeti elemek

következtében (pl. savas eső) csökken a talaj pH értéke, és fokozódik a vízzoldható Zr-komplexek kialakulásának valószínűsége.

2.3. A CIRKÓNIUM ÉLŐ SZERVEZETEKRE GYAKOROLT HATÁSA

A Zr élő szervezetekre gyakorolt hatásáról megoszlanak az irodalmi adatok. Számos cikk arról számol be, hogy a Zr-vegyületek erőteljes toxikus hatásúak, mások már csak csekély toxicitást tapasztaltak, és olyan irodalmi hivatkozások is vannak, amelyek kedvező élettani hatásról számolnak be. Ez az ellentmondás csak látszólagos, hiszen a hivatkozott kísérletekben mind a koncentráció, mind az alkalmazott Zr-vegyületek tekintetében igen sok eltérés mutatkozik.

2.3.1. Baktériumokra gyakorolt hatás

SCHARRER (1955) $\text{Zr}(\text{NO}_3)_4$ -nak cirkóniumra nézve 10^{-4} M koncentrációjú oldattal végzett kísérleteket, amely során azt tapasztalta, hogy a Zr-só hatására csökkent a fertőző baromfikolera kialakulásának veszélye, miután a Zr-vegyület gátolta a *Bacillus anthracis* szaporodását. Ugyanezen kísérlet során bizonyították, hogy az alkalmazott Zr-vegyület gátolta *Escherichia coli* triptofán $\rightarrow$ indol kémiai reakcióját, míg *Pseudomonas aeruginosa* baktériumnál növelte a piocianin pigment kialakulását.

Szerves Zr-vegyület (Zr-pirition) nagymértékben gátolta a *Staphylococcus aureus* és a *Staphylococcus albus* törzsek, kisebb mértékben az *Escherichia coli* fejlődését. Az irodalmi hivatkozás az alkalmazott koncentráció-tartományról nem tesz említést. A kísérletnél, Na-piritionnal kontroll vizsgálatokat is végeztek. Mivel a szerves vegyület esetében is észlelhető volt csekély mértékű inhibíciós hatás, ezért a Zr-piritionnak tulajdonított gátló hatásért nem teljes mértékben a Zr a felelős (TENENBAUM és OPDYKE, 1969).

Különböző állatkísérletek során az injektált Zr-só hatására megnőtt a szervezet védekező képessége a *Staphylococcus* fertőzésekkel szemben, így felvetődött annak kérdése, hogy a Zr baktericid hatása következtében nem sorolható-e az esszenciális tápelemek közé. A hivatkozás nem közli az alkalmazott Zr-vegyületnek sem a minőségét, sem a mennyiségét (SMITH és CARSON, 1978), így ezt a feltevést csak merész következtetésként szabad kezelni.

COUTURE et al. (1989) ZrCl_4 -oldat *Salmonella typhimurium* és *Escherichia coli* törzsre gyakorolt hatását vizsgálta. A táptalajt 0,01-10 mg/l cirkóniummal egészítette ki, majd a 72 óras

inkubációs idő elteltével értékelte a tenyészeteket. A vizsgált koncentráció-tartományban a $ZrCl_4$ egyik törzsnél sem fejtett ki genotoxikus hatást. Az 5 perc után mért $EC_{50} > 4,3$ értéknek adódott.

A Gram pozitív és Gram negatív baktériumok sejtfalának szerkezete és összetétele jelentős mértékben eltér egymástól. A Gram pozitív baktériumok sejtfala kelátképző vegyületekkel telt rész. A fémkomponensek és a sejtfal között feltehetően kétfázisú reakció játszódik le. A fémakkumuláció nem sztöchiometrikus arányban történik, így a mechanizmus sem magyarázható az ioncsere folyamatával. A Gram negatív baktériumok sejtfala két, kémiaiilag különböző membrán, amely két réteget vékony peptidoglikán rész választ el. A fémek döntő többsége a membrán poláros felén vagy a peptidoglikán réteg mentén kötődik. A fémek felvétele valószínűleg a szállító (carrier) elmélettel magyarázható, így a fémkomponensek aktív ionfluxus segítségével jutnak át a sejtmembránon (LEPP, 1993).

Különböző Gram negatív és Gram pozitív, mezofil, enyhén lúgos kémhatású ($pH=7,2$) közeget kedvelő baktériumfajokkal (Gram negatív: *Escherichia coli*, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida*, Gram pozitív: *Streptococcus zooepidermicus*, *Staphylococcus aureus*) végzett kísérletek során $Zr(NO_3)_4$ és $ZrOCl_2$ alapvegyületből készített aszkorbinsavas komplexek hatását vizsgáltuk (FODOR, 1993).

Phenolred-dextrose-broth táptalaj Zr-koncentrációját az alapvegyülettől függően különböző értékre állítottuk be [$0,5-200 \mu g/ml$ $ZrOCl_2$ és $0,1-30 \mu g/ml$ $Zr(NO_3)_4$]. A tenyészetek kiértékelése 96 órás inkubálási idő elteltével történtek. A bakteriosztatikus hatás jellemzésére használt MIC értéket mind az öt törzsnél nagyobbak találtuk, mind az alkalmazott maximális Zr koncentráció. A baktericid hatást vizsgálva csak a legnagyobb koncentrációjú $Zr(NO_3)_4$ -komplex ($30 \mu g/ml$) esetében tapasztaltuk a *Streptococcus zooepidermicus* törzsnél gyenge reakciót. Összegezve az eredményeket, megállapítottuk, hogy a vizsgált Zr-komplexek egyike sem rendelkezik antibakteriális hatással a vizsgált koncentrációtartományban (FODOR, 1993).

2.3.2. Gombákra gyakorolt élettani hatás

SMITH és CARSON (1978) részletes irodalmi összefoglalást közöl különböző szerves és szervetlen Zr-sók gombákra gyakorolt hatásáról. A kísérletek során alkalmazott $Zr(NO_3)_4$, $Zr(SO_4)_2$ és $ZrCl_4$ közel azonos mértékben gátolta az *Aspergillus niger* törzs fejlődését (a hivatkozás koncentrációadatát egyik só esetében sem közöl). A szerves bis(ciklo-pentadienil)-cirkónium-diklorid fungicid hatását tapasztalták *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum*, *Alternaria solani* és *Trichophyton interdigitale* törzsek esetében (a koncentrációadat ez esetben sem ismert).

Zr(NO₃)₄ és ZrOCl₂ alapvegyület felhasználásával, aszkorbinsav és citromsav segítségével előállított komplexek hatását vizsgáltuk a humán táplálkozásban felhasználásra kerülő *Saccharomyces cerevisiae* és az állati takarmányozás céljára alkalmazott *Candida utilis* törzseken. A *Saccharomyces cerevisiae* törzssel végzett lombikos kísérletek során a két különböző sónak aszkorbinsavval előállított vegyületét vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy még a maximális Zr-koncentráció (200 µg/ml) sem okozott gátlást a törzs szaporodásában. A további vizsgálatok során a ZrOCl₂ alapvegyületből és a két különböző szerves ligandumból előállított vegyületek hatása között már jelentős eltérés mutatkozott. Mindkét élesztőtörzs esetében a citromsavas vegyület már 100 µg/ml Zr-koncentrációnál határozott gátlást okozott a szaporodásban. A gátló hatás mellett jelentős Zr-akkumulációt mértünk mindkét törzsben.

Az *in vivo* bioreaktorban is végrehajtott kísérletek során a gátló hatás a kisebb Zr-koncentráció miatt nem alakult ki (50 µg/ml Zr volt a maximális terhelés). A *Saccharomyces cerevisiae* Zr-akkumulációja az aszkorbátos hordozómolekula esetén közel háromszoros volt a citrátos kezeléshez képest. A *Candida utilis* törzsnél nem találtunk ilyen jelentős eltérést a két vegyület hatása között. A minták elemösszetételében jelentős, szignifikáns növekedést regisztráltunk a Cr-koncentráció értékében. Az aminosav analízis eredményét tekintve a *Saccharomyces cerevisiae* törzsnél a triptofán, a prolin, a cisztein és a fenil-alanin koncentrációja nőtt a cirkónium vegyülettel kezelt kultúrában a kontrollhoz képest, míg a *Candida utilis* törzsnél az aszparagin, triptofán, prolin, cisztein és metionin koncentrációjában tapasztaltunk növekedést. Az összaminosav koncentrációban az aszkorbát gyakorlatilag nem okozott változást, a citrát csekély mértékű csökkenést idézett elő (NOVÁK-FODOR et al. 1992a, 1992b; FODOR, 2003).

KOSÁRY et al. (1995) Zr-aszkorbát hatását vizsgálta a *Saccharomyces cerevisiae* törzsből izolált foszfofruktokináz enzim aktivitására. Az 50%-os aktivitás gátlást magasabb Zr koncentráció idézte elő, mint az élettanilag jobban ismert fémek esetében (Cd, Ti és Cu).

2.3.3. Algákra és növényekre gyakorolt élettani hatás

SANVILLE és munkatársai (1982) a ZrCl₄, ZrOCl₂ szervesetlen sók fitoplanktonok növekedésére gyakorolt hatását vizsgálták. Éveken keresztül tanulmányozták egy mesterséges tórendszerben a cirkóniumsók hatását. Kísérleti eredményeik alapján arra a következtetésre jutottak, hogy a Zr-vegyületek gátolják a fitoplanktonok fejlődését. Ez a gátló hatás indirekt módon következik be, mert Zr közvetlenül a foszfor felvételére hat, ugyanis gátolja az üledékben található foszfor újrahasznosítását, ezáltal csökkenti a fitoplanktonok növekedését. Eredményeik alapján a kutatók elképzelhetőnek tartják, hogy a Zr-vegyületeket a talajban található foszfor mozgásának

irányítására használják fel. Következtetésükkel nem értek egyet, mert a talaj összetettebb rendszer, mint a tavi üledék, és itt a Zr-vegyületekre más fizikokémiai paraméterek hatnak, tehát más szerves vegyületek hatásával kell számolnunk a két különböző közegben.

Véleményemet alátámasztja SANZHAROVA és ALEKSAKHIN (1982) cikke, akik különböző radioaktív elemekkel (többek között ^{95}Zr) dúsított, eltérő nedvességű talajokon termesztett gabonafélék elemakkumulációját vizsgálták. Méréseik során a cirkóniumra kapták a legkisebb akkumulációs értéket (adataik nem voltak szignifikánsak), mely a cirkónium kis talaj és növénybeli mobilitására utal. Ez ugyanakkor nem mond ellent SHAPIRO (1993) 2.2. fejezetben már ismertetett eredményeinek, ahol a szerző a ^{95}Zr radioaktív izotópnak a nagy mozgékonyására és gyors abszorpciók készségére hívja fel a figyelmet. Ez az anyag a csernobili atomkatasztrófa következményeit vizsgálta, kísérleti eredményei a természetellenesen nagy ^{95}Zr -koncentrációjú (és számos egyéb radioaktív izotópot tartalmazó) talajra érvényesek (FERRAND, 2003).

SIMON et al. (1992, 2001) *Chlorella pyrenoidosa* zöldalgán vizsgálta a Zr-aszkorbát hatását. A zöldalga jelentős mértékben akkumulálta a cirkóniumot. A kezelés hatására csökkent a fotoszintetikus pigmentek koncentrációja, és új színanyagszármazékok jelentek meg a sejtkivonatokban. Néhány elem koncentrációja szignifikánsan csökkent (alacsony sejtszámnál: Ba, Ca, Fe, Mn, Ti; magas sejtszámnál: Mg, Cu, P), néhányé szignifikánsan nőtt (alacsony sejtszámnál: Co, Ni; magas sejtszámnál: Fe, Mn). Az algakísérletek során a cirkónium növekedést átló hatását nem tapasztalták.

A vízi növények Zr-akkumulációs képességét a 1. táblázatban mutatom be. (SLOWEY et al., 1965).

Magasabb rendű növények természetes cirkónium koncentrációjáról SMITH és CARSON (1978) munkája közöl érdekes adatokat (2.táblázat).

Az értékek igen szélsőségesek, és tekintettel arra, hogy a mérési módszereket nem közli a szerző, ezért inkább tájékoztató jellegűnek tartom.

1. táblázat: A vízi növények Zr-akkumulációs képessége (SLOWEY et al., 1965)

Növény	Koncentráció faktor*
Plankton	30-900
Algák	
<i>Ulva pertusa</i> (alga)	1 300
Zöldalga	64 000
<i>Porphyra</i> (vörös alga)	100-1 000
<i>Porphyra umbilicalis</i> (vörös alga)	900
<i>Corallina officinalis</i>	4 300
<i>Chondrus crispus</i>	1 000
<i>Halicondria panicea</i>	2 000
<i>Dendroda grossularia</i>	2 800
<i>Cladophora glomerata</i>	≤32 500
<i>Spirogyra crassa</i>	71 250
Egyéb vízi növények	
<i>Ceratophyllum demersum</i> (hínár)	2 120**
<i>Myriophyllum spicatum</i> (vízi cickafark)	2 680**-1970***
<i>Lemna minor</i> (békalencse)	6 170**-6930***

*A koncentráció faktor= ^{95}Zr vagy ^{95}Zr - ^{95}Nb koncentráció a növényben a víz koncentrációjához viszonyítva, **Folyóvízben mért adat, ***Állóvízben mért adat

2. táblázat: Növények természetes cirkóniumtartalma (SMITH és CARSON, 1978)

Növény	Zr koncentráció (µg/g)		
	Hamu	Szárazanyag	Nedvesanyag
Zuzmó, moszat, páfrány	22-124	-	-
Fűfélék, lágyszárúak	5-7	4-33	10
Gabona	-	0,02-1	0,08-10,33
Lucerna	58	-	-
Bab	-	6,45	0,1-8,31
Dió	-	-	1,17-3,13
Gyümölcsök	-	1,5	0,05-1,09
Ehető levelek	-	5,8-11,71	<4,64
Ehető növényi szárak	-	-	0,22-1,1
Ehető gyökerek, gumók	-	-	0,3-3,15
Tülevelűek levele	9,8-194	-	-
Tülevelűek kérge	40-70	-	-
Lombhullató fák levele	6,9-210	-	-

Mint ahogy a 2. táblázat adatai is mutatják, a növények természetes körülmények között, igen eltérő koncentrációban tartalmazzák a cirkóniumot. A pontos összehasonlítás és esetleges növényélettani jelentőség megállapítása azonban csak akkor lenne lehetséges, ha ismernénk a növények talajkörnyezetét, és a minták előkészítési módját, mert a nagy Zr-koncentráció talajszennyezés eredménye is lehet.

A talaj – tekintve, hogy elsősorban ez jelenti a növények számára a cirkóniumforrást – döntő mértékben befolyásolja a növény természetes cirkóniumtartalmát.

GORSCHAKOVSKII és NIKONOVA (1971) több mint 40 növényfaj természetes Zr koncentrációját mérte atomabszorpciós módszerrel. Mérési adataik mellett fontos információként szerepelt, hogy a növények mintavételének helyén a talajból, 80 cm mélységből is vettek mintát, és ennek Zr-koncentrációját 900-940 mg/kg értéknek mérték. Eredményeiket összegezve megállapítható, hogy a cirkónium csökkenő koncentrációban a fűfélékben, majd a zöldségekben végül a gyümölcsökben mérhető. Miután a cirkónium és a foszfor feltehetően antagonisták, a szuperfoszfátos műtrágyázás erősen hat a cirkónium felvehetőségére. A két elem közül nagyobb mértékű a cirkóniumfelvétel a sárgarépa, a spenótlevél és a paradicsom esetében; míg a burgonya (gumó), a retek, a fehérrépa (gyökér) és a karfiol esetében a foszforfelvétel a nagyobb (SANVILLE, 1982).

2.3.4. Állatélettani hatás

Halakkal végzett vizsgálatoknál egyértelműen megmutatkozott a cirkónium-foszfor antagonizmus. Miután a Zr-nak igen nagy az affinitása a foszfát csoporthoz, így egyes enzimeknél inhibítor szerepet tölt be. Ilyen, pl. az ATP-áz, a pirofoszfátáz és a vérfoszfatáz. A $ZrCl_4$ -dal végzett kísérletekben 96 óra elteltével $LD_{50} > 20 \mu g/ml$ értéket mértek (COUTURE, 1989).

SCHROEDER és munkatársai (1970) patkányokon és egereken végzett kísérleteik során $Zr(SO_4)_2$ -só élettani hatását vizsgálták. Különböző koncentrációban, valamint különböző módon juttatták az állatok szervezetébe ezt a vegyületet, és alapvetően az esetleges toxicitás megállapítása volt a cél. Sem az injektálással, sem az orálisan (ivóvízzel) bejuttatott Zr-vegyület nem okozott toxikus hatást az állatoknál. Sem karcinogén hatást, sem Zr-akkumulációt nem tapasztaltak.

Más kísérletben intravénás és intramuszkuláris radioaktív izotóp injektálásával vizsgálták, hogy az állati szervezetben milyen módon oszlik meg a cirkónium. A bejuttatás módjától függetlenül a

radioaktív cirkóniumot döntő mértékben a csontokban találták meg, majd jóval kisebb mértékben az izomzatban és a májban (SMITH és CARSON, 1978).

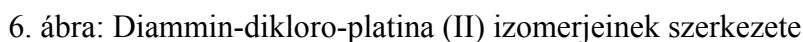
Tekintettel a talaj nem elhanyagolható cirkóniumkoncentrációjára, számolnunk kell azzal is, hogy porszenyezés következtében belégzés útján, vagy szájon át, jelentős mennyiségű Zr kerül be a szervezetbe. Erre vonatkozóan végzett patkányokon SCHIESSLE et al. (1966) radioaktív ^{95}Zr izotópot tartalmazó ZrOCl_2 -dal kísérleteket. A kísérlet eredményeként megállapították, hogy a belélegzett ^{95}Zr -nak mindössze kb. 10%-a kötődött a tüdőhöz és 15%-a a csontokhoz.

Az inhalációs úton szervezetbe jutott cirkónium toxikus hatása nagyobb, mint az orálisan felvetté. Ennek valószínűleg az az oka, hogy a bélrendszeren keresztül csekély mértékű a felszívódás. Az LD_{50} érték igen széles koncentráció tartományban mozog: $>2,5\text{-}10\text{ g/kg}$ (SCHALLER, 1984).

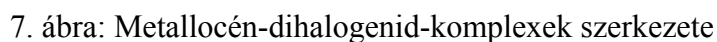
Sertésekkel és egerekkel végzett kísérletekben különböző fémvegyületek közvetlen hatását vizsgálták arra vonatkozóan, melyik okozhat allergiás bőrelváltozást. A kísérletben a közismerten allergén Ni(II) és Cr(VI) vegyületek mellett Ti(IV) és Zr(IV) hatását (ez utóbbi azért fontos, mert dezodorokban megtalálható) is vizsgálták. 1%-os oldat injektálása mind a Ni, mind a Cr esetében jelentős allergiás tünetet váltott ki, míg Ti és Zr vegyületek esetében elváltozást nem tapasztaltak. A kísérlet alapján felmerült az az ötlet, hogy a hétköznapi életben használt nikkel- és króm- tartalmú használati tárgyakat – amelyek embereknél gyakran fémallergiás tüneteket váltanak ki – a kellemetlen hatás elkerülése érdekében titán vagy cirkónium vegyületekkel kellene helyettesíteni (IKARASHI et al., 1996)

2.3.5. Humánélettani hatás

Régóta közismert, hogy a metallocén komplexek geometriai elrendeződése és biológiai hatása között szoros kapcsolat áll fenn (KÖRÖS, 1989). A vizsgált fémkomplexek kovalens kötással kapcsolódnak a biológiai makromolekulákhoz, legvalószínűbben a DNS-hez. A szterikus feltételeken túlmenően a daganatgátló fémkomplexek hatásában kinetikai viselkedésüknek is igen fontos szerep jut. A 60-as években egy biofizikai kísérletsorozat eredményeinek kiértékelése során azt találták, hogy a cisz-diammin-dikloro-platina(II) (6/a ábra) komplex sejtsztódást gátló tulajdonsággal rendelkezik, ugyanakkor, a transz izomer (6/b ábra) biológiailag inaktív (KÖRÖS, 1989).



Az eredmények azt mutatták, hogy azok a fémkomplexek, amelyekben a Cl – Cl távolság 0,330 nm körüli, antitumor hatásúak (7. ábra). Amelyekben ennél nagyobb, azoknál antitumor hatás nem volt megfigyelhető. Ezen metallocén komplexek hatását állatkísérletekben sokan tanulmányozzák (KŐRÖS, 1989).



26

kisebb távolságok miatt a titán biokompatibilisabb, mint a cirkónium, természetesebb rétegvastagságú proteoglikán alakul ki a titán implantátumnál. Mindkét fém esetében a szervezet jól reagált, kilökődési reakciót egyik implantátum esetében sem tapasztaltak

Dialitikus csontlágyulás gyógyítása során figyeltek fel arra a jelenségre, hogy a kezelést megelőzően a csontok elmeszesedett területén szövettani vizsgálatokat végezve alumíniumot, cirkóniumot és vasat mutattak ki (HAM et al., 1985). Egészséges csontoknál elvégezve a szövettani festést cirkónium jelenléte nem volt kimutatható, így bizonyítottak látták, hogy a cirkónium megjelenése és a betegség között kapcsolat áll fenn. Ezt az elméletet megerősítette a későbbiek során az a tapasztalat, hogy desferroxiaminnal kezelve a betegeket csökkent az alumínium és a cirkónium koncentrációja és ezzel egyidejűleg a klinikai, biokémiai, radiológiai és szövettani paraméterek is javulást mutattak. A kísérlet alapján bizonyítottak látszik, hogy a dialitikus csontlágyulás kialakulásánál nem csak az alumínium, hanem a cirkónium is szerepet játszhat.

BEDERKA és munkatársai (1985) vese, haj és széklet elemösszetételét vizsgálták induktív csatolású, argonemissziós vákuum spektrométer segítségével. A vesén keresztül történő anyagcserefolyamatot kelátképző vegyületekkel (EDTA) kísérték figyelemmel. A vesében 0,04 µg/g cirkóniumot mértek, mely a vizsgált személyek nagy száma (300) ellenére a kimutatási határ értékének felelt meg. Hajban átlagosan 0,290 µg/g-os értéket kaptak (a vizsgált személyek száma 960 volt, a mért értékek 0,126-0,663 µg/g között változtak). Kelátképzővel kezelve a vesét a cirkóniumkoncentráció négy beteg adatait figyelembe véve 2,9-6,92 µg/g között változott, de az értékek nem voltak szignifikánsak a kontrollhoz képest. A székletben mért cirkóniumkoncentráció átlagosan $0,032 \pm 0,007$ µg/g volt.

A legújabb kutatások a cirkóniumnak a daganatos betegségek elleni küzdelemben betöltött szerepével foglalkoznak (ZHONG et al., 2002). Szerves titánvegyületeknél (titanocén-diklorid) klinikai kísérleti stádiumban már bizonyították, hogy antikarcinogén szerepet játszanak, ugyanakkor a kémiaiailag hasonló tulajdonságú cirkónium azonos szerves formája (cirkonogén-diklorid) esetében ugyanezt a hatást nem tapasztalták. A kutatók arra keresték a választ, hogy mi okozhatja a különbséget a két vegyület biológiai aktivitása között. A megoldás a molekuláknak a vészérum protein transzferrinhez való eltérő kapcsolódásában keresendő. A titán erősen kapcsolódik a hTF-hez. A Ti-transzferrin bejut a rákos sejtekbe és receptorvezérelt endocitózist idéz elő. A cirkónium és a hTF kapcsolódásában a vas(III) okoz problémát, a két elem ugyanis egymással versenyezve próbál a hTF-hez kapcsolódni. A Zr_2hTF molekulából a Fe(III) képes a

cirkóniumot, de a cirkónium is képes a Fe(III)-t kiszorítani. A szerkezeti vizsgálatok alapján megállapították, hogy a Zr biológiai inaktivitása valószínűleg azzal van összefüggésben, hogy amikor a cirkónium az apo-hTF-ben a C-terminális részhez kötődik, az eddig vizsgált elemekhez [Fe(III), Al(III), Bi(III), Ti(IV)] képest eltérő konformációváltozás jön létre. Így a cirkónium biológiai inaktivitásának valószínűleg sztereokémiai okai (is) vannak.

2.4. A NÖVÉNYEK ÁSVÁNYIANYAG-FELVÉTELE

A növények az életfolyamataikhoz szükséges ásványi anyagokat elsősorban a talajból veszik fel. Miután minden más szervezet a növény közvetítésével jut az életműködéséhez szükséges makro- és mikroelemekhez, a talaj ásványianyag összetétele kulcsfontosságú az elemek bioszférába kerülésének szempontjából.

A tápelemek felvétele és asszimilációja a növényélettan egyik központi jelentőségű területe (VÁRALLYAI et al., 1994).

A talajban különböző kémiai formában jelenlevő fémeket a növény a vízfelvételhez kapcsolatosan a gyökérzetten keresztül felveszi, és bonyolult, sok esetben még nem minden lépésében tisztázott folyamattal transzportálja a hajtásba.

2.2.1 A mikroelemek a talajban

A tápanyagokat a növény természetes körülmények között a talajból veszi fel. Számos talajtípus ismeretes, és ezek mindegyike fizikai, kémiai és biológiai szempontból egyaránt komplex rendszer. A talaj három fő egységre osztható:

- A szilárd fázis, amely szervetlen és szerves komponensekből áll; szerepét tekintve tápanyagtároló, „éléskamra”
- A folyékony fázis (talajoldat), itt játszódnak le a biológiai, kémiai és fizikai folyamatok; szerepét tekintve reakciótér és tápanyagszállító
- A gázfázis (talajlevegő), ez teszi lehetővé az oxigén és nitrogén beáramlását, valamint a szén-dioxid távozását (LOCH és NOSTICZIUS 1992).

A talaj szervesetlen és szerves alkotói

A talaj tápanyag-raktározó képessége az agyagásványok és a humuszanyagok azon tulajdonságán alapszik, hogy felületükön az ionok megkötődhetnek. A talajban a szervesetlen és szerves alkotók egy része – méretüknél fogva – a kolloid tartományba tartozik. Ezek egy része erősen kötve, a növények számára hozzáférhetetlen formában, egy része a talajkolloidok felületén, a növény számára közvetetten (kimosástól védve) felvehető formában, más része szabad ionként, a növény által közvetlenül felvehető (könnyen kimosódó) formában található.

A talajban a szervesetlen és szerves, valamint az ezek kapcsolódásával keletkezett szerves–ásványi kolloidok meghatározó fontosságúak a különböző nehézfémek és egyéb kationok adszorbeálásában (FILEP, 1988). A szerves kolloidok amorf anyagok, ide tartoznak a humusz és nem humusz jellegű szerves kolloidok (pl. poliszacharidok). Mennyiségük az ásványi kolloidokhoz képest jóval kisebb, de ugyanakkor rendkívül jelentősek, mert ezek a vegyületek vesznek részt a talaj szerkezetének kialakításában, valamint a víz- és tápanyagellátásban. A szerves–ásványi kolloid komplexek kialakulása azzal magyarázható, hogy a talajban a szerves és ásványi alkotórészek különböző erősségű kapcsolatban állnak egymással.

A mérsékelt égövi talajokban, így a Magyarországon találhatóokban is, a talajkolloidok töltése túlnyomórészt negatív, ezért a kationadszorpció a jellemző. Az anionok kötődése csekély, emiatt ezek könnyen kimosódnak.

A talaj szervesanyag-tartalma származhat a mezofauna és a mikroorganizmusok maradványaiból, valamint a nem humusz és humusz anyagokból. A talaj humusztartalma elsősorban a növényi maradványok lebomlásából származik. Összetételét tekintve fulvósavak, huminsavak és humin alkotják (STEFANOVITS, 1981; FILEP, 1987).

A talajban található komplex molekulák

A talajban található szerves vegyületek nagy része komplexképző ligandum, s mint ilyenek, központi szerepet töltenek be abban a folyamatban, amely során a talaj fémtartalma a növények számára felvehető formává alakul. A tápanyag-ellátottság szempontjából a legfontosabb ligandumok a következők (BOHN et al., 1985):

- Dikarbonsavak (oxálsav, fumársav)
- Alifás hidroxisavak (citromsav, borkősav)
- Aromás hidroxisavak (szalicilsav, galluszsav)
- Dihidroxibenzolok (pirokatechin, hidrokinon)

- Polifenolok (pirogallol, floroglucin)
- Aminosavak, savamidok
- Fulvó- és huminsavak

A felsorolt vegyületek elsősorban kelátképző ligandumok, de ezenkívül egyszerű komplexek kialakítására is képesek. A talajban számos, ismeretlen szerkezetű komplex is kialakulhat elsősorban azoknak a ligandumoknak a részvételével, amelyek többféle funkciós csoportot tartalmaznak.

A talajok egyik legösszetettebb, komplexvegyületek kialakítására igen nagy hajlandóságot mutató vegyületei a fulvó- és huminsavak. Ezek összetétele nem egységes, ezért is beszélünk mindig általánosságban ezekről a vegyületekről. Különböző stabilitású komplex vegyületeket alakítanak ki a talaj fémkomponenseivel, s az irodalmi adatok azt támasztják alá, hogy a huminsavak stabilabb komplexkötést képeznek, mint a fulvósavak (CSATHÓ, 1994).

A leírt komplexképződési folyamatok olyan összetett, vízzoldható vegyületek kialakulását eredményezik, amelyek könnyen mozognak a talajban, és alkalmassá teszik a fémiont a növény gyökerén keresztül való felvételre (STEFANOVITS, 1977).

2.2.2. Elemtranszport a talajból a gyökérbe

A növények ásványianyag és tápelem szükségletüket a talaj természetes, valamint mesterségesen, trágyázással bejuttatott tápanyagaiból fedezik, amelyek a gyökéren keresztül jutnak a növényi szervezetbe. Tápelem–ellátottság szempontjából a levélen keresztüli felszívódás lehetősége nem jelentős. A növények gyökéren keresztüli tápanyagfelvétele aktív és passzív folyamatokban valósul meg. A passzív folyamatok a fizikai törvényszerűségek alapján játszódhatnak le, mint pl. a diffúzió és az ioncsere folyamatok.

Az aktív tápanyagfelvétel specifikus szállítók segítségével valósul meg; ezek a szállítók (carrier-ek) teszik lehetővé, hogy a növény koncentrációkülönbség ellenére is tudjon ionokat felvenni a talajból. A szállító molekula ionokra szelektív kötőhelyekkel rendelkezik, így egyben a szelektív tápanyagfelvétel is megvalósulhat. A szállító és az ionok kapcsolódásával létrejött rendszer képes a membránon áthatolni, a membrán belső felületén az ion elválik a szállító molekulától és bejut a sejt belsejébe. Az inaktiválódott szállító az anyagcsere-folyamatokban regenerálódva képes újra aktívan részt venni a tápanyagszállításban (STUMPF és CONN, 1980).

A gyökéren keresztüli tápanyagfelvételt legnagyobb mértékben a talaj, a vízellátás és a növényfajok, fajták tulajdonságai befolyásolják.

A talajtulajdonságok között alapvető fontosságú az oldható vegyületek mennyisége, amelyet a talaj kémhatása szabályoz. A mikroelemek (a molibdén, króm, bór kivételével) savanyú talajban oldódnak nagyobb mértékben, de ugyanakkor a túlzottan savanyú közeg toxikus mikroelem-felhalmozódást okozhat (pl. Mn). Rossz szerkezetű talajokban az átmeneti levegőtlenség kedvezőtlen oxidációs-redukációs folyamatokat indukálhat, ilyen esetben fordulhat elő a Fe^{3+} és magasabb oxidációs számú Mn ionok redukciója Fe^{2+} illetve Mn^{2+} formákká. A redukált forma a növény számára könnyebben felvehető, így a kedvezőtlen talajkörülmények miatt várhatóan toxikus szintűvé koncentrálódik e két elem a növényben (GRIGNON, 1991; RUBINSTEIN és LUSTER 1993).

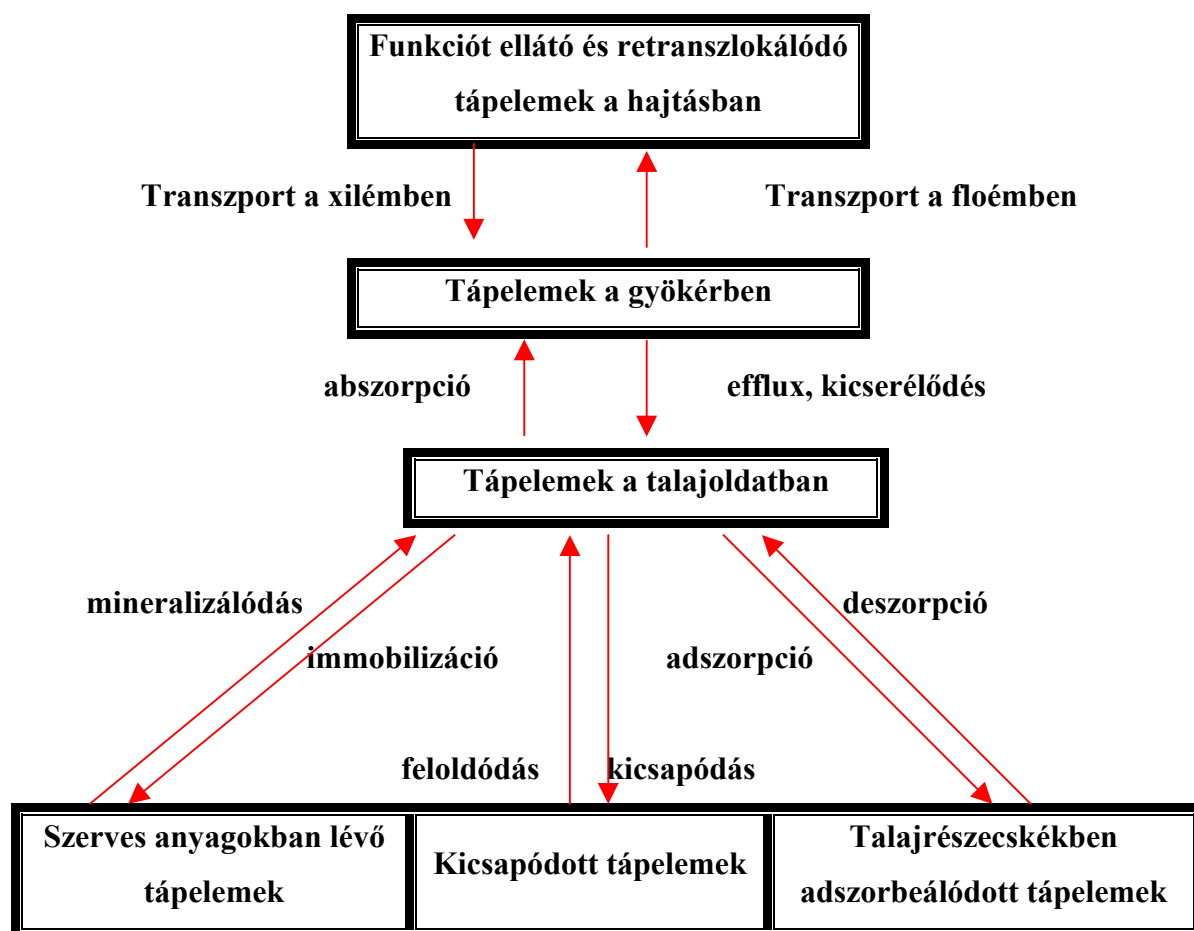
A talajban található K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} és NH_4^+ ionok közötti antagonista hatás miatt egyes ionok túlsúlyba kerülhetnek, s ez visszaszoríthatja, gátolhatja a kisebb koncentrációban jelenlevő ionok felvételét.

A tápanyagfelvételt az ionok talajbeli mozgása is befolyásolja. Ez az elsősorban tömegáramlás és diffúzió útján megvalósuló mozgás, alapvetően a növény makroelem-ellátottságában játszik szerepet. Az ionok mozgása a talajban csak megfelelő nedvességtartalom esetén lehetséges. A nedvességtartalom nemcsak az ionok mozgásában, hanem azok oldhatóságában, diffúziójában és oxidációs-redukációs folyamataiban is szerepet játszik.

A tápanyagfelvétel természetesen alapvetően a növény fajtájától függ, hiszen a tápanyagigényt a növény morfológiai és fizikai tulajdonságai egyaránt befolyásolják. A tápanyagfelvétel döntő mértékben a gyökércsúcsokon található gyökérszőrkön keresztül történik. Minél nagyobb a gyökérzet kiterjedtsége, annál nagyobb a gyökér aktív felülete, így értelemszerűen a tápanyagfelvevő felület is nő (LOCH és NOSTICZIUS 1992).

A fémionok növényi felvételéről különböző elméletek születtek (CSATHÓ, 1994). Ezek közül azok tűnnek valószínűnek, amelyek feltételezik, hogy a fém-kelát komplexek versenyeznek a gyökér aktív felvételi helyeiért. Az elméletet elfogadva a gyökérzetet olyan hengerként lehetne elképzelni, amely ioncserélő helyekkel van borítva, valamint a kelátképzők és egyéb fémek oldatával van megtöltve. A tápanyag mozgását a talaj $\rightarrow$ gyökér $\rightarrow$ hajtás irányban a 8. ábrán mutatom be.

A tápanyagfelvételben jelentős szerepe van az apoplasztnak¹. Az itt található negatív töltésű csoportokon megkötődő többértékű kationok részben raktározódnak, részben folyamatos kicserélődésben vannak a talajoldattal.



8. ábra: A talaj-növény rendszerben lejátszódó folyamatok és kölcsönhatások (LÁNG, 1998)

Az adszorpció és a sejten belüli diffúziós folyamatok folyamatosan távolítják el a gyökér környezetéből az ionokat, s juttatják a növény magasabb részeibe. A folyamatos ioneltávolítás miatt a gyökér közvetlen közelében tápanyaghiányos zóna alakul ki, amely a gyökér felé irányuló diffúziót indukál a talajoldatban.

A gyökerekben számos olyan kis molekulatömegű, elsősorban szerves anyag képződik, amelyek a sejtől kikerülve az apoplasztba, majd az epidermiszen keresztül a talajba jutnak. Így alakul ki a rizoszféra, a gyökér által befolyásolt és szabályozott talajzóna, amely jelentős mértékben segítheti a növények ásványianyag-felvételét. Ezek a kis molekulatömegű vegyületek elsősorban

¹ apoplaszt = sejtfaalak összessége, szimplaszt= a plazmodezmákkal összekötött citoplazmarendszer

szerves savak, közülük is a citromsav érdemel figyelmet, ez ugyanis rendkívül hatékonyan szabadítja fel a foszfort meszes talajban, s hasonlóan hat egyéb jelenlevő, meszes talajban nehezen oldódó fémre, így a Zr-ra is. A talaj tápanyaghiánya serkenti a gyökérből a szerves anyag leadását. A citromsav elsősorban az egyszikűekre jellemző (kivétel gabonafélék) rizoszféravegyület, míg a gabonafélék esetében fitosziderofor vegyületeket tartalmaz a rizoszféra. Ezek aminosav származékok (mugeinsav), melyek a talajban található átmeneti fémeket mobilizálják (Cu, Zn, Mn). Kelátkomplexbépző ligandumként lépnek reakcióba a fémekkel, így, bár még nem bizonyított, de feltételezhető, hogy szerepük lehet a növények mikroelem-felvételében (CANNY, 1995; LONERAGAN, 1997).

A növények fém-akkumulációja sok tényező függvénye. A fémek felvétele történhet erős, nagy stabilitású kelátkomplex formájában, amelynek stabilitása olyan nagy, hogy a fém gyakorlatilag változatlanul jut a gyökérből a levelekbe (vashoz hasonló fémek). Lehetőség van arra is, hogy a fémek oldott állapotban maradnak, és a kelátok nem befolyásolják mozgásukat (cinkhez és mangánhoz hasonló fémek). Vannak olyan fémek, amelyeket a foszfátok kicsapnak, és a kelátokkal keveredve csapadékot alkotnak a gyökérzet ioncserélő felületén (ólomhoz hasonló fémek). A felsorolt lehetőségeken kívül természetesen még más felvételi és transzlokálódási módok is előfordulhatnak (CANNY, 1995; LONERAGAN, 1997).

A fémek eltérő tulajdonságai miatt a fémeket olyan szempontból is szokták csoportosítani, hogy a talajban rendelkezésre álló mennyiség milyen mértékben jut a növénybe. Az általam vizsgált cirkóniumra CSATHÓ (1994) összeállításában közölt adatok szerint az a jellemző, hogy a növény kismértékben veszi fel, így mennyisége lényegesen nagyobb a talajban, mint a növényben. Ebből a szempontból a cirkóniummal közös csoportba tartozik többek között a króm, a nikkel és a vas.

2.2.3. Transzlokáció a növényben

A sejteket és a sejtrészeket borító szemi-permeabilis (féláteresztő) membránokon keresztül diffúzióval is történhet az anyagtranszport, de a létfontosságú elemek szállítása a már korábban említett szállító molekulák segítségével zajlik. Emiatt ez utóbbit közvetített transzportnak is nevezik. Amennyiben a felvett anyag kémiai módosulást nem szenved, a közvetített transzport aktív és passzív formában játszódhat le. A passzív transzport a külső és belső koncentráció kiegyenlítéséig tart, az aktív azonban akkumulációhoz vezet. Mikroelemek szempontjából ez rendkívül fontos jelenség, mert az aktív közvetített transzport segítségével a növények jelentős mértékben képesek a mikroelemeket feldúsítani (KINDL és WÖBER, 1975).

Az anyagfelvétel szempontjából a gyökér–epidermiszsejtek, a kéregrészt sejtjeinek módosulása a megnyúlás során, a központi henger és a kérget elválasztó sejtréteg, valamint a szállítópályák kialakulása a gyökér legfontosabb szerkezeti elemei (LONERAGAN, 1997).

A gyökérbe bejutott ionok egy része a felvétel helyéről vagy az osztódó sejtekhez, vagy a xilémbe transzportálódik a vízáramlás segítségével. A gyökér anyagfelvételének és a gyökéren keresztül a hajtásba történő szállításnak mechanizmusa, alapvetően a gyökér morfológiájától függ. Tekintettel arra, hogy dolgozatomban nem elsősorban növényélettani területtel foglalkozik, erre a témára nem térek ki részletesen.

A gyökérben két aktív felvételi mechanizmus működik: az egyik szabályozza a gyökérbe való bejutást, a másik a gyökértől való továbbítást. Vitatott kérdés, hogy a növényen belüli iontranszport történhet-e vízáramlással, passzív mechanizmussal. Számos érv szól mellette és ellene, de az bizonyított, hogy a talajoldat kis mennyisége bejuthat a szállítópályákba az oldalgyökerek áttörésénél. Ezzel magyarázzák a mérgező nehézfémek hajtásban való megjelenését. Az anyagtranszport nem egyirányú folyamat, az anyagok cirkulációját (gyökér → hajtás) és recirkulációját (hajtás → gyökér) a hajtás és a gyökér növekedése befolyásolja. A makro- és mikroelemek recirkulációja mennyiségüknek megfelelően nem azonos, a recirkuláció jelensége alapvetően a makroelemek esetében figyelhető meg (KINDL és WÖBER, 1975; ZIMMERMANN és DAINY, 1974).

2.5. A NÖVÉNY ÉS A STRESSZ

Mint minden élő szervezet, így a növények is számtalan olyan környezeti terhelésnek vannak kitéve, amelyek fejlődésüket befolyásolják.

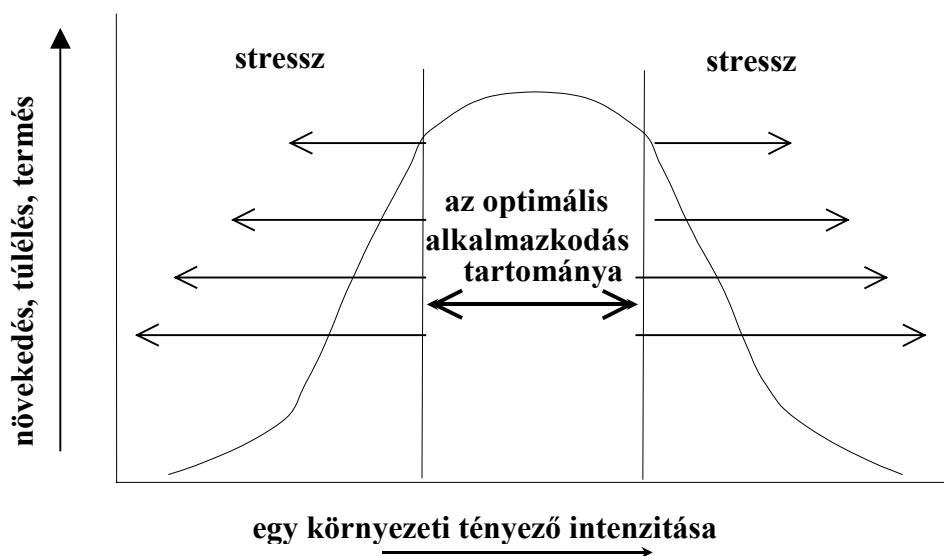
Az emberi tevékenység következtében a szárazföldi területek jelentős része károsodott, a növények számára a körülmények kedvezőtlennek váltak. A levegő, a talaj, a víz összetétele olyan mértékben eltér a vegetáció optimális feltételeitől, hogy az már a vegetáció súlyos károsodását okozhatja (SATO et al., 2004; XUE et al., 2004, KATERJI et al., 2004).

Bizonyos körülmények között a növények alakjukkal, szerveikkel, anyagcsere-folyamataikkal képesek alkalmazkodni a különleges körülményekhez is (pl. északi vidéken élő növények fotoszintézisének és légzésének sokkal alacsonyabb a hőmérsékleti optimuma). Az adaptációs változások azt eredményezik, hogy a növények élőhelyeik különleges feltételei közt is képesek növekedni, fejlődni.

2.5.1. A stressz fogalma, a stressz szindróma, a stresszválasz

A stressz egy olyan terheléses állapot, amelyben a növénynek szembeni fokozott igénybevétel a funkciók kezdeti destabilizációját követően egy normalizálódáson át az ellenállóság fokozódásához vezet, majd a tűréshatár túllépésekor tartós károsodást vagy pusztulást is okoz (LARCHER, 1994).

A stressz a növények szempontjából gyakorlatilag ugyanazt jelenti, amit a köznyelvben is: fokozott megterhelés és az ennek következtében fellépő élettani alkalmazkodás (9. ábra)



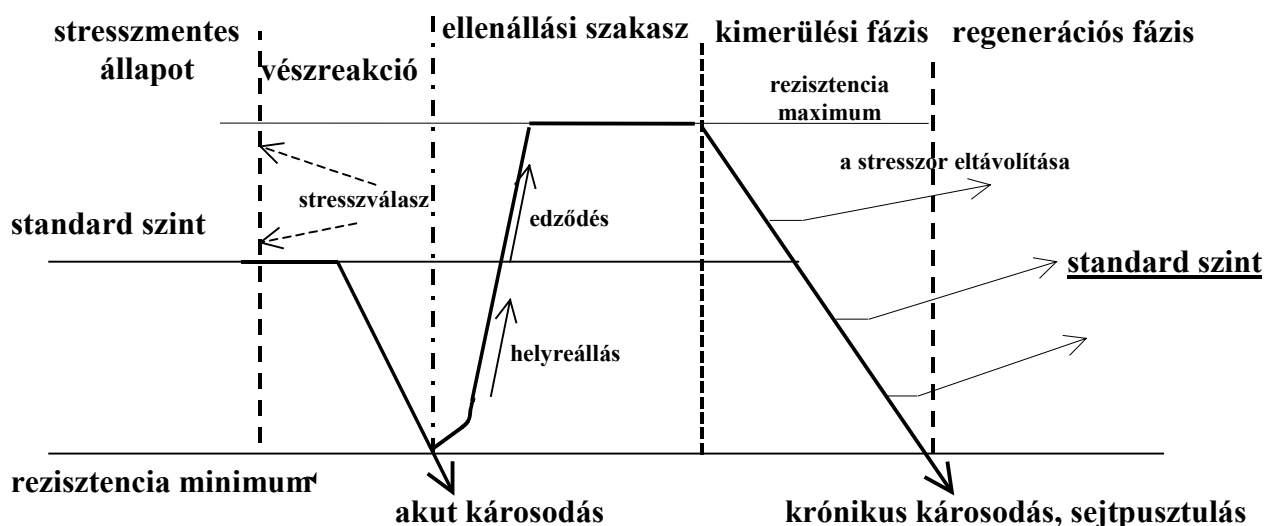
9. ábra: A növények egyes élettani funkcióinak változása a környezeti tényezők intenzitásának függvényében (LÁNG, 1998)

A szakirodalom *stressz*ornak nevezi azt a hatást, ami a növény fiziológiájában olyan változást okoz, amely élettani alkalmazkodásra készíti a növényt.

A stresszor hatására a növényi szervezetben jellegzetes folyamatok sorozata játszódik le, ezt az egymással összefüggő, több lépésből álló folyamatot *stressz szindrómának* nevezik. A stressz szindrómában megfigyelhető fő szakaszokat a 10. ábra mutatja be.

Az első fő fázis a *vészreakció*, amely során a stresszor hatására a normálistól eltérő életműködést észlelünk, miközben csökken a növény vitalitása, az anyagcserefolyamatokban a lebomlási folyamatok jellemzőek. Ha ezek a folyamatok elérik, vagy túllépik az ellenállás minimumát, akut károsodás lép fel. Amennyiben a növény „túléli” az első szakaszt, akkor következik a második fázis, az *ellenállás stádiuma*. Ebben a szakaszban a növény alkalmazkodással helyreállítja a normális állapotot, vagyis a növényi életfunkciók normálissá válnak, a növény edzettebbé válik.

Amennyiben a stresszhatás továbbra is fennáll, a harmadik szakaszba, a *kimerülés* fázisába kerül a növény. Ekkor az alkalmazkodó képességet meghaladó stresszhatásra a növény életfunkciói folyamatosan romlanak, bekövetkezik a növény krónikus károsodása, határesetben a növény pusztulása.



10. ábra: A stressz szindróma (LÁNG, 1998)

A környezetből érkező bármilyen hatás elsődleges támadási és érzékelési pontja a sejtmembrán. Ennek összetétele és működése rendkívül szenzitív a hőre, víz- és tápanyag-ellátottságra, pH-ra, redoxviszonyokra, egyéb környezeti tényezőkre. A stresszorok a membránon áthaladva kerülnek összefüggésbe az anyagcsere-folyamatokkal, így a membránok a stresszhatás szenzoraiként működnek.

2.5.2. A stressztípusok csoportosítása

A növényre ható stressztényezőket több szempont alapján csoportosítják. Szokás *természetes* és *antropogén* faktorról beszélni. A természetes faktorkok közé sorolják a hő, fény, só, ásványi tápanyag rendellenes mértékét, míg antropogén faktorként tartják számon a növényvédő szerek, légszennyező anyagok, savas eső, fokozott UV-sugárzás, nehézfémek stb. hatását.

Miután a természetes és antropogén faktor nem mindig választható el élesen, véleményem szerint célszerűbb a *biotikus* és *abiotikus* stressztényezők fogalmának használata. A biotikus tényezők közé tartoznak a növényi paraziták okozta hatások valamint az állatok rágcsálása miatt fellépő stresszhatás. Minden egyéb paramétert (pl. hő, fény, nehézfém stb.) abiotikus tényezőként tartják számon.

Kísérleteim során Zr-ASC komplex hatását vizsgáltam, ezért dolgozatomban az abiotikus tényezők közül részletesen a nehézfém–stressz és a valamennyi stressztényező közös hatásaként bekövetkező oxidatív folyamatok elméleti hátterével foglalkozom.

2.5.2.1. Abiogén és biogén stressztényezők

Az abiogén stresszek leggyakoribb formái:

- hőmérsékleti stressz
 - hőstressz
 - hidegstressz
 - fagystressz
- szárazságstressz
- fénystressz
 - látható fény → fény- és árnyéknövények
 - UV-A (320-400 nm) sugárzás (flavoproteinek károsodnak)
 - UV-B (280-320 nm) sugárzás (proteinek károsodnak)
- környezetszennyezés okozta stressz :
 - nitrogén-oxidok → HNO_2 és HNO_3 képződik
 - kénvegyületek → HSO_3^- és SO_3^{2-} képződik
 - ózon → $\text{O}_2^{\bullet-}$, $\text{OH}^{\bullet}$ és $\text{HO}_2^{\bullet}$ reaktív gyökök
 - nehézfémek (Cd, Pb, Hg, Cu stb.)
- növényvédelemben használt szerek

A biogén stresszek leggyakoribb formái:

- baktériumok
- gombák
- vírusok (GOODMAN, 1991)

2.5.2.2. Nehézfém–stressz

A nehézfémek közül a réz, a mangán, a molibdén és a vas az, amelyik minden növény számára esszenciális, míg a kobalt és a nikkel csak egyes növénycsaládok (és mikrobák) esetében számít esszenciális elemnek.

Az esszenciális nehézfémek mindegyike egy-egy optimális koncentráció tartománnyal jellemezhető. Ez az optimum érték elemenként és növényfajonként más és más. Amennyiben az elemek koncentrációja nem éri el, vagy meghaladja a rájuk jellemző optimális értéket, mindkét esetben stresszhelyzettel kell számolnunk (LARCHER, 1994).

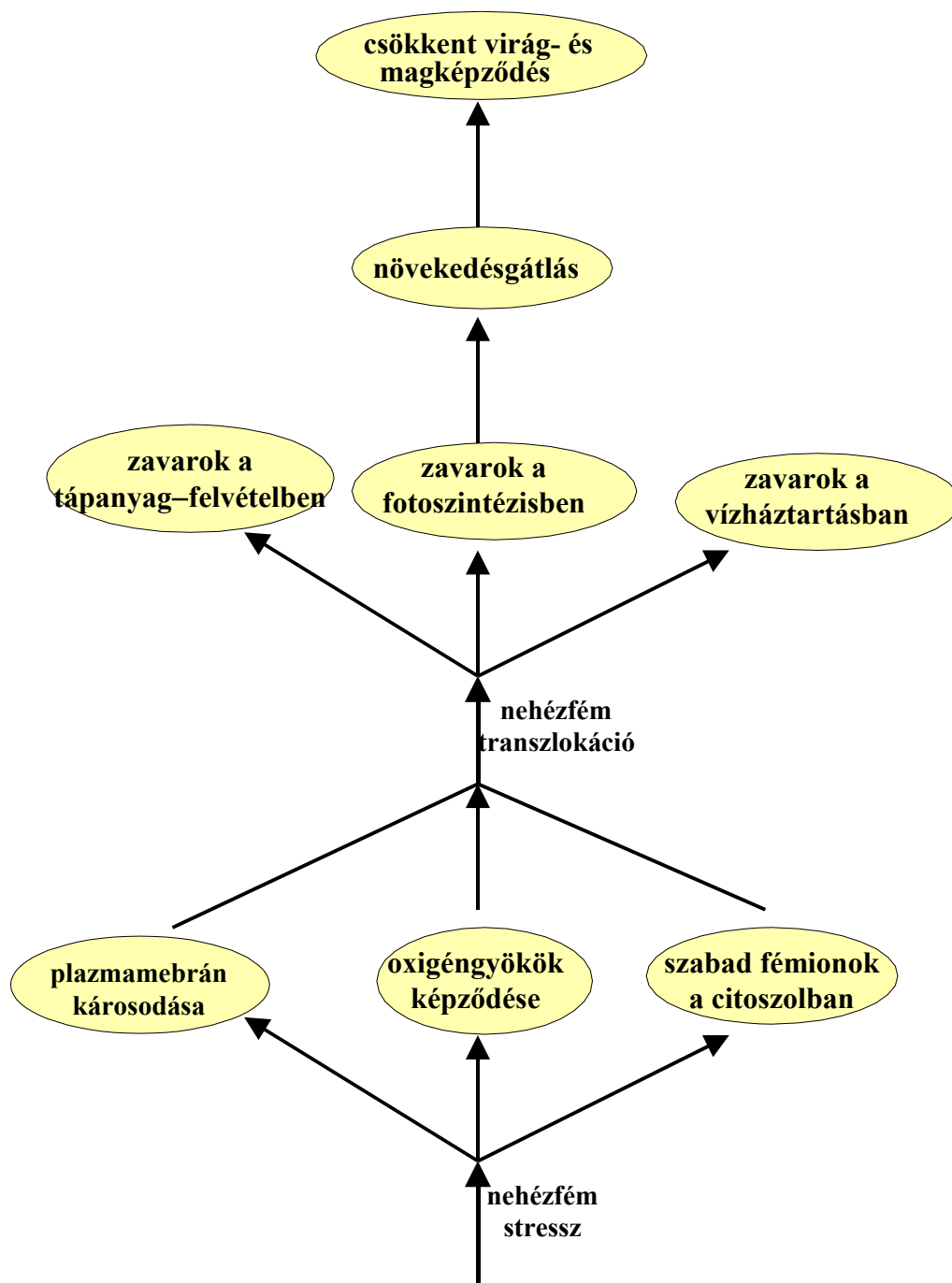
Az általam vizsgált cirkónium jelenlegi ismereteink szerint nem tartozik az esszenciális mikroelemek közé, ezért hiánya nem okozhat stresszhatást, csak esetleges toxikus hatásával kell számolnunk.

A talaj összetétele önmagában nem mond semmit annak várható növényélettani hatásáról, toxikusságáról vagy éppen hatástalanságáról. A nehézfém csak abban az esetben tud bármilyen (serkentő vagy gátló) hatást gyakorolni a növényi anyagcsere-folyamatokra, ha a növény számára felvehető formában van jelen.

Különböző abiotikus tényezők együttes hatására a talaj nehézfémjei olyan kémiai formává alakulhatnak, amelyet a növény már fel tud venni. Ilyen abiotikus tényezők a talaj pH-értéke és ennek változása, pl. a savas eső következtében, a redoxpotenciál-viszonyok változása, a fém ionos formája, vízdoldhatósága, komplexképző hajlama stb. A fémek felvehetőségét biotikus tényezők is befolyásolják. Ilyen biotikus tényező maga a talaj és a növény is, amely anyagcsere-folyamatai révén olyan szerves anyagokat – elsősorban szerves savakat - képes a talajba juttatni, amelyek a felsorolt abiotikus tényezőket képesek befolyásolni. Ezek a vegyületek a talaj pH-értékének megváltoztatása mellett elsősorban komplexképző ligandumként lépnek reakcióba a talaj fémkomponenseivel, s alakítják azokat a növény számára felvehető kémiai formává (NIELSEN és ORCUTT, 1996). Ezzel a témával részletesen a 2.2.1. fejezetben már foglalkoztam.

A nehézfém–stressz lehetséges hatásai (11. ábra)

- Egyes fémek gátolják más elemek gyökér általi *felvehetőségét*. Ez a hatás elsősorban olyan elemeknél várható, amelyek felvétele hasonló módon történik. Ezt feltételezik a Cd és a Cu, valamint a Zn esetében is (KABATA-PENDIAS és PENDIAS, 1984).
- Feltételezhető, hogy a fém *autooxidációja* vagy a hidrogén-peroxiddal való reakciója szabad gyökök keletkezését segíti, s ezáltal *oxidatív stresszhatást* idéz elő (Hg, Pb, Cu, Cd)
- A kórosan megnövekedő nehézfém koncentráció számos *enzim működését gátolhatja*. Ennek hátterében az áll, hogy a stresszhatást okozó fém az enzim működésében szerepet játszó fémet kiszorítja, ezáltal gátolja, szélsőséges esetben teljesen blokkolja az enzim működését (VAN ASSCHE és CLIJSTERS, 1990). Hogy melyik nehézfém melyik fémen keresztül fejt ki enzimgátló hatást, általában *in vitro* kísérletekben vizsgálták, de a fémstressz okát *in vivo* nehéz bizonyítani (KÖRÖS, 1980).



11. ábra: Nehézfém-stressz hatására fellépő károsodások növényeknél (CSATHÓ, 1994)

Tekintettel arra, hogy munkám során olyan kísérleteket is végeztem, amelyben a tápoldat kadmiumot is tartalmazott, ezért röviden ismertetem a kadmium növényekre gyakorolt hatását is. A Cd a gyökér és a hajtás növekedését jelentős mértékben gátolja, amelynek oka lehet többek között a turgorpotenciálra és a sejtfal rugalmasságára gyakorolt hatás. A Cd-kezelt növények sztómái zártak, emiatt a transzspiráció gátolt. Gátlódik továbbá a növények vízfelvétele és a víz

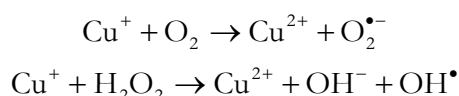
mozgása, ezáltal a tápanyag-transzport is csökken. A kadmium károsítja a membrán-rendszert, ami egyrészt azzal magyarázható, hogy kapcsolódik a membránban található fehérjék funkció-csoportjaihoz, másrészt gátolja a zsírsav-szintézist, amelynek következtében megváltozik a lipidösszetétel, s emiatt nő a membránok permeabilitása (MILONE et al., 2003).

Gátolja a klorofill bioszintézisét, így a növényen klorotikus tünetek jelennek meg (KRUPA, 1999).

A kadmiumra számos esszenciális mikroelem (Zn, Cu, Mn, Fe) antagonista hatást gyakorol (BINGHAM et al., 1975; PATEL et al., 1980).

2.5.2.3. Oxidatív stressz

A stresszkutatások alátámasztották, hogy szinte valamennyi növényi stresszor, így a nehézfémek is, a sejten belüli redoxállapotot változtatják meg és az anyagcserét az oxidatív irányba tolják el. A stresszhatás következménye, hogy a növényben reaktív oxigénformák halmozódnak fel, – pl. a hidroxilgyök ($\text{OH}^\bullet$), a szuperoxid-anion ($\text{O}_2^{\bullet-}$), valamint a hidrogén-peroxid (H_2O_2) - amelyek káros biológiai folyamatokat idéznek elő, s ezáltal oxidatív stresszt okoznak (ELSTNER, 1982). Réz esetén pl. az alábbi reakciótermékek keletkezhetnek:

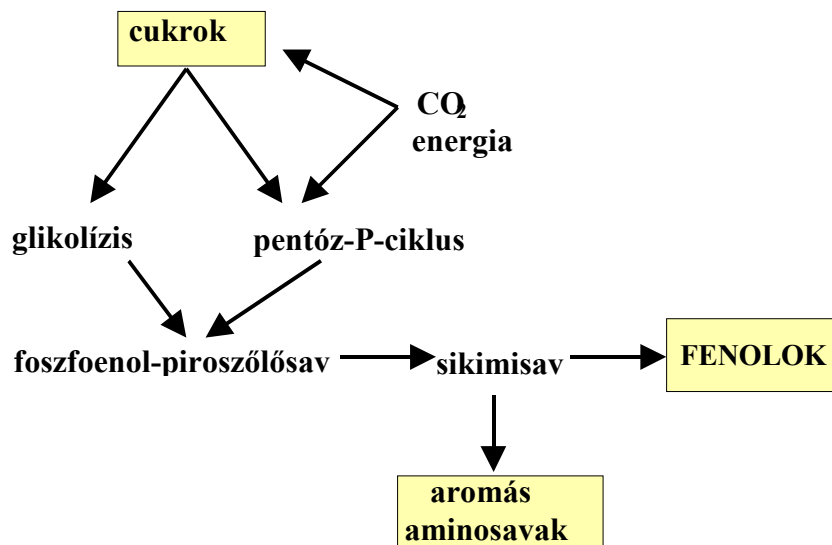


Így az oxidatív stressz gyakorlatilag közvetetten kiváltott stresszreakció. Ezek az aktív oxigénformák, kis mennyiségben, normál növényélettani folyamatok során is megjelennek a növényben, de stresszhatásra olyan mértékben megnő a koncentrációjuk, hogy a növény antioxidáns védőrendszere már nem tudja kiküszöbölni. Az oxidatív stressz nyomon követésére többek között az oxidációs reakciókra érzékeny fenol vegyületek koncentrációjában, valamint az antioxidáns enzimek aktivitásában bekövetkező változás alkalmazható (NIELSEN és ORCUTT, 1996).

A növényi bioszintézisben a fenolok aromás aminosavakból képződnek, ez utóbbiak pedig szénhidrátokból szintetizálódnak. Az aromás aminosavak így a fenolok szintézisének prekursorai (NEISH, 1960).

A monofenolok hidroxilálása bonyolult polifenolok képződését teszi lehetővé; flavonoidok, tanninok, ligninek és más, növényélettani szempontból fontos vegyületek alakulnak ki (MASON, 1955).

Néhány oxidált fenolvegyület aminosavakkal, peptidekkel és egyszerű fehérjékkel komplexet képez (HESS, 1958), melyek az aminosavak oxidatív dezaminálásának katalizátorai, így befolyásolják a növényi anyagcserét (12. ábra).

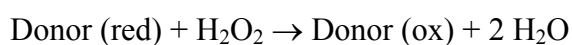


12. ábra: Cukor – aromás aminosavak – fenolok kapcsolata (FARKAS, 1968)

Általános jelenség, hogy a másodlagos anyagcseretermékek (fenolok, flavonoidok, terpenoidok, szteroidok stb.) felszaporodása kóros tünet. Gyorsan halmozódnak fel, felhalmozódásuk és szintézisük ok-okozati összefüggésben van a hiperérzékeny reakciót jellemző szöveti nekrozis kialakulásával (GOODMANN et al., 1991). A stressz serkenti a fenolok bioszintézisében (PAL) vagy oxidálásában (POD) résztvevő enzimeket. A fenolok bioszintézisének növekedésével a PAL és a TAL aktivitása is emelkedik a növényben. Mindkét enzim szerepet kap az aromás aminosavak dezaminálásában és így a fenol bioszintézisében is. A fokozódott aromás bioszintézis és a serkentett enzimaktivitás mind az abiotikus (pl. nehézfém és oxidatív stressz), mind a biotikus (vírusfertőzés, sebzés stb.) stressz esetében jellemző tünet.

Gvajakol-peroxidáz (POD; E.C. 1.11.1.7.)

Gvajakol-peroxidáznak nevezzük általában a növényi peroxidázok azon csoportját, melyek *in vitro* aktivitásmeghatározása során a leggyakrabban gvajakolt használnak elektrondonorként. Szerkezetüket tekintve vasporfirin prosztetikus csoportot tartalmazó glükoproteinek, amelyek H-donor vegyületeket oxidálnak H_2O_2 segítségével:



Donorra nézve specifikussága kicsi, így donor lehet: aszkorbinsav, fenol, indol-ecetsav, aminok, citokróm-c, sőt szervesetlen ionok is szerepelhetnek hidrogén donorként.

Számos élettani folyamatban vesznek részt (ASADA, 1992), többek között fontos szerepük van a lignin bioszintézisében (GROSS, 1978), az etilén képződésében valamint az indol-ecetsav bomlásában (SALIN, 1987). Bizonyították szerepüket az öregedési folyamatokban is, ekkor az enzimaktivitás növekedése mellett más hidrolitikus enzimek (proteázok, nukleázok) aktivitása is fokozódik (WYEN et al., 1974)

Növényi szövetekben igen elterjedt, elsősorban a sejtfalhoz kötötten a vakuólumban, a citoszólban és az apoplazmában található. Fokozott peroxidáz aktivitás figyelhető meg bármilyen abiotikus (RABE és KREEB, 1979; VAN ASSCHE és CLIJSTERS, 1990; PRASAD et al., 1994, BLINDA et al., 1996; MEHLHORN et al., 1996) és biotikus (RUDOLPH és STAHMANN, 1964; FARKAS et al., 1964; LOVREKOVICH et al., 1968; URITANI, 1971, 1976) stresszhatás fellépésekor. A fokozott aktivitás egyben védekező mechanizmus is, amely segítségével többek között rezisztancia alakul ki a fertőzésekkel szemben.

Aszkorbinsav-peroxidáz (APX, E.C. 1.11.1.11.)

Az aszkorbinsav-peroxidázok protohem proszterikus csoportot és hemen kívüli vasat tartalmazó enzimek. Az APX enzim elektron donorként kizárólag az aszkorbinsavat használja, az

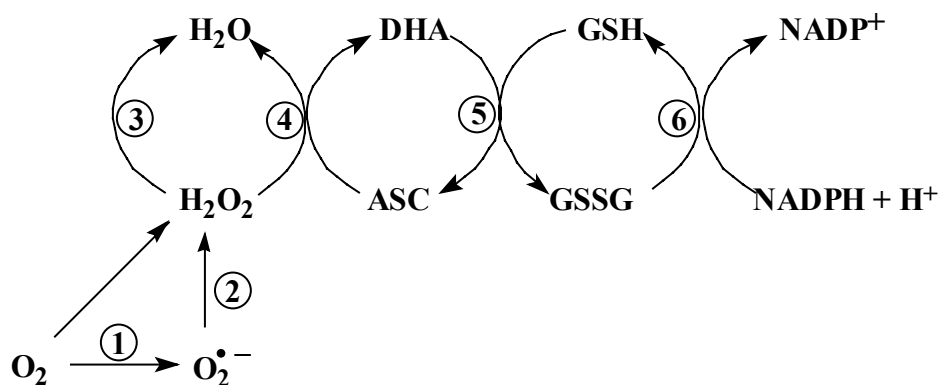


reakciót katalizálja. Szerkezete és molekuláris felépítése is eltér a klasszikus növényi peroxidázoktól, leginkább a gombákban található citokró-m-c-peroxidázra emlékeztet (ASADA, 1992; MEHLHORN et al., 1996).

Az aszkorbinsav – glutation ciklus során a SOD katalitikus hatása mellett H_2O_2 keletkezik, ezt az APX semlegesíti, miközben $\text{ASC} \rightarrow \text{MDHA}$ oxidáció játszódik le (FOYER és HALLIWELL, 1976; NAKANO és ASADA, 1981).

A MDHA rövid élettartamú intermedier, amely aszkorbáttá, DHA-vá alakul, vagy közvetlenül aszkorbinsavvá redukálódik. A ciklusban számos enzim játszik szerepet (MDHA-reduktáz, DHA-reduktáz, GR), amelyeket először a kloroplasztisban majd a citoplazmában mutattak ki. Ez azt jelenti, hogy a ciklus lejátszódása mind a kloroplasztisban, mind a citoplazmában lehetséges (ANDERSON et. al., 1983; GILLHAM és DODGE, 1986; EDWARDS et.al., 1990; FOYER, 1993).

Légzési és egyéb oxidációs folyamatok során (pl.: xantin-oxidáz) nagyon kis mértékben, de képződnek reaktív oxigén gyökök vagy molekulák. Ezek nitrogénázt károsító és a leghemoglobint oxidációval inaktiváló hatását a sejtek és a bakteroidok megnövekedett kataláz és SOD aktivitásával valamint a sejtek POD, és elsősorban APX aktivitásával védi (BECANA és RODRIGUEZ-BARRUCCO, 1989) (13. ábra).



① = sejtek légzése, ② = SOD, ③ = kataláz, ④ = APX, ⑤ = DHA, ⑥ = GR

13. ábra: Reaktív oxigénvegyületek és gyökök eltávolítása (FARKAS, 1968)

Glutation-reduktáz (GR, E.C. 1.6.4.2.)

A glutation-reduktáz az aszkorbát-glutation ciklusban a



reakciót katalizálja (13. ábra). Aktivitása stressz hatására növekszik (ESTERHAUER és GRILL, 1978; FOYER et al., 1994, 1998; CHAOUY et al., 1997; CLIJSTERS et al., 1999) s ez a fokozott aktivitás számos stresszhatással szemben nagyobb ellenállóságot biztosít (HARPER és HARVEY, 1978). A magasabb GR aktivitás önmagában nem képes az ellenállást javítani, csak abban az esetben, ha más antioxidáns hatású enzimek (SOD) aktivitása is fokozódik (MALAN et al., 1990).

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. NÖVÉNYANYAG, NEVELÉSI KÖRÜLMÉNYEK

Kísérleteim során különböző koncentrációjú cirkónium-aszkorbát (Zr-ASC) komplex *Triticum aestivum* L. Mv. 20 búzafajtára gyakorolt hatását vizsgáltam.

Tápedényenként kb. 3 g tömegű magot 24 órán keresztül duzzasztottam desztillált vízben, majd a tápoldatra helyeztem. A tápoldat alapja minden esetben Knopp-oldat volt (SUBA, 1978), melynek összetételét a 3. táblázatban adom meg. A duzzasztott, vízkultúrába helyezett magokat 5 napig hagytam sötétben fejlődni, majd a 6-dik napon a takarást eltávolítottam, a csíranövények természetes fényviszonyok között fejlődtek tovább.

3. táblázat: Az alkalmazott Knopp–tápoldat összetétele

Alapoldatok	Knopp oldatban	Alapoldatok	Knopp oldatban
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (10g/100ml)	1 v/v%	$\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (2,5g/100ml)	1 v/v%
KNO_3 (10g/100ml)	0,25 v/v%	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (2,5g/100ml)	1 v/v%
NaNO_3 (10g/100ml)	0,25 v/v%	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (5g/100ml)	0,05 v/v%
KCl (10g/100ml)	0,12 v/v%	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (5g/100ml)	1 csepp

3.2. MIKROELEMFORRÁS

Kísérleteim során cirkóniumforrásként szervesen cirkónium-oxi-klorid ($\text{ZrOCl}_2 \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$) sóból aszkorbinsavval előállított komplex vegyületet használtam. A vegyület előállítása során ligandumfelesleget alkalmaztam, a fém : ligandum mólarány 1:10 volt. A vegyület pontos összetétele és szerkezete még nem ismert. A cirkóniumsó vízben lassan oldódik, a folyamat 2 v/v% sósav oldat adagolásával elősegíthető. A komplexvegyület kialakulása időreakció, 5-6 napot vesz igénybe. Ezt követően az oldat pH-ja 10 m/m% KOH oldattal a kísérletekhez szükséges értékre (pH=7) beállítható.

3.3. CIRKÓNIUM-ASZKORBÁT HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA

3.3.1. Zr-ASC hatásának vizsgálata tápoldatos kísérletekben

A Zr-ASC vizsgálata során a duzzasztott magok az első naptól kezdve olyan Knopp-tápoldatban fejlődtek, amelyek Zr-ra nézve különböző koncentrációjú Zr-ASC oldatot tartalmaztak. A vizsgált koncentrációk értékei a következők voltak: 10; 33; 55; 100; 550 μM Zr. A búzamagokat a 3.1 fejezetben leírt módon készítettem elő a kísérlethez. A duzzasztott magokat 5 napig sötétben, a 6. naptól természetes fényviszonyok között neveltem. A növények feldolgozása a 10. napon történt. A tápoldatokat nem frissítettem. Kontrollnak a Knopp oldatban és K-ASC oldattal kiegészített (5500 μM) Knopp-oldatban fejlődött csíranövények adatait vettem alapul. Vizsgálataimat három független kísérletben végeztem, melyen belül három volt az ismételések száma. Az eredmények statisztikai kiértékelése során viszonyítási adatként a kálium-aszkorbátos kontroll (K-ASC) tápoldatban nevelt növényekre kapott értékeket vettem alapul.

3.3.2. Zr-ASC hatásának vizsgálata kadmium-tartalmú tápoldatban nevelt búza csíranövényre

Ebben a kísérletben a búza csíranövényt olyan tápoldatban neveltem, amely 200 μM koncentrációjú volt Cd-ra nézve (az alkalmazott vegyület kadmium-acetát volt), s e mellett még Zr-ot is tartalmazott különböző – 10, 33 és 55 μM – mértékben. A duzzasztás, és a csíranövény nevelése a már leírt időtartamig tartott. Ebben a kísérletben a már korábban is vizsgált Knopp és K-ASC kontroll mellett egy Cd-kontroll (200 μM Cd) tápoldatban nevelt növények fejlődését is vizsgáltam. A kísérlet 9. napján fényképfelvételt készítettem a növényekről. Az eredmények statisztikai kiértékelése során viszonyítási adatként a Cd-kontroll tápoldatban nevelt növényekre kapott értékeket vettem alapul.

3.3.3. Zr-ASC hatásának vizsgálata levélpermetezéssel kísérletben

A 100 $\mu\text{g/l}$ ($\approx 100 \mu\text{M}$) Zr koncentrációjú Zr-ASC oldatból 35 alkalommal permeteztem a búza csíranövény levelét. Kezelésként átlagosan 125 ml Zr-ASC oldatot juttattam a levelekre, így összességében a kipermetezett oldat térfogata 4375 ml volt. Figyelembe véve az oldat koncentrációját, ez 437,5 μg Zr-tartalomnak felel meg.

A növéymintákat – a leveleket hangsúlyozottan – a feldolgozás során több fokozatban mostam desztillált majd ioncserélt vízben, hogy elkerüljem a felületen megkötődött Zr okozta mérési

hibát. A továbbiakban a minta előkészítése a 3.4.4.1. fejezetben, analízise a 3.4.4.2. fejezetben leírtaknak megfelelően történt

3.4. VIZSGÁLATI MÓDSZEREK

3.4.1. Csírázási százalék meghatározása

A csírázási százalék meghatározását tápoldatonként 30 búzaszemmel végeztem. A 24 órás duzzasztást követően a búzaszemeket Petri-csészében elhelyezett szűrőpapíron egyenletesen eloszlattam, szűrőpapírral letakartam, majd a különböző összetételű tápoldatokkal átitattam. A mintákat szobahőmérsékleten tároltam. Négy nap elteltével a kicsírázott magok számának ismeretében számoltam a csírázási százalékot.

3.4.2. Növény méreteinek meghatározása

A búza csíranövényeket a 10. napon dolgoztam fel, a növényeket levél és gyökér részre választottam szét. Tenyészedényenként 10-10 mintát véve, mértem a levél és a gyökér hosszát.

3.4.3. Száranyagtartalom meghatározása

A levél és gyökér részre szétválasztott mintákat desztillált vizes és ioncserélt vizes lemosást követően szárítószekrényben tömegállandóságig szárítottam (104°C, 2 óra). A szárított mintákat feldolgozásig exsikkátorban tároltam.

3.4.4. Elemösszetétel meghatározása

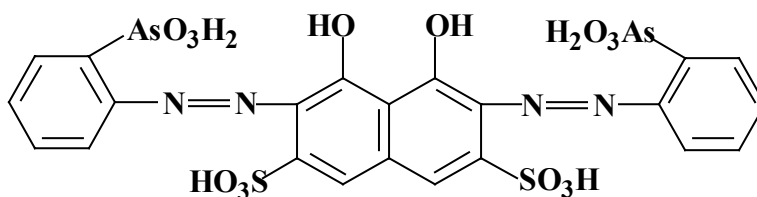
3.4.4.1. Mintaelőkészítés az elemanalízishez

A növény levél és gyökérrészét a tanszékünkön kifejlesztett módszernek megfelelően magas hőmérsékleten, nagy nyomáson, roncsolásos technikával tártam fel. A roncsoláshoz 0,2 g légszáraz, homogenizált mintát mértem be amelyet 2 ml cc. HNO₃ és 2 ml 30%-os H₂O₂ elegyével 24 órán keresztül állni hagytam, majd nagy nyomáson és magas hőmérsékleten zárt teflon bombában feltártam.

A cirkónium meghatározásánál problémát jelent, hogy a feltárás során redukzív hatású nitrózus gázok keletkeznek, amelyek elroncsolják a cirkónium analitikai méréséhez alkalmazott reagenst. Ennek megelőzése érdekében a roncsolmányokat infralámpa alatt beszáritottam, majd 8 M sósavoldattal 10 ml végtérfogatra egészítettem ki.

3.4.4.2. Elemanalízis

A 3.4.4.1. fejezetben leírt módon előkészített minták Zr-koncentrációját spektrofotometriás módszerrel mértem. Erre az ad lehetőséget, hogy az Arsenazo III reagens (14. ábra) a Zr-mal 665 nm hullámhossznál igen specifikus és érzékeny színreakciót ad ($\epsilon=120 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). A reakció erősen savas közegben (8 M sósav) csak a Zr-mal játszódik le. A reakciót a közeg mátrixa nem befolyásolja. (SAVVIN, 1961).



14. ábra: Arsenazo III reagens szerkezete

(1,8-dihidroxi-naftalen-3,6-diszulfonsav-2,7.bis[(azo-2)-fenil-arzénessav])

Tekintettel arra, hogy irodalmi adat nem állt rendelkezésemre a búza Zr-akkumulációs készségéről, a Zr mérésénél standard addíciót alkalmaztam.

Reakcióelegy: 1 ml, 0,1 g/100 ml koncentrációjú Arsenazo III reagens, 1,25 ml 10 mg/l standard Zr-oldat, 8 M sósavoldat (25 ml végtérfogatra).

Korábbi vizsgálataim igazolták, hogy a leírt körülmények között a mérési tartomány 50-100 μM (0,05-1,0 mg/l, a kimutatási határ 2,5 $\mu\text{g/g}$ sz.a.) Zr.

A tápoldatok és a növények elemtartalmát ICP-OES módszerrel határoztam meg. Az ICP-OES méréseket Thermo JarellAsh ICAP 61 készüléken, a fotometriás méréseket GBC/UV 916 PC vezérelt regisztráló spektrofotométeren végeztem.

3.4.5. Biogén aminok meghatározása

3.4.5.1. Mintaelőkészítés a szabad aminosav analízishez

A szabad aminosavakat a mintákból 7 %-os perklórsavval, rázatással extraháltam 1 órán keresztül. A gyökerek esetén 150-500 mg friss tömeghez 3 ml, a levelek esetén 600 mg friss tömeghez 3 ml extrahálószeret használtam. Ezután a mintákat szűrőpapíron és membránszűrőn átszűrtem (Sartorius 0,45 μm). Az analízist a folyadékfázisból végeztem.

3.4.5.2. Aminosav-analízis

Az aminosav tartalmat ioncserélő folyadékkromatográfiával határoztam meg, BIOTRONIC LC 3000 (Németország) típusú aminosav analizátor segítségével, mintánként egy mérést végeztem GALIBA és munkatársai módszere alapján (1992).

3.4.6. Klorofilltartalom mérése

A minták klorofilltartalmának meghatározását spektrofotometriás módszerrel végeztem. Az analitikai pontossággal lemért tömegű mintákat kvarchomokkal homogenizáltam, majd 80 v/v%-os acetonnal oldatba vittem és 10 ml végtérfogatra egészítettem ki. A mintákat 4060 x g értéken, 30 percig, +4°C-on centrifugával szeparáltam. Az elválasztást Hettich Mikro 22R centrifugával végeztem. A felülúszó abszorbanciáját 644 nm és 663 nm hullámhosszon mértem. A kapott értékek alapján az összklorofill koncentrációt az 1. képlet felhasználásával (a hígítást is figyelembe véve) számoltam (ARNON, 1949).

$$20,2 \cdot A_{644 \text{ nm}} + 8,02 \cdot A_{663 \text{ nm}} = c \text{ klorofill (mg/g n. tömeg)} \quad 1. \text{ képlet}$$

3.4.7. Összfenol-tartalom meghatározása

A minták összfenol-tartalmát SINGLETON és ROSSI (1965) leírásának megfelelően fotometriás módszerrel, galluszsav kalibrációs görbe segítségével $\lambda = 760 \text{ nm}$ hullámhosszon határoztam meg.

3.4.8. Enzimaktivitás meghatározása

Az enzimaktivitások meghatározása a növényi szövetek sejtmentes extraktumából történt. A levágott növényi részek (levél, illetve gyökér) 1 grammját 3 ml izoláló pufferben kvarchomok segítségével előre lehűtött dörzsmozsárban homogenizáltam. Az izolálópuffer összetétele: 0,1 M K-foszfát puffer (pH 7,8), 1 mM PMSF, 2 mM DTPA, 1 mM DTT és 5 mM ASC.

Az elválasztást Hettich Mikro 22R (10000 x g, 30 perc, 4°C) centrifugával végeztem. Az enzimaktivitás értékeinek meghatározása a felülúszóból spektrofotometriás módszerrel GBC 916 UV/VIS készüléken történt.

A reakciót az enzim hozzáadásával indítottam. Az aktivitásokat μkat ill. nkat/g nedves tömegben fejeztem ki.

3.4.8.1. Gvajakol-peroxidáz

A gvajakol szubsztrátból keletkező tetragvajakol termék keletkezését a $\lambda=470$ nm-nél ($\epsilon=26,6 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) bekövetkező abszorbanciaváltozás követésével határoztam meg CHANCE és MAEHLY (1955) alapján, módosítva. A reakcióelegy összetétele: 0,1 M Tris-HCl (pH 6) puffer; 3,3 mM gvajakol; 1 mM H_2O_2 .

3.4.8.2. Aszkorbinsav-peroxidáz

Az aszkorbinsav szubsztrát enzimkatalizálta oxidációját a $\lambda=290$ nm hullámhossznál ($\epsilon=2,8 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) történő abszorbanciaváltozás követésével mértem (NAKANO és ASADA, 1981). A reakcióelegy összetétele: 0,1 M Tris-acetát (pH 7,5); 0,25 mM aszkorbinsav; 0,5 mM H_2O_2 .

3.4.8.3. Glutation-reduktáz

Az oxidált glutationt a glutation-reduktáz NADPH felhasználásával redukálja, és az így keletkezett redukált glutation tiolcsoportjai diszulfid kötést létesítenek az 5,5'-ditio-bisz-(2-nitrobenzoesav)-ból felszabaduló 2-nitro-5-tiobenzóat anionnal, melynek képződése a $\lambda=412$ nm hullámhosszon ($\epsilon=14,15 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) mért fényelnyeléssel követhető (SMITH et al., 1988).

A reakcióelegy összetétele: 75 mM Na-K-foszfát puffer (pH 7,5); 0,15 mM DTPA; 0,75 mM DTNB; 0,1 mM NADPH; 0,5 mM GSSG.

3.5. STATISZTIKAI MÓDSZEREK

A kezeléseket minden esetben 3, időben és kezelésen belüli független ismétlésben végeztem. Az eredmények kiértékelése során a Microsoft Excel táblázatkezelő program két-mintás t-próba nem azonos szórásnégyzeteknél /Welch-próba/ statisztikai függvényét használtam fel. Minden esetben 95%-os megbízhatósági szintet vettem figyelembe.

4. EREDMÉNYEK

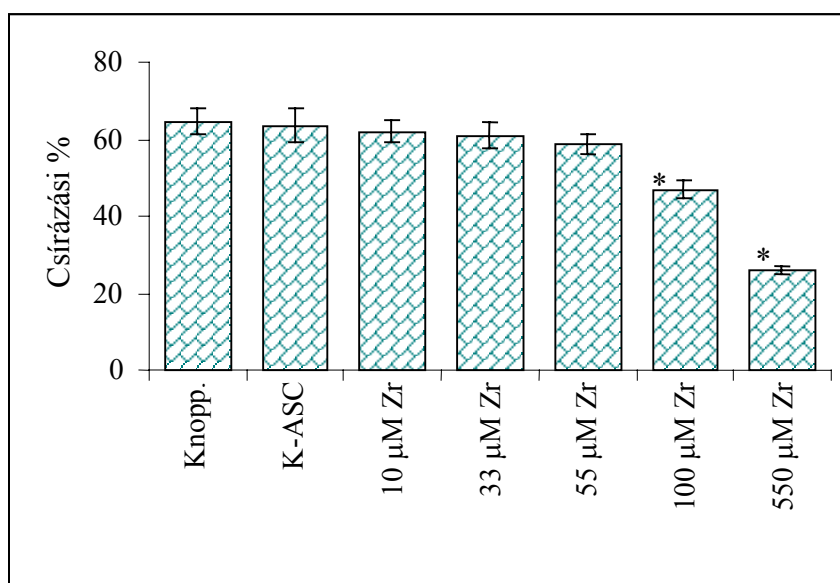
4.1. CIRKÓNIUMKEZELÉS HATÁSÁNAK EREDMÉNYEI

Kísérleteimnél a Knopp-tápoldat (kontroll) mellett kálium-aszkorbát (K-ASC) oldat hatását is vizsgáltam, amely a Knopp-oldat kálium-aszkorbáttal dúsított változata volt (a későbbiekben erre a tápoldatra K-ASC néven hivatkozom).

Mérési eredményeimet a kiértékeléskor minden esetben a K-ASC kontroll mintáknál kapott értékekhez viszonyítottam.

4.1.1. Csírázási százalék

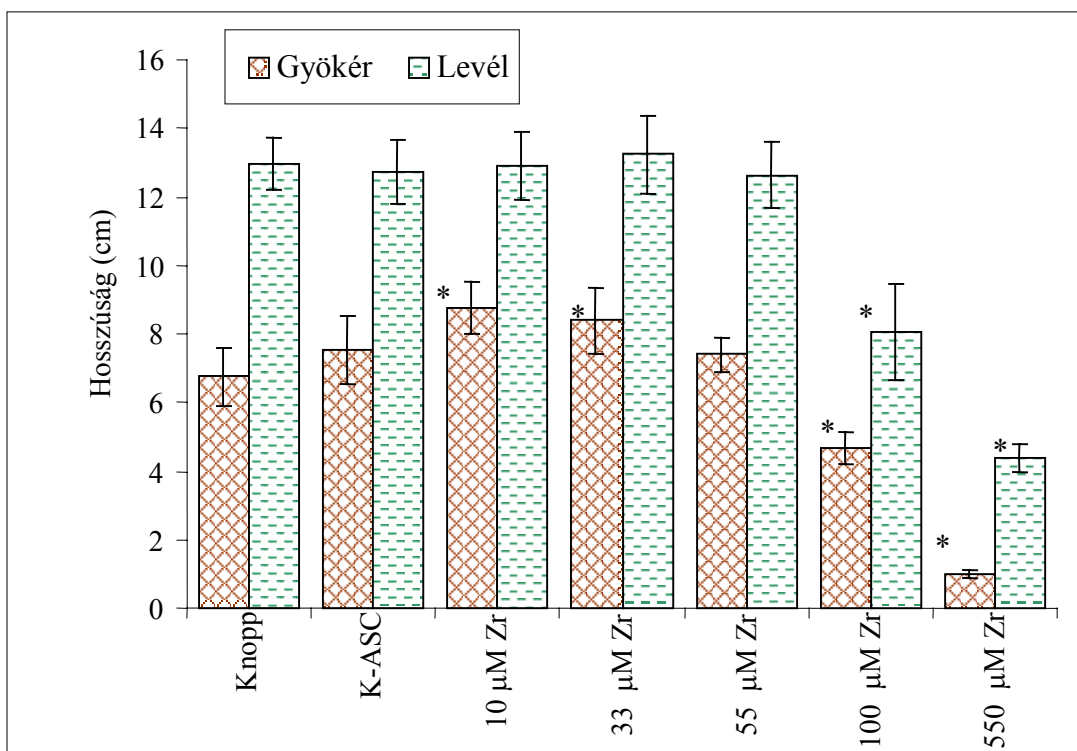
Méréseim során azt tapasztaltam, hogy a kisebb koncentrációban jelenlevő Zr-ASC nem befolyásolta a csírázási százalékot, csak nagy koncentráció (100 és 550 μM) esetében észleltem szignifikáns csökkenést (15. ábra).



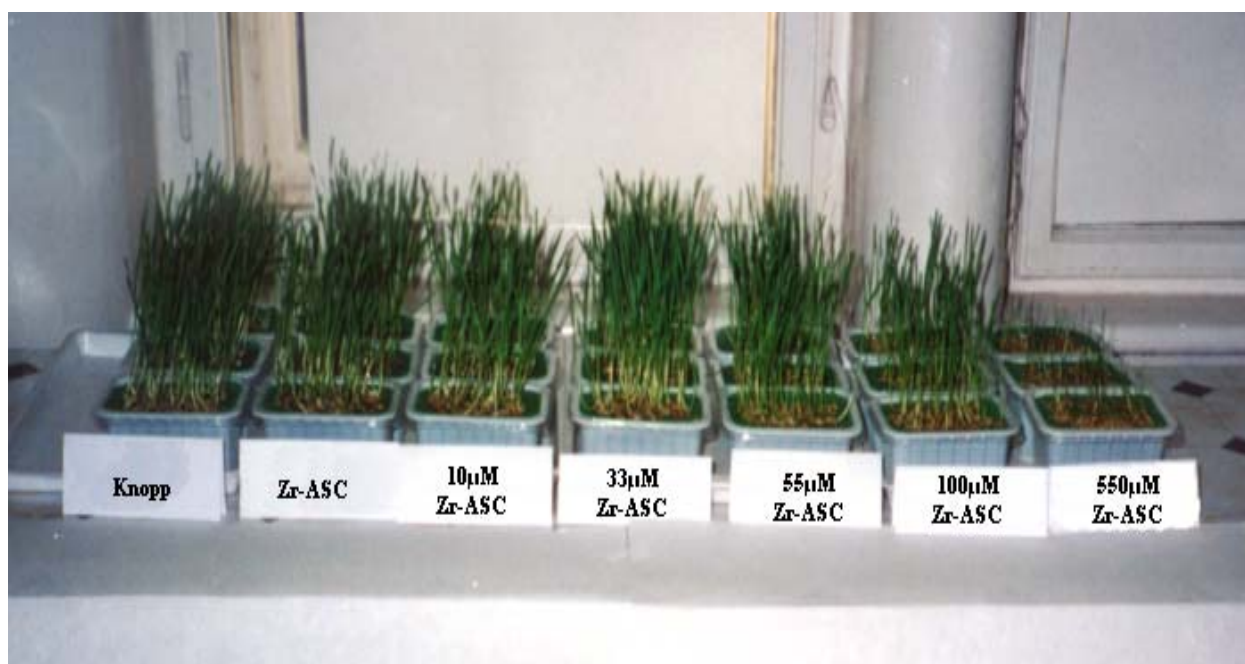
15. ábra: A csírázási százalék változása Zr-ASC tartalmú tápoldat esetében (* = $P < 0,05$)

4.1.2. Zr-ASC hatása a búza csíranövények növekedésére

Kis koncentrációjú (10 és 33 μM) Zr-ASC kezelésnél a gyökerének hossz méretében szignifikáns növekedést, a nagy Zr koncentrációk (100 és 550 μM) esetében szignifikáns csökkenést mértem (16., 17. ábra).



16. ábra: Zr-ASC kezelés hatása a csíranövény méreteire (* = $P < 0,05$)



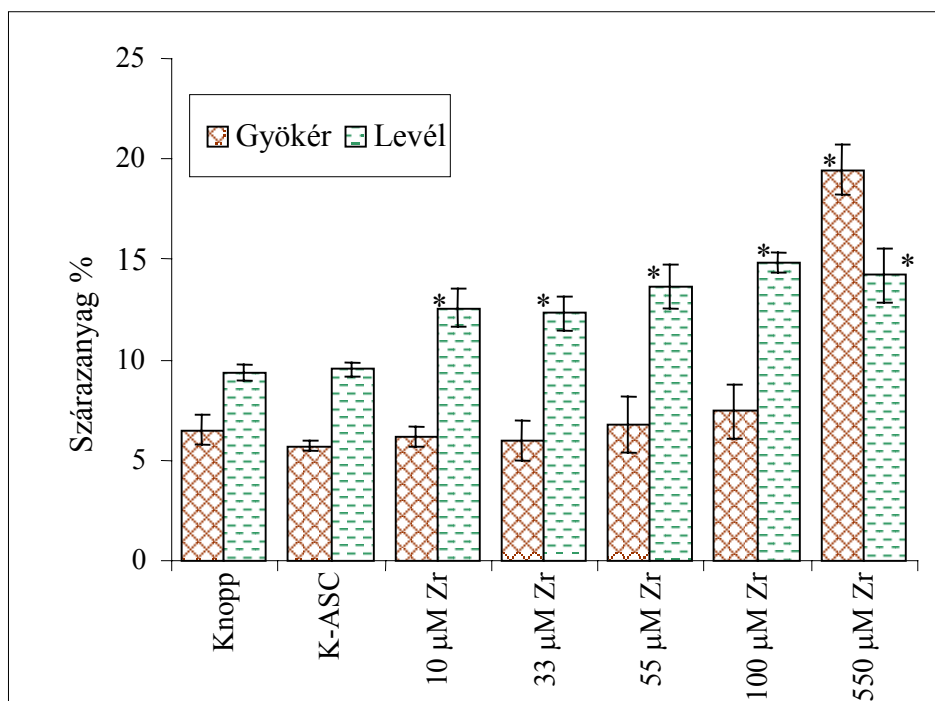
17. ábra: Búzacsíranövény fejlődése Zr-tartalmú tápoldatban.

(természetes megvilágítás, 9 napos kezelés, a feliratnak megfelelő tápoldat-összetétel)

A levelek méretét illetően a kis Zr-koncentrációk hatása nem érvényesült, csak a nagyobb (100 és 550 μM) koncentrációk okoztak szignifikáns csökkenést.

4.1.3. Szárazanyag-tartalom változása

A Zr-tartalmú tápoldatban nevelt növény gyökérzetének szárazanyag-tartalma csak a legnagyobb Zr koncentrációnál (550 μM) reagált a szárazanyag-tartalom szignifikáns növekedésével (18. ábra).



18. ábra: Zr-ASC kezelés hatása a gyökér és levél szárazanyag-tartalmára (* = $P < 0,05$)

4.1.4. A búza csíranövény fejlődési paramétereire gyakorolt hatás kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések

A kísérletek során 10, 33, 55, 100 és 550 μM Zr-ASC kezelésnek búza csíranövény fejlődésére gyakorolt hatását vizsgáltam. A csírázási százalék, a növény gyökér- illetve levélmérete valamint a szárazanyag-tartalom szempontjából csak a 100 és 550 μM Zr-ASC kezelés esetén bizonyult káros hatásúnak. Ilyen Zr-terhelés mellett szignifikánsan csökken a csírázási százalék, valamint a gyökér és a levél mérete, ugyanakkor szignifikáns növekedést tapasztalható mind a gyökér, mind a levél szárazanyag-tartalmában. Az eredmények alapján arra a következtetésre jutottam, hogy a cirkóniumot 100 és 550 μM koncentrációban tartalmazó tápoldatban a búza csíranövény fejlődése gátolt, a nagy Zr-koncentráció a növény produktivitását korlátozó, abiotikus stressztényezőnek tekinthető.

Kisebb Zr-koncentráció (10 és 33 μM) a gyökér mérete szempontjából kedvező hatású, a gyökerek hossza szignifikánsan nő a K-ASC kontroll csíranövények gyökérhosszához képest.

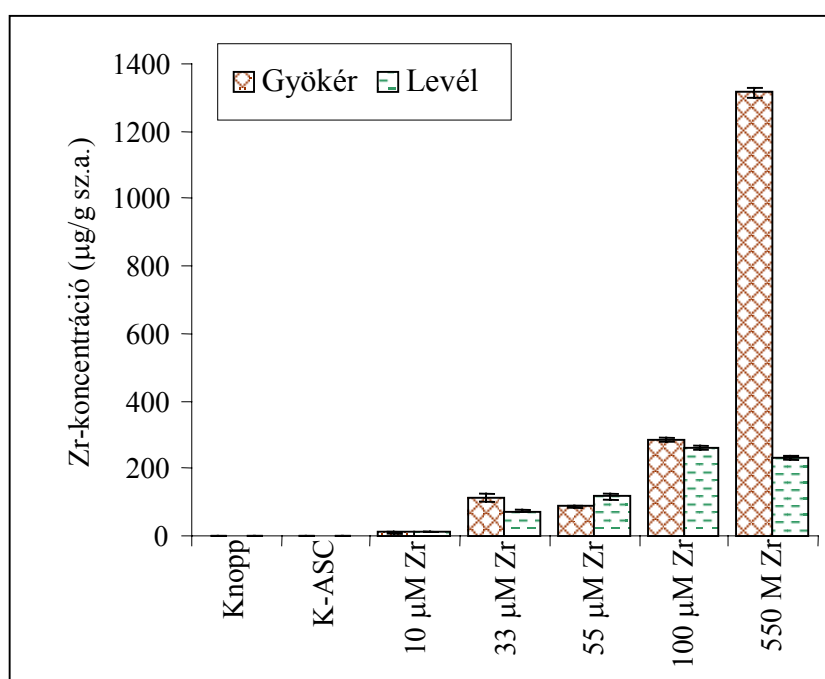
Azonos titán tartalmú Ti-ASC-tal végzett búza kísérleteknél Pais és munkatársai kedvezőtlenebb értékeket kaptak mind a méret és csírázási százalék adataiban (PAIS, 1979)

Ugyanakkor a levél szárazanyag-tartalma szempontjából minden kezelés esetében szignifikáns növekedés észlelhető, amely valamilyen mértékű stresszhatást jelezhet (SIMON, 2003).

4.1.5. Elemösszetétel vizsgálata

4.1.5.1. A cirkónium felvétele és eloszlása a búza csíranövényben

A különböző Zr-koncentrációjú tápoldatban nevelt csíranövények Zr akkumulációja során a gyökérben csak a nagy Zr-ASC kezelés esetében (100 és 550 μM) tapasztaltam jelentős akkumulációt (19. ábra).



19. ábra: Búza csíranövény Zr-akkumulációja Zr-ASC tartalmú tápoldatból

(* = $P < 0,05$, $KH = 2,5 \mu\text{g/g sz.a.}$)

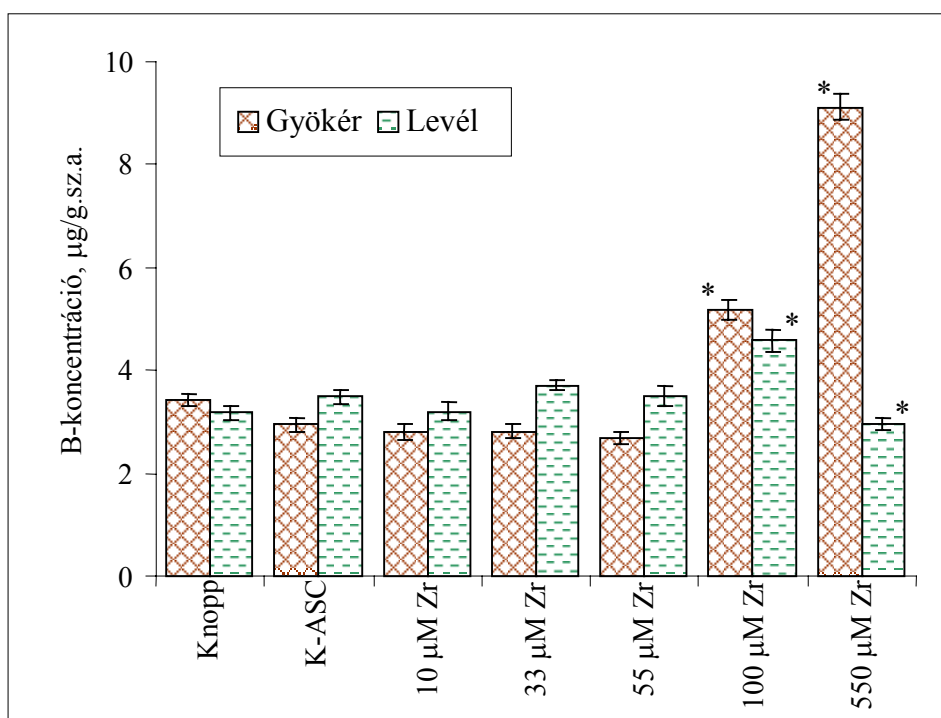
A búza csíranövény gyökerének és levelének Zr-tartalma a kezelőoldat Zr-koncentrációjával arányosan változott. A legnagyobb Zr-ASC kezelés (550 μM) kivételével a gyökérben és a levélben mérhető Zr-koncentráció közel azonos érték. Csak a legnagyobb koncentrációjú kezelés esetén tapasztaltam jelentős különbséget a gyökér és a levél Zr-tartalma között, mely arra utal, hogy a cirkónium transzlokációja ebben a tartományban már erősen gátolt.

4.1.5.2. Esszenciális mikroelemek koncentrációváltozása a Zr-ASC kezelés során

A alkalmazott tápoldatok tisztaságát a kísérlet megindításakor ICP-OES módszerrel ellenőriztem. Az oldatok elemösszetétele mind minőségi, mind mennyiségi szempontból megfelelt a 3. táblázatban adatokkal. Az általam vizsgált egyéb mikroelemek (B, Zn, Cr, Mn) a tápoldatban nem voltak kimutathatóak.

A magasabb rendű növények számára a *bór* esszenciális mikroelem. Kis Zr-koncentrációjú (10-55 μM) tápoldatokban nevelt növényekben sem a gyökér, sem a levél bórkoncentrációja nem változott szignifikánsan a K-ASC kontrollhoz képest képest.

A 100 μM Zr-tápoldatban nevelt növények esetén mind a gyökérben, mind a levélben szignifikánsan nőtt a bórkoncentráció. 550 μM Zr-tartalmú tápoldatban nevelt növények gyökérben szignifikánsan nőtt, a levélben szignifikánsan csökkent a bórkoncentráció értéke a K-ASC kontrollhoz képest (20. ábra).

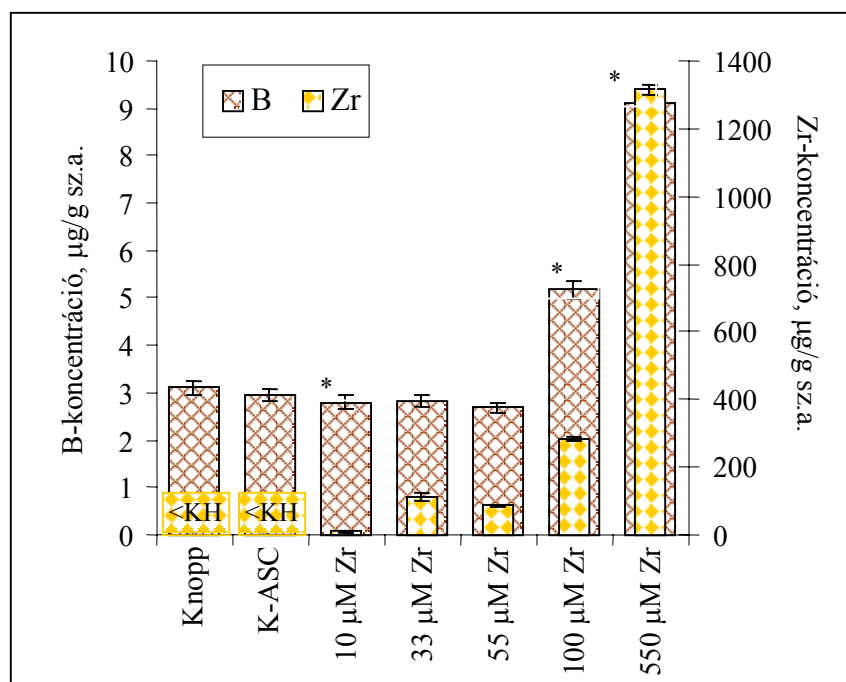


20. ábra: A búza csíranövény bórkoncentrációjának alakulása Zr-ASC kezelés során

(* = $P < 0,05$)

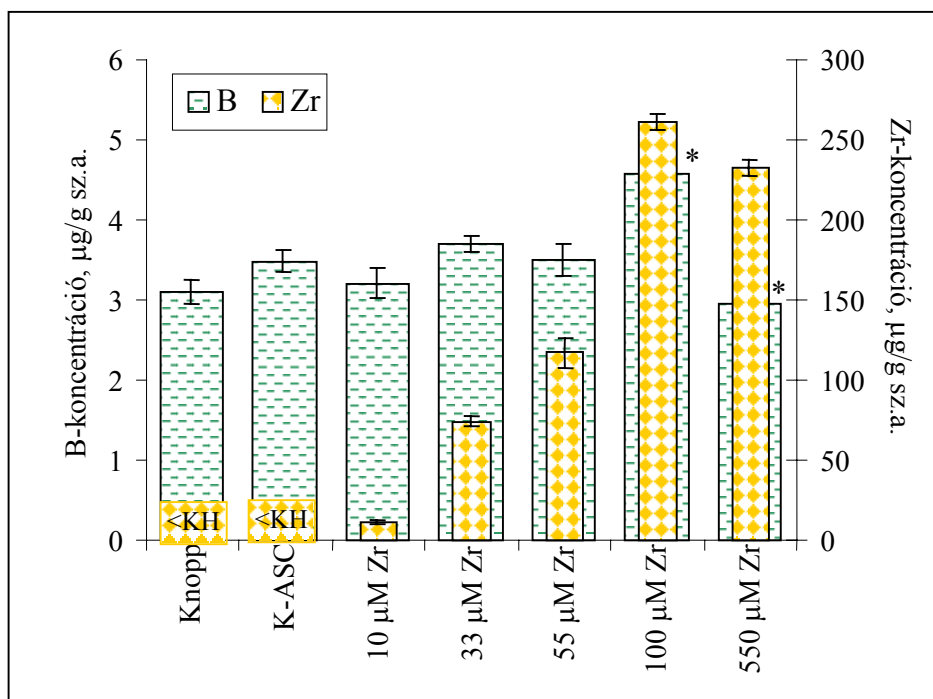
Míg a kisebb koncentrációjú Zr-ASC kezelésnek kitett növényekben egyenletes volt a bóreloszlás, a nagyobb koncentrációknál a megnövekedett bórkoncentráció elsősorban a gyökérben jelent meg.

A gyökér- és a levélminták Zr- és bórkoncentrációját összehasonlítva (21., 22. ábra) látható, hogy a két elem koncentrációváltozása azonos tendenciát mutat, s ez hangsúlyos a 100 és 550 μM Zr-koncentrációjú tápoldatokban nevelt növényeknél.



21. ábra: A gyökérben mért Zr- és B-koncentráció változása

(* = $P < 0.05$, $\text{KH}_{\text{Zr}} = 2.5 \mu\text{g/g}$ sz.a.)

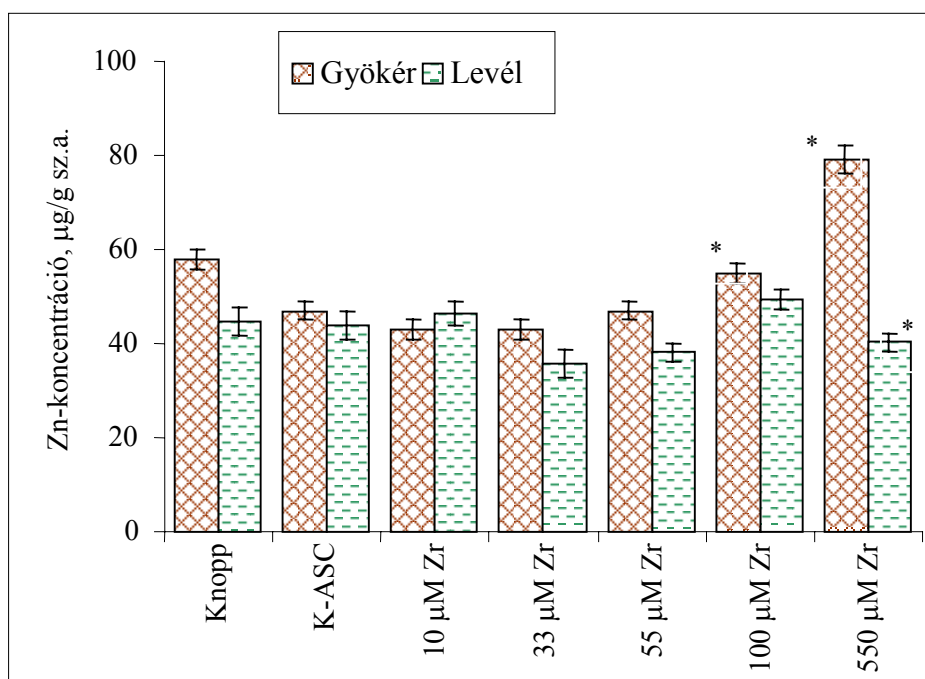


22. ábra: A levélben mért Zr- és B-koncentráció változása

(* = $P < 0.05$, $\text{KH}_{\text{Zr}} = 2.5 \mu\text{g/g}$ sz.a.)

Kísérleteim során vizsgáltam, hogy a Zr-ASC kezelés hatására változik-e, a minden élő szervezet számára esszenciális *cink* koncentrációja. A 100 és 550 μM Zr-koncentráció hatására a gyökér Zn-koncentrációjában szignifikáns növekedést mértem (23. ábra).

A levélmintákban mért Zn-koncentráció értéke csak a legnagyobb Zr-ASC kezelés (550 μM) esetében csökkent szignifikáns mértékben. A kisebb Zr-koncentrációk alkalmazásakor mért Zn-koncentráció változások nem voltak szignifikánsak.

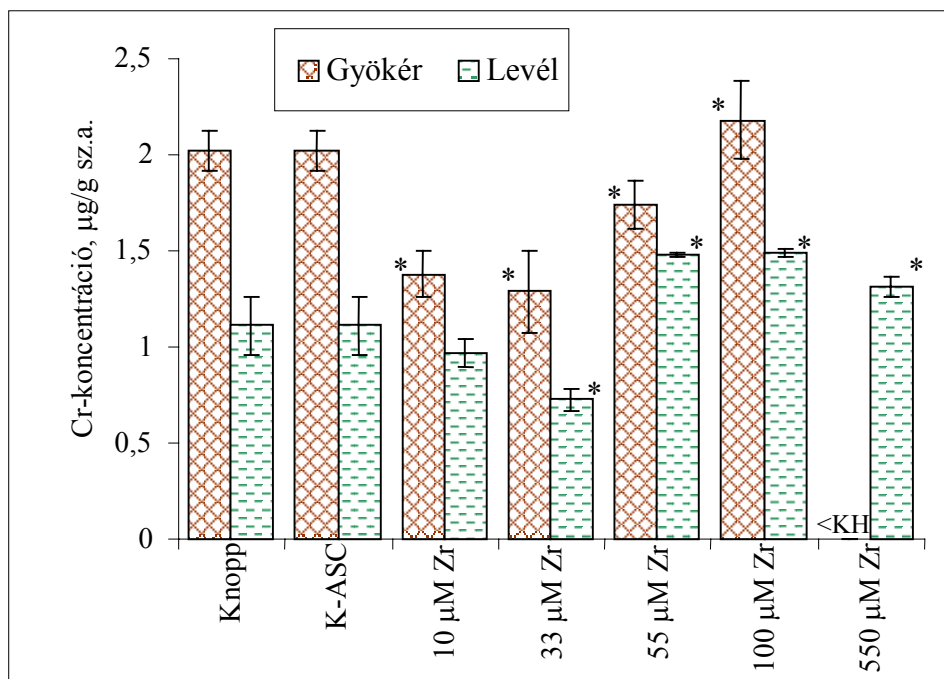


23. ábra: A búza csíranövény Zn-koncentrációjának változása a Zr-ASC kezelés során

(* = $P < 0,05$)

A *króm* koncentráció vizsgálatát azért tartottam fontosnak, mert korábbi, élesztővel végzett kísérleteink (FODOR, 1993) során azt tapasztaltuk, hogy a Zr-ASC-os kezelés hatására szignifikánsan nőtt az élesztőtörzsek (*Saccharomyces cerevisiae* és *Candida utilis*) Cr-koncentrációja. E korábbi kísérleteknél a tápoldat koncentrációja Zr-ra nézve 550 μM volt.

A Zr-ASC kezelés hatására mind a gyökérben, mind a levélrészben szignifikáns változást tapasztaltam a Cr-koncentrációban. A minta Cr-tartalma mindkét esetben egy optimumgörbével jellemezhető (24. ábra).



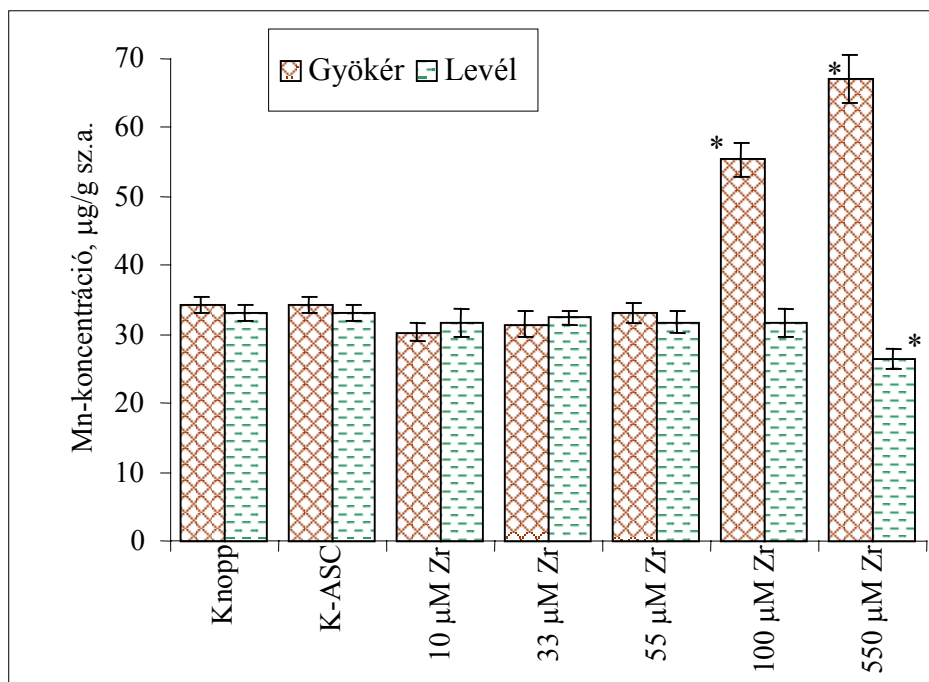
24. ábra: A búza csíranövény Cr-koncentrációjának változása (* = $P < 0,05$)

A kisebb töménységű Zr-ASC kezelések hatására csökkenő Cr-koncentráció a tápoldat Zr-tartalmának növekedésével egy maximális érték eléréséig növekszik, majd újra csökken. Ez a maximális érték mind a gyökér-, mind a levélminta esetében a 100 µM Zr-ASC tápoldatnál volt mérhető.

Kísérleteim során vizsgáltam, hogy a növények fotoszintézisében is jelentős szerepet játszó *mangán* koncentrációja változik-e a Zr-ASC kezelést követően. (25. ábra).

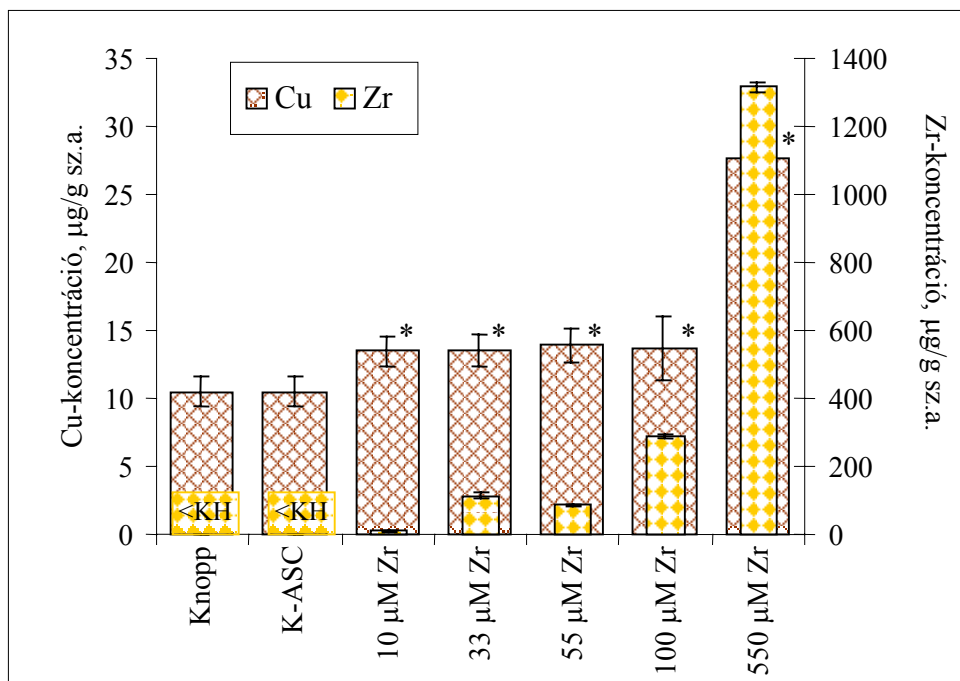
A Zr-ASC kezelésnek kitett búza csíranövények gyökér- és levélmintáinál csak a nagyobb (100 és 550 µM) Zr-ASC kezelés okozott változást, a Mn-koncentráció szignifikánsan nőtt. A levélminták Mn-tartalma csak a maximális Zr-ASC kezelésnek kitett növényeknél mutatott szignifikáns csökkenést.

A Zr-ASC kezelésnek kitett csíranövény levelében a *réz*koncentráció értékeiben nem tapasztaltam változást, ugyanakkor A 10, 33, 55 és 100 µM Zr-tápoldat nevelt növények gyökérmintáiban közel azonos mértékű, szignifikáns növekedést mértem (26. ábra)



25. ábra: A gyökér és a levél Mn-koncentrációjának változása a Zr-ASC kezelés során

(* = $P < 0,05$)

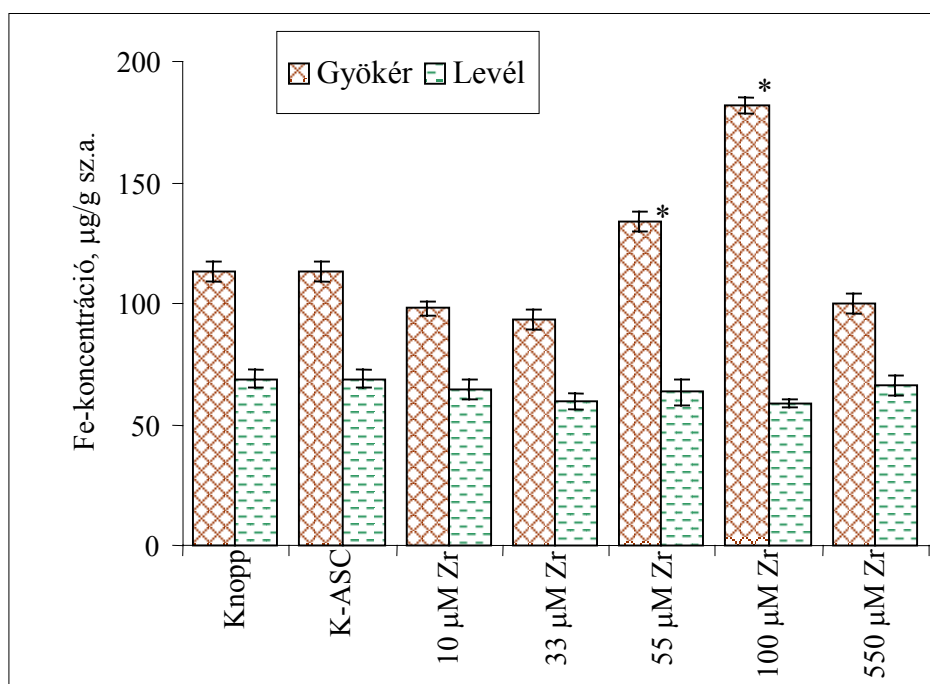


26. ábra: A gyökér Cu- és Zr-koncentrációjának alakulása Zr-ASC kezelés során

(* = $P < 0,05$, $KH_{Zr} = 2,5 \mu\text{g/g sz.a.}$)

A gyökérszövet 550 μM Zr-ASC kezelés hatására mért Cu-tartalma közel kétszerese volt a kisebb koncentrációjú kezelésnél kapott (szignifikánsan megnövekedett) értékekhez képest.

A Zr-ASC kezelésnek kitett növények vaskoncentrációja a levélben nem változott szignifikánsan, a gyökérmintákban is csak az 55 és 100 μM Zr-ASC kezelésnél mértem szignifikáns növekedést (27. ábra).



27. ábra: Zr-ASC-tal kezelt búza csíranövény vastartalma

(* = $P < 0,05$)

4.1.5.4. Az elemösszetételre gyakorolt hatás kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések

Megállapítható, hogy a különböző Zr-koncentrációjú tápoldatokból a búza csíranövény képes felvenni a cirkóniumot. A gyökérmintákban akkumulálódott Zr mennyisége összefüggést mutat a tápoldat Zr-koncentrációjával. A tápanyagfelvétel során nemcsak a gyökérben való akkumuláció, hanem a növényen belüli gyökér→levél transzlokáció is megfigyelhető. A transzlokáció mértéke 100 μM Zr-ASC kezelésnél éri maximális értékét (a levélben 261 μg Zr/g sz.a., $\text{SD}=4,8$; a gyökérben ugyanekkor 286 μg Zr/g sz.a $\text{SD}=5,6$).

A gyökér és a levél Zr-koncentrációja a kisebb Zr-ASC kezelések esetében is azonos nagyságrendű érték. Ez a viszonylag nagymértékű transzlokáció feltételezhetően azzal magyarázható, hogy az aszkorbinsav a cirkóniummal stabil, semleges töltésű komplex molekulát hoz létre. Elképzelhető, hogy az aszkorbinsav mintegy „védőburkot” képez a Zr körül, ezáltal csökkenti annak lehetőségét, hogy a sejtfal negatív töltésű csoportjaihoz kapcsolódjon. A komplex szerkezetére vonatkozó elméletem egyelőre feltételezés, kísérletileg nem bizonyított.

Az 550 μM Zr-ASC kezelés hatására a gyökérben egy nagyságrenddel nagyobb Zr-tartalom (1316 $\mu\text{g/g}$ sz.a.) mérhető, mint az ennél kisebb koncentrációjú (10-100 μM) kezelések esetében. A levél Zr-tartalma azonban a 100 és 550 μM Zr-ASC kezelés hatására gyakorlatilag nem változik. Mindez arra utal, hogy az 550 μM Zr-ASC kezelés jelentős mértékben károsítja a sejtmembránt, melynek következtében a Zr aktív transzportfolyamatát a passzív felvétel váltja fel: a fém diffúzió útján a szövetekbe áramolhat.

A hajtásokba történő transzport gátlása a növény föld feletti részeinek védelmére utalhat, ahogyan azt réz esetében FERNANDEZ és HENRIQUES (1991) kimutatta.

A *bór* koncentrációjában csak a 100 és 550 μM Zr-ASC kezelés hatására állapítható meg szignifikáns eltérés a kontroll mintához képest. A gyökérben mért koncentrációértékek alakulása egy új, egyéb mikroelemekkel végzett kísérletek során eddig nem tapasztalt jelenségre mutatott rá, amely szerint összefüggés lehet a gyökér bór és cirkónium koncentrációjának változása között. Mindkét elem koncentrációjának változása azonos tendenciát mutat (a változás szignifikáns). A jelenség a levélmintáknál nem figyelhető meg. Miután jelenlegi ismereteink szerint a bór a növények növekedésében játszik szerepet (PAIS, 1997), és a gyökér bórkoncentrációjának szignifikáns növekedése azoknál a Zr-ASC kezelési értékeknél tapasztalható, amely a növény növekedési paramétereit tekintve váltanak ki toxikus hatást, feltételezéseim szerint a növény, mintegy védekezési reakcióként, a magban jelenlevő jelentős mennyiségű bört (60-100 $\mu\text{g/g}$ sz.a.) mobilizálja, ellensúlyozandó a csíranövényt ért toxikus hatást. A gyökér *cink* és *mangán* koncentrációja a toxikusnak tekinthető 100 és 550 μM Zr-ASC kezelés esetében szignifikánsan nő.

A gyökérmintákban mért *réz*koncentráció már 10 μM Zr-ASC kezelés hatására is szignifikánsan nő a kontrollhoz képest. Míg a változás mértéke 10-100 μM Zr-koncentráció esetében azonos, addig a maximális Zr-terhelés hatására a rézkoncentráció is növekszik. A gyökérben mért *vaskoncentráció* 55 és 100 μM Zr-ASC kezelés esetében nőtt szignifikánsan.

Tekintettel arra, hogy ezen elemek összetett biokémiai folyamatokban szerepet játszó enzimek metallokomponenseként illetve katalizátoraként ismertek, a Zr-ASC kezelés hatására bekövetkező koncentrációnövekedésük a növény fiziológiai válaszát jelentős mértékben befolyásolja.

A legtöbb esetben az egyes elemek nagymértékű akkumulációja a legnagyobb (100 és 550 μM) Zr-ASC kezelés hatására következik be, és ez a jelenség alátámasztja, hogy a gyökérsejt membránjainak dezorganizációja révén a finoman szabályozott aktív ionfelvételi

mechanizmusok megszűnését követően, a tápoldat iontartalma passzív diffúzió útján a gyökérszövetekbe áramlik.

A leírt koncentrációváltozások a levélmintákra kevésbé jellemzőek.

A gyökér és a levél *króm*koncentrációjában bekövetkezett szignifikáns változásokra nehéz magyarázatot adni. A különböző irodalmi adatok (MORAL, 1995; CIFUENTES, 1996) nagyságrenddel nagyobb (mM) krómkoncentrációkkal végzett kísérletekről számolnak be, de érdemi eredményt nem közölnek. Élesztő törzsekkel végzett korábbi kísérleteim (FODOR, 1993) során is tapasztaltam, hogy a Zr és a Cr koncentrációja között korreláció mutatkozik, az élesztősejtek Cr-tartalma jelentősen feldúsult a Zr-ASC kezelések hatására. A jelenség, az elvégzett kísérletek és irodalmi adatok alapján egyértelműen nem magyarázható.

4.1.6. Aminosav-tartalom

A Zr-ASC kezelésnek kitett növények esetében jelentős változás mutatkozott az aminosav-koncentráció értékekben.

A K-ASC kontroll tápoldatban nevelt növények aminosav-koncentrációja kivétel nélkül csökkent, ennek megfelelően az összaminosav koncentráció is kisebb a Knopp kontroll tápoldatban nevelt növényekéhez képest.

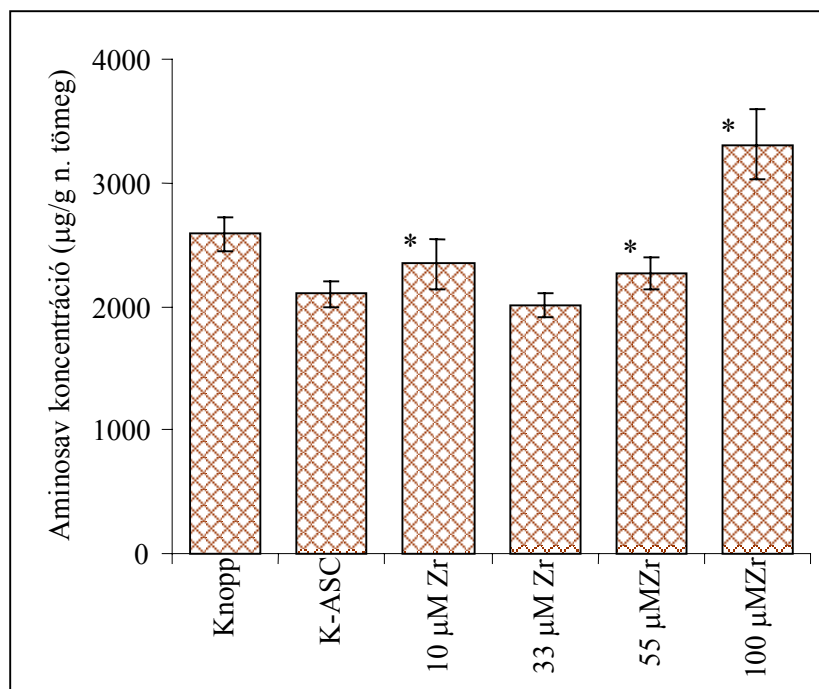
Gyökérminták

10 μ M Zr-ASC kezelés hatására számos aminosav-komponens (valin, lizin, arginin, a GABA valamint a Ser⁺ formával jelölt szerin + threonin+ aszparagin + glutamin esetében szignifikáns koncentráció-növekedést mértem. Egyéb aminosavak koncentrációját tekintve kismértékű, nem szignifikáns csökkenést tapasztaltam a kezelés következtében. Az összaminosav koncentráció szignifikánsan nőtt (28. ábra).

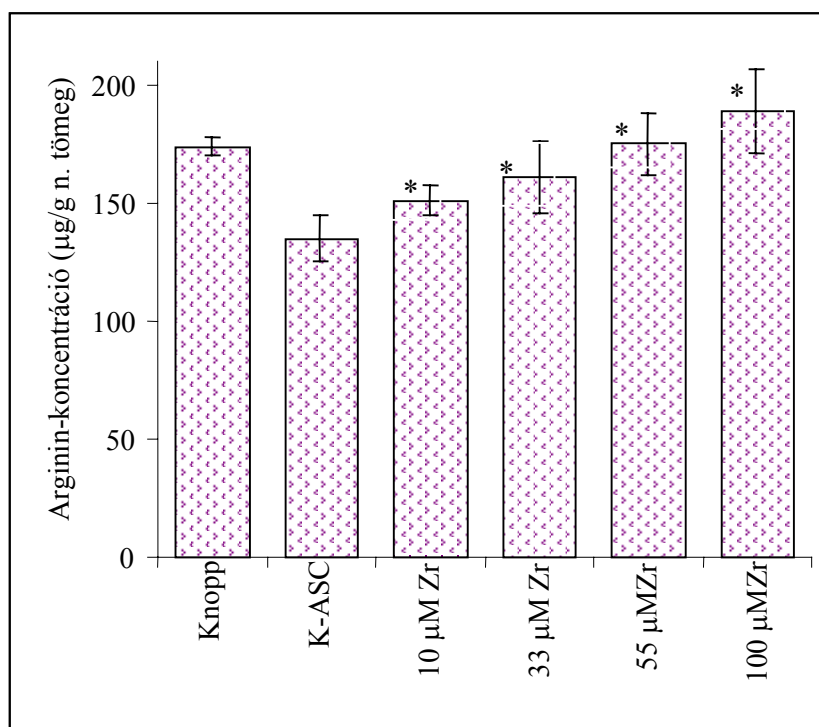
33 μ M Zr-ASC kezelés hatására az arginin és a GABA koncentrációértékében mértem szignifikáns növekedést, míg a többi vizsgált aminosav koncentrációja csökkent, de a változás kismértékű és nem szignifikáns. Az összaminosav koncentráció csökkent az aszkorbinsavas kontrollhoz képest, de a változás nem szignifikáns.

55 μ M Zr-ASC kezelés hatására, hasonlóan a 33 μ M Zr-ASC kezelésnél észleltekkkel, elsősorban csökkenő aminosavkoncentráció figyelhető meg, de a csökkenés csak a glutamin és az izoleucin esetében szignifikáns. Ugyanakkor szignifikáns növekedést tapasztaltam a prolin, a lizin, az arginin és a GABA koncentrációjában. Az összaminosav koncentráció szignifikánsan nőtt (28. ábra).

A vizsgált aminosav-komponensek közül kiemelném az arginint, amelynek koncentrációja a Zr-ASC kezelés koncentrációjának növekedésével minden esetben szignifikánsan nőtt (29. ábra).



28. ábra: A gyökér összaminosav koncentrációjának változása Zr-ASC kezelést követően (* = $P < 0,05$)



29. ábra: A gyökér arginin- koncentrációjának változása Zr-ASC kezelést követően (* = $P < 0,05$)

A 100 μM Zr-ASC kezelés a kis Zr-koncentrációkhoz képest jelentősen eltérő hatást váltott ki a gyökér aminosav-koncentrációjának alakulásában. Minden vizsgált komponens koncentrációja nőtt, s a növekedés néhány kivételtől eltekintve (cisztein, metionin, tirozin, fenilalanin, lizin) minden esetben szignifikáns volt. A gyökér összaminosav koncentrációja a K-ASC kontrollhoz képest több mint 57%-kal nőtt.

4. táblázat: A Zr-ASC hatására bekövetkezett változás a gyökér aminosav komponenseinek koncentrációjában

Táplódat Aminosav	Aminosav koncentráció ($\mu\text{g/g}$ n.minta)					
	Knopp	K-ASC	10 μM Zr	33 μM Zr	55 μM Zr	100 μM Zr
Asparagin	312	233	232	216	229	342
Ser⁺¹	1 062	883	1 080	880	909	1 473
Glutamin	288	268	256	237	207	491
Prolin	12	13	19	13	32	30
Glicin	14	12	14	14	15	20
Alanin	109	101	98	8	97	116
Cisztin	-	8	7	8	8	10
Valin	54	49	59	46	56	73
Metionin	16	12	11	14	18	12
Izoleucin	49	38	33	33	21	50
Leucin	77	57	49	55	60	79
Tirozin	22	22	19	21	24	24
Fenilalanin	33	29	19	26	35	33
Histidin	98	82	84	78	87	95
Lizin	56	24	41	42	43	37
Arginin	174	135	151	161	175	189
GABA (γ -amino-vajsav)	206	133	169	160	253	232
SumAA	2 584	2 099	2 342	2 012	2 268	3 305

¹ Ser⁺=szerin + threonin+ aszparagin + glutamin koncentrációja

Levélminták

A K-ASC kontroll oldatban a levélmintákban – a gyökérhez hasonlóan – az aminosav-komponensek koncentrációja csökkent. A K-ASC hatására bekövetkező aminosavtartalom csökkenést titán-aszkorbát esetében is tapasztalták SIMON et al. (1988a). A változás az aszparaginsav, Ser⁺, alanin, izoleucin, leucin, tirozin, fenilalanin, lizin, arginin és GABA esetében szignifikáns volt. A hisztidin koncentrációja gyakorlatilag változatlan volt, míg a glutamin koncentrációja szignifikánsan nőtt (5. táblázat). A K-ASC-os kontroll növények levelében az összaminosav-koncentrációja jelentősen kisebb volt, mint a Knopp-kontroll mintában mért érték (30. ábra).

10 μ M Zr-ASC kezelés hatására a levélminta aminosav-komponenseinek koncentrációja néhány kivételtől eltekintve (valin, metionin, izoleucin) szignifikánsan nőtt, de a kivételnek említett aminosavkomponensek koncentrációja is magasabb a K-ASC kontrollhoz képest (nem szignifikáns változás). Az összaminosav-koncentráció értékében jelentős, 78%-os növekedést mértem (29. ábra).

33 és 55 μ M Zr-ASC kezelés hatására az aminosavkomponensek mindegyikének koncentrációját magasabb értéknek találtam, mint a K-ASC kontrollérték esetében, de a növekedés mértéke elmarad az 10 μ M Zr-ASC kezelésnél tapasztalt értékektől. A Zr-ASC kezelés koncentrációjának növekedésével az egyes aminosav-komponensek koncentrációja egyre kisebb mértékben nőtt. Az összaminosav-koncentráció is magasabb a K-ASC-os kontrollértékhez képest, de a növekedés mértéke kisebb, mint amekkora értéket a legalacsonyabb Zr-ASC kezelés esetében tapasztaltam (67%-os illetve 22%-os).

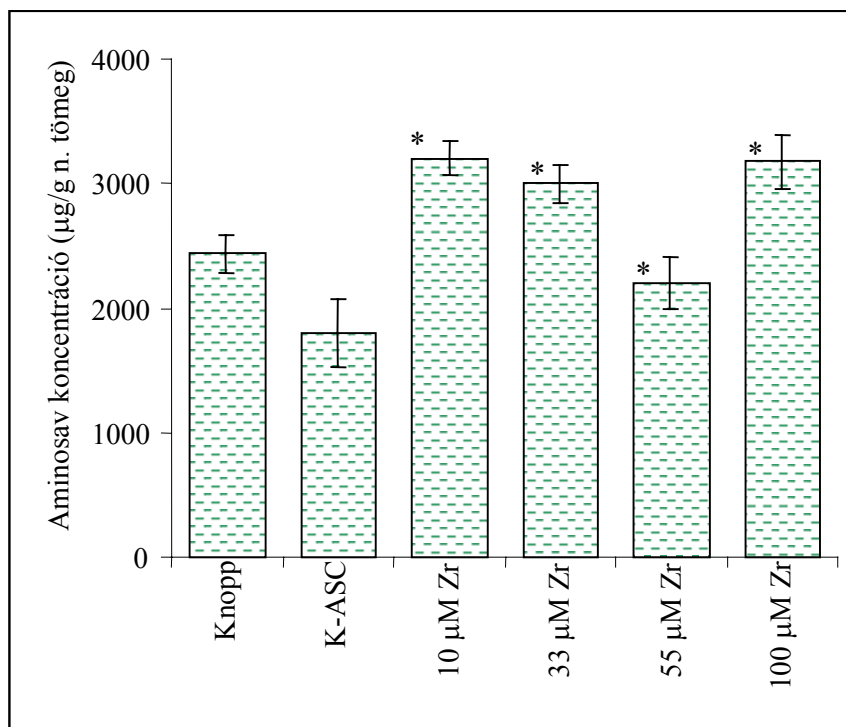
A 100 μ M Zr-ASC kezelésnél mért aminosav-koncentráció értékek egyes komponensek esetében jelentősen nagyobbak (aszparaginsav, Ser⁺, glutamin, glicin, alanin) az 55 μ M Zr-ASC kezelésnél mért értékhez képest. Az arginin esetében a koncentráció csökkenése igen nagymértékű. Az egyéb, fel nem sorolt aminosav-komponensek koncentrációja gyakorlatilag azonos értékű, az 55 μ M Zr-ASC kezelésnél mért értékkel.

Az összaminosav-koncentráció – a 10 μ M Zr-ASC kezelésnél tapasztalthoz hasonlóan - közel 77%-kal nagyobb a K-ASC kontrollnál mért értékhez képest (30. ábra)

5. táblázat: A Zr-ASC hatására bekövetkezett változás a levél aminosav komponenseinek koncentrációjában

Táplódat Aminosav	Aminosav koncentráció (µg/g n.minta)					
	Knopp	K-ASC	10 µM Zr	33 µM Zr	55 µM Zr	100 µM Zr
Asparagin	429	343	530	478	311	706
Ser⁺¹	549	409	766	849	637	963
Glutamin	255	313	518	422	192	370
Prolin	22	9	40	33	11	12
Glicin	18	11	28	53	52	77
Alanin	146	104	250	238	214	230
Cisztin	10	-	-	7	-	7
Valin	41	39	39	42	41	49
Metionin	13	8	15	11	7	8
Izoleucin	25	15	24	21	14	15
Leucin	31	18	28	25	19	17
Tirozin	23	14	27	28	14	14
Fenilalanin	34	18	36	32	19	17
Histidin	74	77	120	104	75	74
Lizin	76	40	73	63	37	28
Arginin	155	110	214	138	137	16
GABA (γ-amino-vajsav)	534	266	495	458	422	439
SumAA	2 435	1 793	3 203	3 001	2 200	3 173

¹ Ser⁺=szerin + threonin+ aszparagin + glutamin koncentrációja



30. ábra: A levél összaminosav-koncentrációjának változása Zr-ASC kezelés hatására

(* = $P < 0,05$)

A Zr-ASC kezelés hatására levélmintában az aszparaginsav, a Ser+ és a glutamin koncentrációja változott a legnagyobb mértékben. Az aszparaginsav és a glutamin koncentrációjában a Zr-ASC kezelések hatására azonos tendenciájú változást mértem. A Ser+ esetében a változás kissé eltér ettől, mert az 55 µM Zr-ASC kezelés esetében még koncentráció-növekedést mértem. Mindhárom komponens esetében jellemző azonban, hogy koncentrációértékük a 100 µM Zr-ASC kezelés hatására jelentősen csökkent. A változások minden esetben szignifikánsak voltak.

A mért komponensek közül figyelmet érdemel a glicin koncentrációváltozása is, amely a Zr-ASC kezelés hatására közel hatszoros értékre nőtt a K-ASC kontrollhoz képest.

4.1.6.1. Az aminosav-összetételre gyakorolt hatás kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések

Az aminosav-összetétel eredményei alapján megállapítható, hogy mind a gyökérben, mind a levélben az aszkorbinsavas kontroll mintákban jelentősen lecsökkent az összaminosav-koncentrációja. A csökkenés mértéke a levélben nagyobb.

A különböző koncentrációjú Zr-ASC kezelések hatására megváltozik a növény aminosav komponenseinek aránya, és az összaminosav-koncentráció értéke. A gyökérmintákban az 10, 55 és 100 µM, a levélmintákban az 10, 33 és 100 µM Zr-ASC kezelés hatására nőtt szignifikánsan

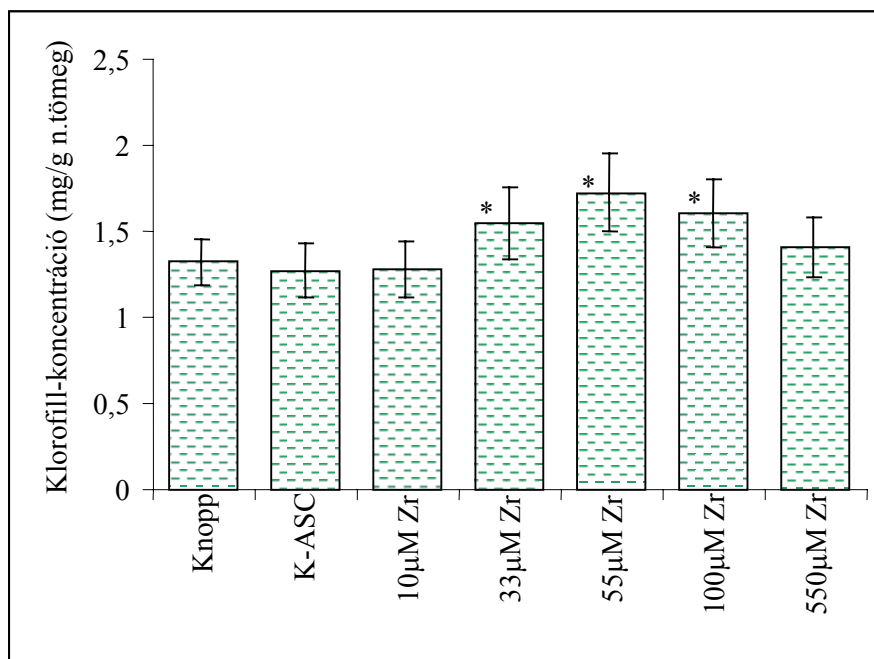
az összaminosav-koncentráció. Az egyes aminosavak közül az alanin (levélben), aszparaginsav, glutamin, Ser⁺(szerin + threonin+ aszparagin + glutamin), és GABA (levélben) koncentráció-növekedése a legjelentősebb.

A kísérleti eredmények alapján megállapítható, hogy a Zr-ASC-nak az aminosav koncentrációra gyakorolt hatása teljes mértékben összhangban áll a Ti-ASC-tal végzett kísérletek eredményeivel (LESKÓ et al.2000, 2002).

Az egyes aminosav-komponensek jelentős koncentráció-növekedése alapján lehetséges, hogy a Zr-ASC közvetett hatással van a citrátkörré, ugyanis a nagymértékben megnövekedett alanin, treonin és Ser (Ser⁺ koncentráció) tartalom átalakulása révén nagyobb mennyiségű piroszőlősav képződését eredményezheti (KARLSON, 1975).

4.1.7. Klorofilltartalom vizsgálata

A búza csíranövényeket laboratóriumi körülmények között, természetes megvilágításban neveltem. Tekintettel arra, hogy a kísérleteim téli időszakban zajlottak, a növények klorofill-koncentrációjára alacsonyabb értéket mértem, mint a kiegyensúlyozott, szabályozott intenzitású megvilágítás mellett (fitotronban) nevelt növényekben mérhető érték. A Zr-tartalmú tápoldatban nevelt növények klorofilltartalma 33, 55 és 100 μM Zr koncentrációnál szignifikánsan nőtt a K-ASC-os kontroll tápoldatban nevelt növényhez képest. Az 550 μM mintáknál is tapasztaltam a növekedést, de ez nem volt szignifikáns (31. ábra).



31. ábra: Klorofill-koncentráció változása Zr-ASC kezelés során (* = $P < 0,05$)

4.1.7.1 A klorofilltartalomra gyakorolt hatás kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések

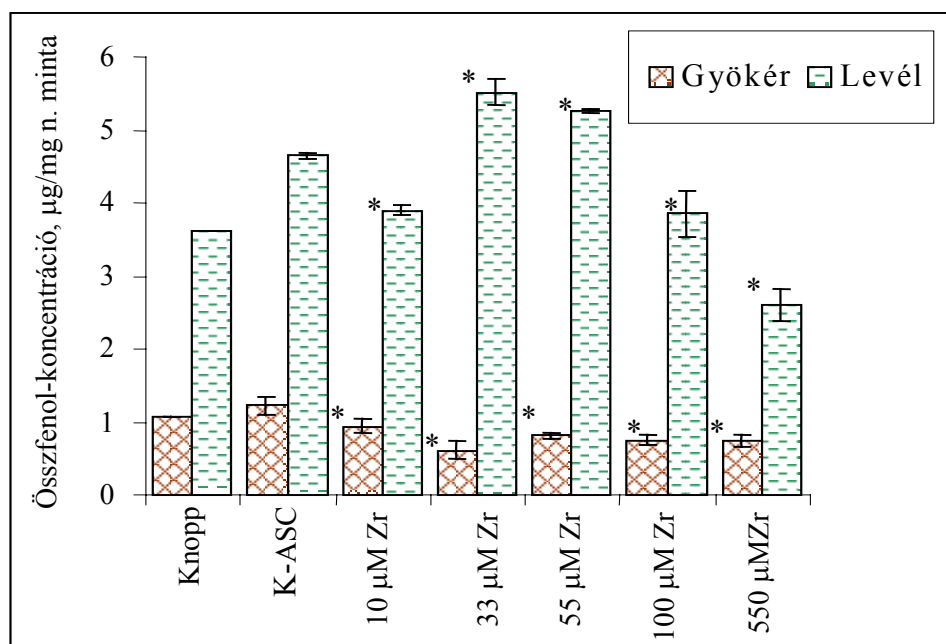
Megállapítható, hogy a búza csíranövény klorofilltartalma a Zr-ASC kezelés hatására szignifikánsan nő és még a legnagyobb koncentrációjú Zr-terhelés esetében is magasabb (nem szignifikáns eltérés) a kontrollhoz képest. Bár egyéb szempontok alapján (növekedési paraméterek, elemösszetétel) a 100 és 550 μM koncentráció-tartomány már toxikusnak tekinthető, a növények fotoszintetikus rendszere nem károsodik, klorotikus tünetek nem észlelhetők. A klorofill koncentráció szempontjából az 55 μM Zr-ASC kezelés a legkedvezőbb.

A Zr-ASC, a Ti-ASC-hoz hasonlóan (CARVAJAL et al. 1994) kedvező hatást gyakorol a búza csíranövény klorofillkoncentrációjára. SIMON et al. (1988b) *Chlorella* zöldalgán végzett kísérletei során feltételezte, hogy az alacsony $\text{Ti}^{3+}/\text{Ti}^{4+}$ redoxpotenciál növeli a Fe^{2+} mennyiségét az elektrontranszport láncban, ezáltal stimulálja a klorofill szintézisét és a pigment bioszintézist, ugyanakkor gátolja az enzimatis degradációt.

4.1.8. Összfenol mennyiségének mérési eredményei

A növényélettani szempontból másodlagos anyagcsere-termékként számontartott fenolvegyületek koncentrációnövekedése érzékenyen jelzi a növényt érő stresszhatást.

A Zr-ASC kezelésnek kitett növények gyökérrészében az összfenol-koncentráció értékei kismértékű, de szignifikáns csökkenést mutattak (32. ábra).



32. ábra: Az összfenol-koncentráció változása Zr-ASC kezelés hatására (* = $P < 0,05$)

A levélmintákban a 10, 100 és 550 μM Zr-ASC tápoldatos terhelés szignifikáns csökkenést, a 33 és 55 μM Zr-ASC jelenléte szignifikáns növekedést idézett elő az összfenol-koncentrációban.

4.1.8.1 Az összfenol-tartalomra gyakorolt hatás kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések

A növényt érő stresszhatásra, védekező reakcióként a növények összfenol-tartalmuk növekedésével reagálnak. Vízkultúrák növénykísérleteknél érthető módon a gyökérminták esetében várnánk ezt a reakciót. Vizsgálataink során meglepő módon nem ez tapasztalható, a búza csíranövény gyökérmintájában az összfenol-tartalom szignifikánsan csökken, függetlenül a tápoldat Zr-koncentrációjától. A jelenség valószínűleg összefüggésben áll a gyökérminták Zn, Mn és Cu koncentrációjában bekövetkező növekedéssel. Ezen elemek koncentrációnövekedése és a minta összfenol-tartalmának csökkenésének kapcsolatát STEFANOVITS és munkatársai (2002) *Rosa canina* L esetében már tapasztalta.

A levélminták esetében 33 és 55 μM Zr-ASC kezelés idéz elő szignifikáns növekedést.

Feltehető, hogy a Zr valamilyen módon képes a sejtek redoxiállapotát befolyásolni. A kialakuló kismértékű oxidatív stressz okozhat nagyobb toleranciát és magyarázhatja a Zr kis koncentrációjának kedvező hatását.

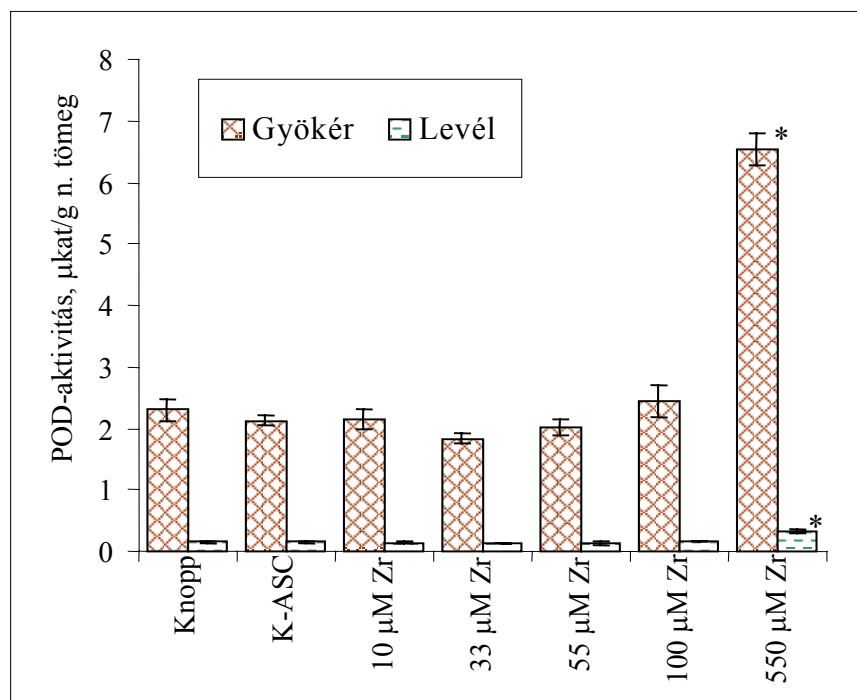
4.1.9. A növények antioxidáns hatású enzimatisz védekező rendszere

4.1.9.1. Gvajakol-peroxidáz (POD)

A gvajakol-peroxidáz (POD) a növényi sejtekben széles körben előforduló enzim, amely a H_2O_2 -ot H-donor vegyületek felhasználásával redukálja.

A búza csíranövény gyökerében jóval magasabb POD-aktivitás mérhető, mint a levélben

A gyökérben a legnagyobb, 550 μM Zr-ASC kezelés hatására a POD-aktivitás a kontroll növények enzimaktivitásához képest több mint háromszorosára növekedett (33. ábra)

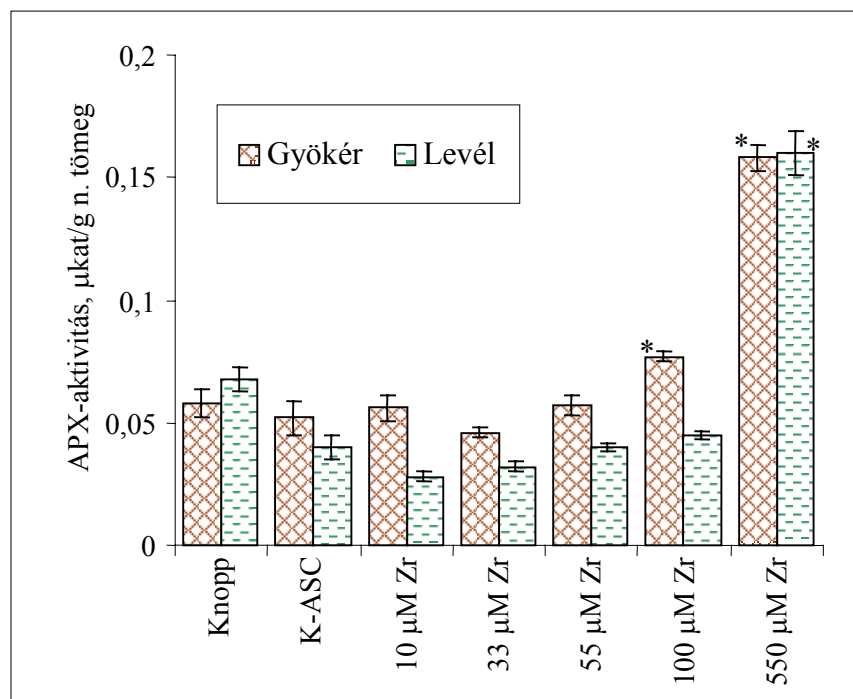


33. ábra: Gvajakol-peroxidáz (POD) aktivitásának változása Zr-ASC kezelés hatására (* = $P < 0,05$)

4.1.9.2. Aszkorbinsav-peroxidáz (APX)

Az APX elsősorban a fotoszintetikus folyamatok során képződő reaktív oxigénformákkal szembeni antioxidáns védelemben játszik szerepet.

A kisebb Zr-koncentrációjú kezelések esetében sem a levélben, sem a gyökérben nem tapasztalható az APX jelentős mértékű megváltozása. A nagy koncentrációjú (100 és 550 µM) Zr-ASC kezelés hatására az APX aktivitása jelentősen megnövekedett mind a gyökérben, mind a levélben (34. ábra).

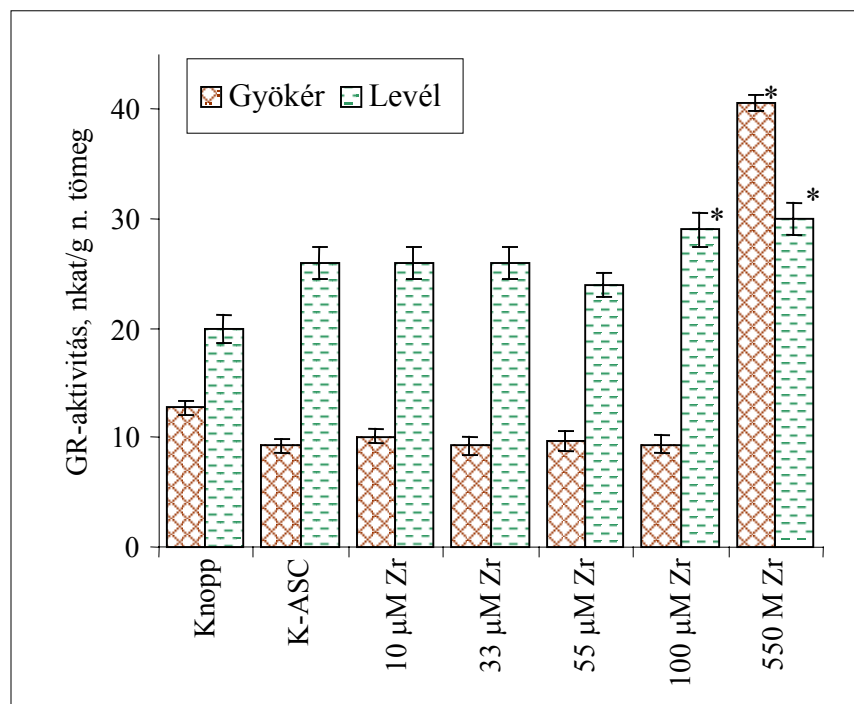


34. ábra: Az aszkorbinsav-peroxidáz (APX) aktivitásának változása Zr-ASC kezelés hatására
(* = $P < 0,05$)

4.1.9.3. Glutation reduktáz (GR)

A glutation reduktáz az aszkorbát-glutation ciklusban a glutation oxidált formájának redukcióját katalizálja. Aktivitása stressz hatására növekszik, és ez a fokozott aktivitás számos stresszhatással szemben nagyobb ellenállóságot biztosít.

A GR-aktivitás szignifikáns növekedése a gyökérben az 550 μM Zr-koncentrációnál, a levélben a 100 és 550 μM Zr-ASC kezelésnél következett be. (35. ábra).



35. ábra: Glutation-reduktáz (GR) aktivitásának változása a Zr-ASC kezelés hatására

(* = $P < 0,05$)

4.1.9.4 Az enzimaktivitásra gyakorolt hatás kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések

A gvajakol-peroxidáz (POD) aktivitásának emelkedése általános stresszválasznak tekinthető (VAN ASSCHE és CLIJSTERS, 1990; HEGEDŰS et al., 2001).

A gvajakol-peroxidáz (POD) enzim aktivitásának értékeit vizsgálva megállapítható, hogy az 550 µM Zr-ASC kezelés egyértelmű stresszreakciót vált ki a növényben. A POD aktivitása a gyökérben és a levélben, a kontroll értékhez képest több mint háromszorosára növekedett.

Érdemes megemlíteni, hogy a gyökér és a levél esetében egyaránt a 100 és 550 µM Zr-koncentráció hatására bekövetkező, nagy mértékű POD-aktivitás emelkedéssel párhuzamosan az összfenol mennyiségében jelentős csökkenés tapasztalható. A lignin bioszintézisének egyes lépéseit a POD izoenzimjei katalizálják, mely folyamatban az enzim különféle fenolos vegyületeket is szubsztrátként hasznosít (GASPAR et. al., 1985).

Mindez arra utal, hogy a megnövekedett POD-aktivitás elsősorban a lignifikációban résztvevő izoenzimek aktivitásemelkedéséből származik, amit más környezetszennyező fémek hatására is leírtak korábban (PANDOLFINI et al., 1992; HEGEDŰS et al., 2001).

A nagyobb mértékű lignindepozícióval az enzim a növény fémfelvételét fizikailag akadályozni, gátolni képes (HEGEDŰS et al., 2001).

A nagymértékű lignifikáció azonban a gyökérsejtek rigiditását növeli, ami a növekedés gátlásához vezet (GASPAR et. al., 1985), ahogyan az a nagy (100 és 550 μM) Zr-koncentráció gyökérnövekedésre gyakorolt hatásában is világosan megmutatkozik.

A növények fejlődése is (17. ábra) a POD aktivitásban mért változást támasztja alá, mert a növények mérete, külső megjelenése egyértelműen jelzi a stresszhatást.

A nagy koncentrációjú (100 és 550 μM) Zr-ASC kezelés hatására megnövekedett APX- és GR-aktivitás arra utal, hogy ilyen mértékű Zr-ASC kezelés hatására a növényi sejtek jelentős mértékű oxidatív stresszhatást szenvednek el.

4.2. CIRKÓNIUM KEZELÉS HATÁSA KADMIUMTARTALMÚ TÁPOLDATBAN NEVELT BÚZA CSÍRANÖVÉNYRE

A Cd az egyik legveszélyesebbnek tartott nehézfém. Pozitív élettani hatása nem bizonyított, de növényekre és állatokra gyakorolt toxikus hatása régóta ismert (ADRIANO, 1986).

A kadmium a talajban oldott formában, szerves és szervetlen kolloidokhoz kötve, talajásványokba zárva és oldhatatlan csapadék formájában egyaránt előfordulhat. A növények Cd-felvételét a talaj kémhatása, kationcserélő képessége, szervesanyag-tartalma, redoxi viszonyai valamint egyéb elemek (cink, klorid stb) koncentrációi befolyásolják (ADRIANO, 1992).

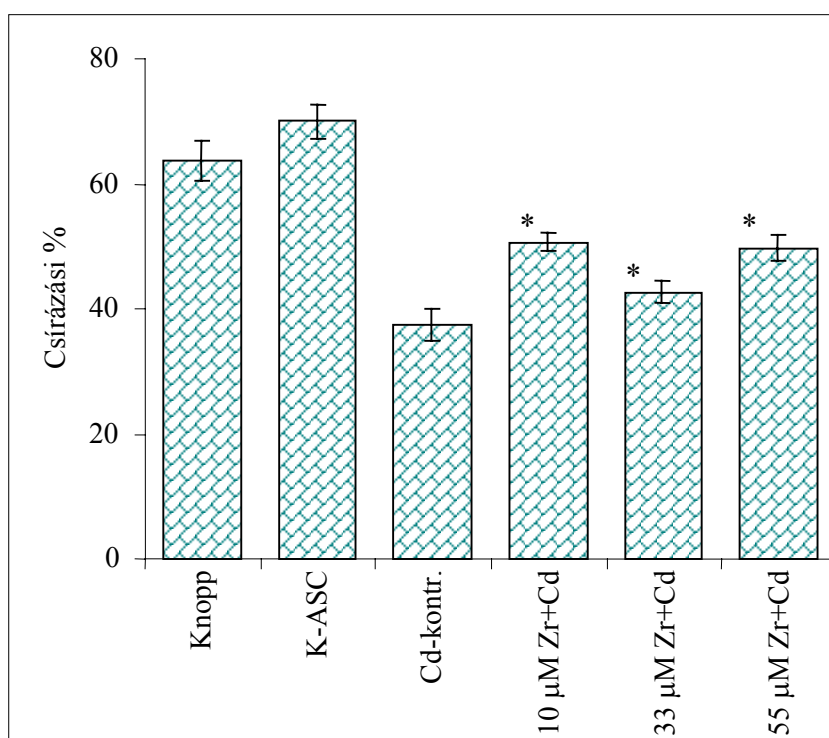
A Cd a növények számára könnyen felvehető és a növényen belül könnyen szállítódó elem. A növények gyakran mérgezési tünetek nélkül nagy mennyiségben halmozzák fel a Cd-ot, amely a táplálékláncba kerülve veszélyezteti az ember egészségét (WAALKES, 2000).

Kísérleteim során a tápoldatok kadmium-koncentrációja 200 μM volt. A korábbi kísérleteknél alkalmazott Knopp-tápoldat és kálium-aszkorbát (K-ASC) kontroll oldatok mellett Cd-kontroll oldatot is vizsgáltam, amely a K-ASC oldat Cd-mal dúsított változata volt (a későbbiekben erre a tápoldatra Cd-kontrollként hivatkozom). A Zr-koncentrációkat a korábban már kedvező hatásúnak tapasztalt 10, 33 és 55 μM értékre állítottam be.

Mérési eredményeimet a kiértékeléskor minden esetben a Cd-kontroll mintáknál kapott értékekhez viszonyítottam.

4.2.1. Csírázási százalék meghatározása

A Cd-kontroll minta csírázási százalékában az aszkorbinsavas kontrollhoz képest nagymértékű csökkenést mértem. A Cd erősen gátolta a búza csírázási folyamatát. A Zr-ASC-tal kiegészített tápoldatban a csírázási százalék értéke növekedett a Cd-kontrollhoz képest, a növekedés szignifikáns volt (36. ábra).



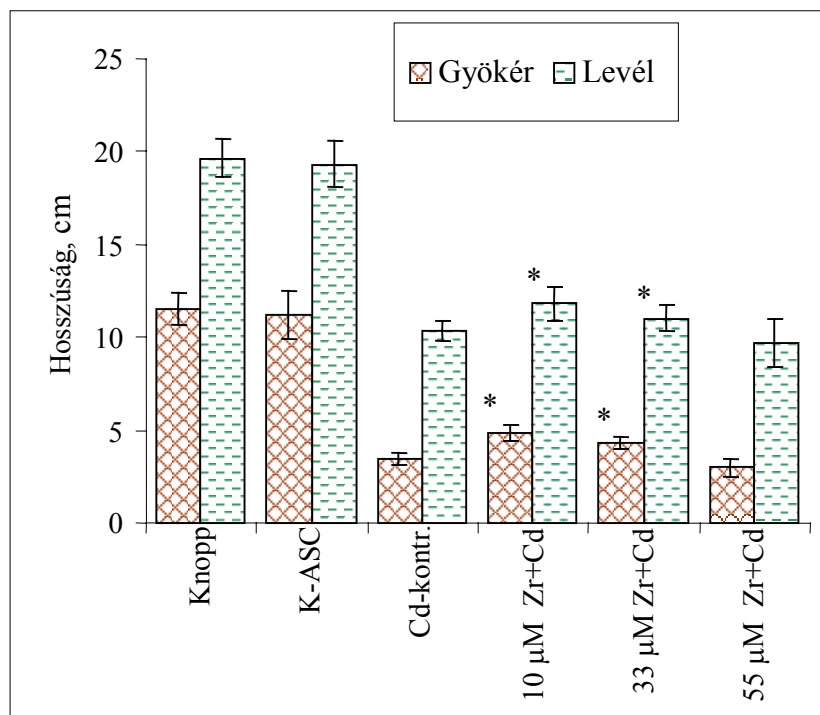
36. ábra: Zr-ASC hatása a Cd-tartalmú tápoldatban nevelt búza csírázási százalékára

(* = $P < 0,05$)

4.2.2. A Zr-ASC hatása a Cd-kezelt búza csíranövények növekedési paramétereire

A Cd-kezelés hatására a gyökér és a levél hossza egyaránt jelentős mértékben csökkent mind a Knopp, mind a K-ASC kontrollhoz képest, ugyanakkor 10 µM Zr-ASC kezelés hatására mind a gyökér, mind a levél hosszára szignifikáns növekedést mértem a Cd-kontrollhoz képest. A 33 µM Zr-ASC kezelés esetében is tapasztaltam még a szignifikáns növekedést, de a növekedés mértéke kisebb volt, mint a 10 µM Zr-ASC kezelés esetében (37. ábra).

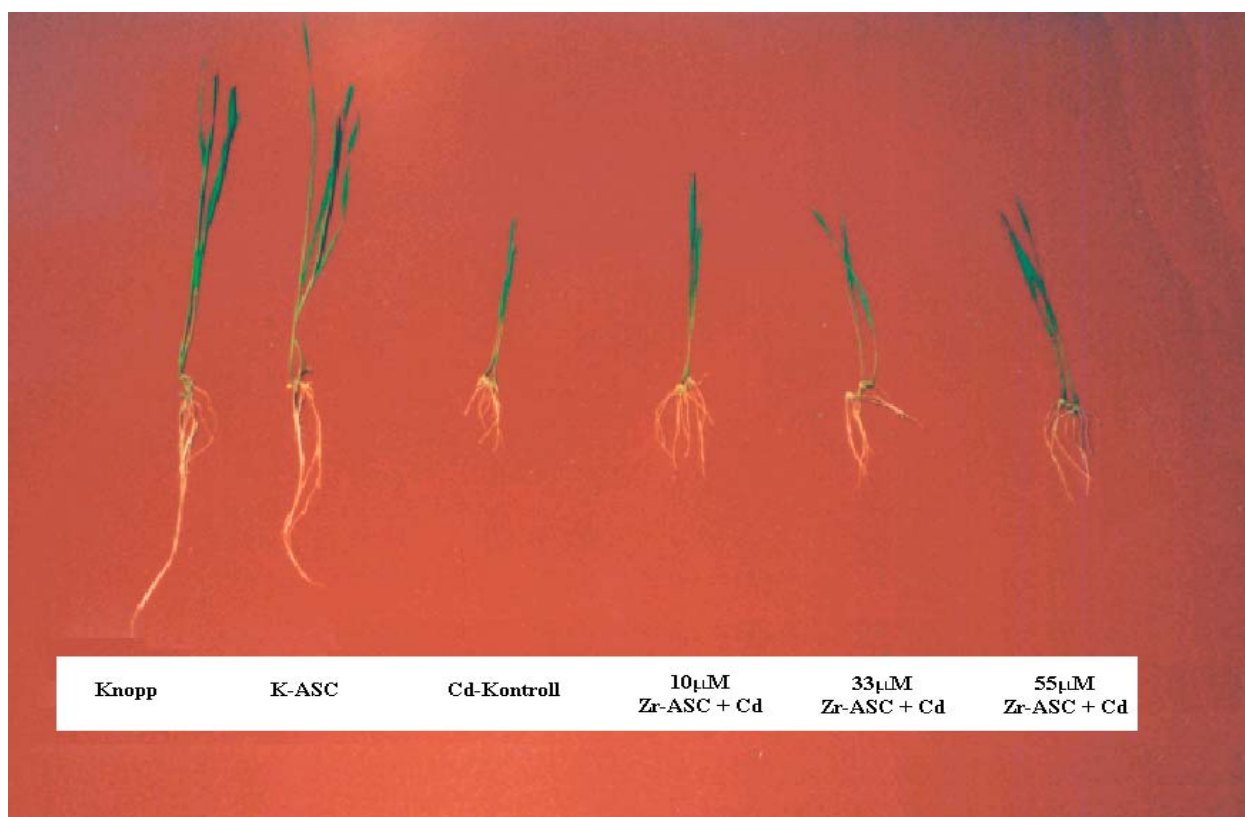
55 µM Zr-ASC kezelés hatására már nem észleltem szignifikáns eltérést a Cd-kontrollhoz képest, a gyökér és a levél hossza gyakorlatilag azonos volt a Cd-tápoldatban nevelt növényekével (37., 38., 39. ábra).



37. ábra: Zr-ASC hatása a Cd-tartalmú tápoldatban nevelt búza csíranövény méreteire
(* = $P < 0,05$)



38. ábra: A Zr-ASC hatása a Cd-kezelt növények fejlődésére
(természetes megvilágítás, 9 napos kezelés, a feliratnak megfelelő tápoldat-összetétel)

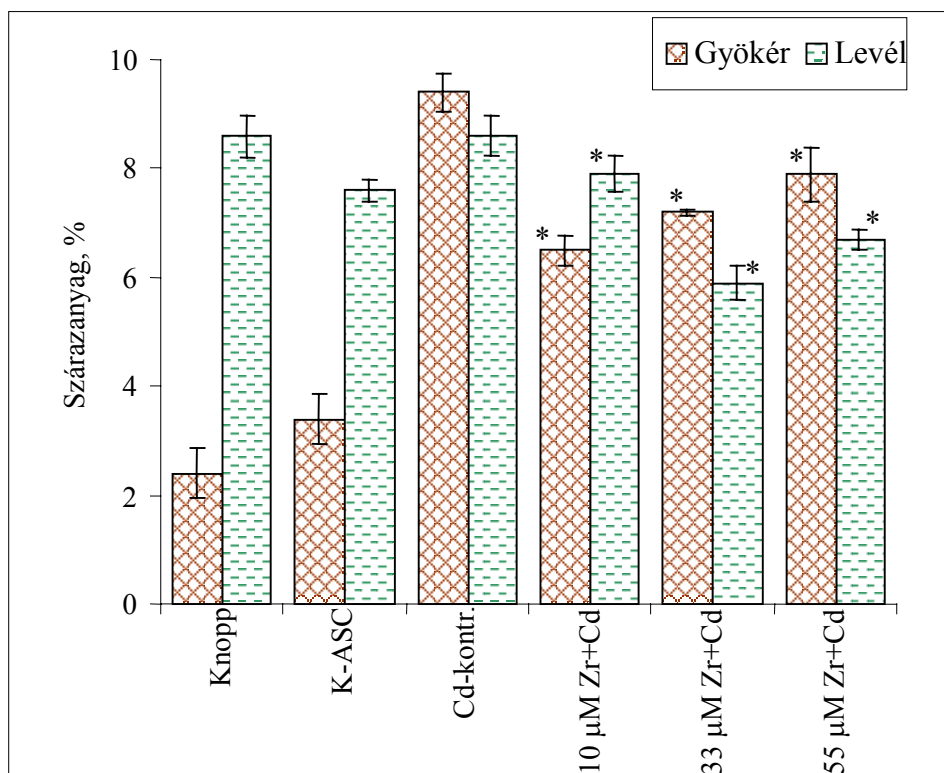


39. ábra: A Cd okozta hajtás- és gyökernövekedés gátlást a Zr-ASC kismértékben kompenzálta

4.2.3. Szárazanyag-tartalom meghatározása

A Cd-stressz hatására a növény gyökerének és levelének szárazanyag-tartalma egyaránt növekedett. A Cd hatására a gyökér érzékenyebben reagált, amely a szárazanyag-tartalom jelentős növekedésében nyilvánult meg (40. ábra).

Zr-ASC kezelés hatására a gyökér szárazanyag-tartalma mindhárom Zr-koncentráció esetében szignifikánsan csökkent, de – a csírázási százaléknál tapasztalt jelenséghez hasonlóan – a különböző Zr-koncentrációk, eltérő mértékben hatottak a szárazanyag-tartalomra. Az 10 μ M Zr-ASC kezelés hatására csökkent a legnagyobb mértékben a szárazanyag-tartalom. A 33 és 55 μ M Zr-koncentráció mellett még mindig szignifikánsan kisebb szárazanyag-tartalmat mértem a Cd-kontrollhoz képest, de a két érték közötti különbség egyre kisebb mértékű volt.



40. ábra: A Cd-tartalmú tápoldatban nevelt búza csíranövény szárazanyag-tartalmának változása Zr-ASC kezelés során (* = $P < 0,05$)

A levélminták szárazanyag-tartalma a Cd hatására szignifikánsan növekedett a K-ASC-hoz képest, de a növekedés mértéke sokkal kisebb volt, mint a gyökérnél tapasztalt érték. A levélmintáknál – a gyökérmintákhoz hasonlóan – a Zr-ASC kezelés hatására szignifikánsan csökkent a szárazanyag-tartalom a Cd-kontrollhoz képest.

4.2.4. A búza csíranövény fejlődési paramétereire gyakorolt hatás kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések

A 200 µM Cd hatására csökkenő csírázási százalék, a gyökér és a levél hosszában bekövetkezett jelentős mértékű csökkenés, valamint a szárazanyag-tartalomban tapasztalt nagymértékű növekedés a Cd okozta toxikus hatással magyarázható.

Kísérleteim során a Cd-tartalmú tápoldatot Zr-ASC-tal egészítettem ki, és azt vizsgáltam, hogy a 10, 33 és 55 µM Zr-koncentráció képes-e befolyásolni a Cd jelenléte okozta stresszhatást.

A csírázási százalék értékében bekövetkezett csökkenést a Zr-ASC kezelés képes szignifikáns mértékben ellensúlyozni, nagymértékben csökkentette a Cd okozta stresszhatást, de teljes mértékben nem kompenzálta.

A kadmiumkezelt növény gyökerének és levelének méretbeli csökkenését az 10 és 33 μM Zr-ASC kezelés szignifikánsan ellensúlyozza, de már az 55 μM Zr-koncentrációnál ez a hatás nem érvényesül. Bár a Zr-ASC hatására a gyökér és a levél hossza szemmel láthatóan nagyobb (38., 39. ábra), a Zr-ASC kezelés nem tudja teljes mértékben kompenzálni a Cd-stressz okozta méretcsökkenést.

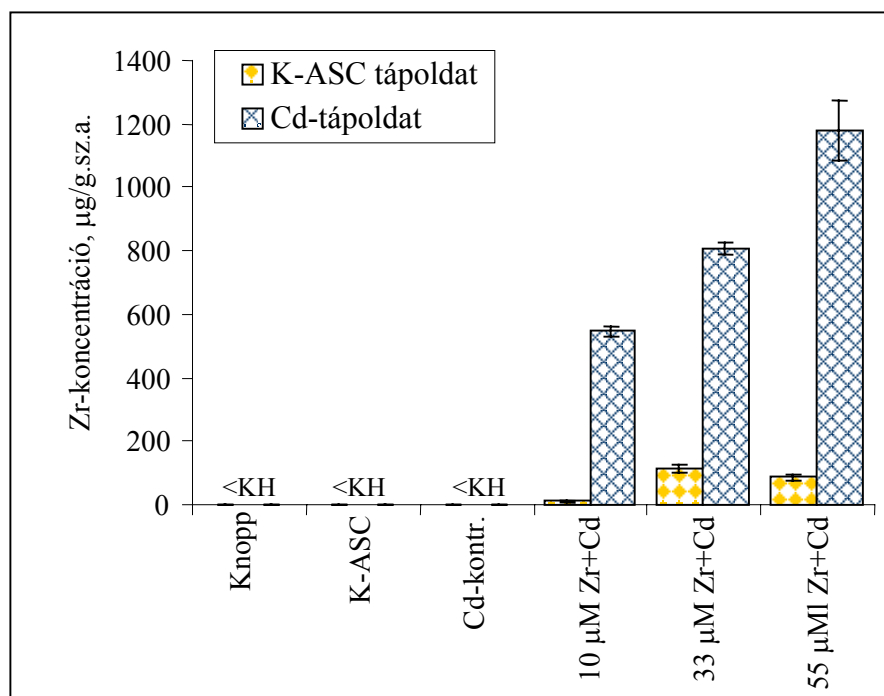
A Cd-kezelt növények szárazanyag-tartalmában bekövetkezett növekedés összefüggésben áll azzal, hogy a nehézfémek kedvezőtlenül befolyásolják a növények vízháztartását (MOYA et.al., 1993). A különböző koncentrációban jelenlevő Zr ellensúlyozza ezt a hatást, ezáltal szignifikánsan csökkenti a gyökér és a levélminták szárazanyagtartalmát. A csökkenés mértéke a gyökér mintáknál 10 μM Zr hatására, míg a levélmintáknál 33 μM Zr hatására a legnagyobb.

4.2.5. Elemösszetétel vizsgálata

4.2.5.1. Cd-tartalmú tápoldatban nevelt búza csíranövény cirkóniumfelvétele

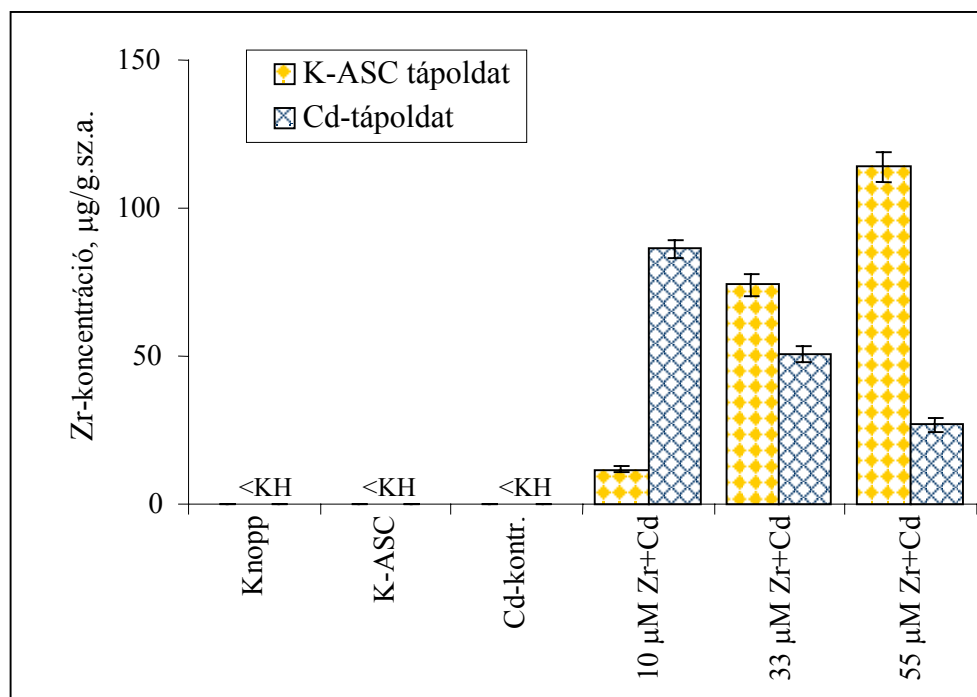
A cirkónium tápoldat→gyökér irányú transzport-folyamatát a Cd nem gátolta, sőt nagyobb mértékű volt, mint a Cd nélkül végzett kísérleteknél (41. ábra). A gyökerek Zr-tartalma a Zr-ASC kezelés növekedésével jelentős mértékben nőtt.

A Cd jelenléte gátolta a Zr növényen belüli transzlokációját. A tápoldat Zr koncentrációjának növekedésével a transzlokáció mértéke radikálisan csökken (42. ábra).



41. ábra: Búza csíranövény gyökerének Zr-felvétele különböző tápoldatok esetében

(KH=2,5 $\mu\text{g/g}$ sz.a.)



42. ábra: Búza csíranövény levelének Zr-felvétele különböző tápoldatok esetében
(KH=2,5 µg/g sz.a.)

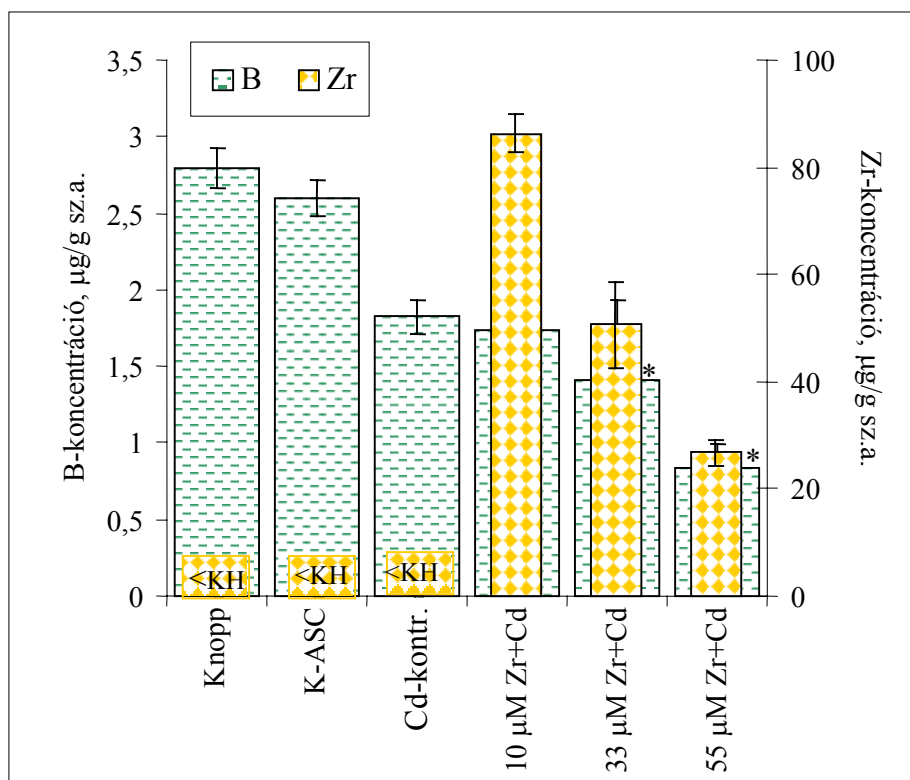
4.2.5.2. *Néhány esszenciális mikroelem koncentrációjának változása a Cd-tartalmú tápoldatban nevelt, Zr-ASC oldattal kezelt búza csíranövényben*

A Cd-tartalmú tápoldatban végzett kísérletek eredményeként a Cd olyan nagymértékben gátolta a növény fejlődését, hogy a *bór* koncentrációértéke a kimutatási határ értéke alá esett.

A B és a Zr koncentrációváltozása a növények levélszövetében azonos tendenciájú, mindkettő csökkent. A bór koncentrációja 10 µM Zr-ASC kezelés hatására nem változott, értéke megegyezett a Cd-kontrollban mérttel. A 33 és 55 µM Zr-ASC kezelés hatására a levélminták bórkoncentrációja szignifikánsan csökkent a Cd-kontrollban mért értékhez képest (43. ábra).

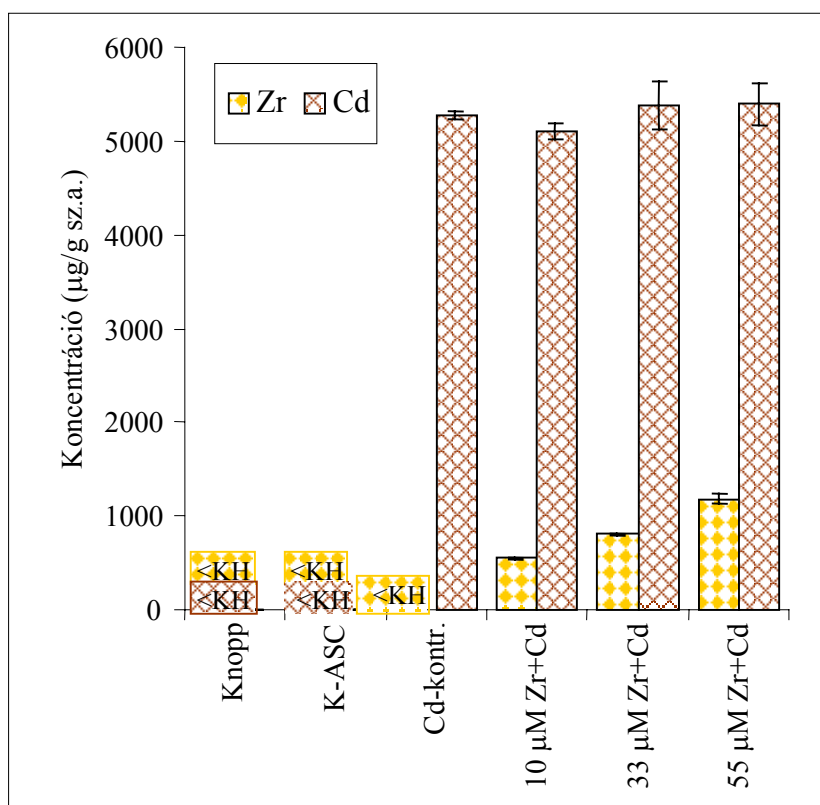
A búza csíranövény gyökérrésze jelentős mértékben akkumulálta a tápoldatban található *kadmiumot*. A gyökérben nagy mértékű a Cd-feldúsulás, s ennek értékét a Zr jelenléte nem befolyásolta (44. ábra).

A gyökér→levél transzlokáció a Cd-ra nézve is gátolt (45. ábra). 10 µM Zr-ASC kezelés esetében a levél Cd-tartalma a Cd-kontroll értékével azonos volt. A 33 és 55 µM Zr-ASC kezelés hatására a levélminták Cd-koncentrációjában szignifikáns csökkenést tapasztaltam.



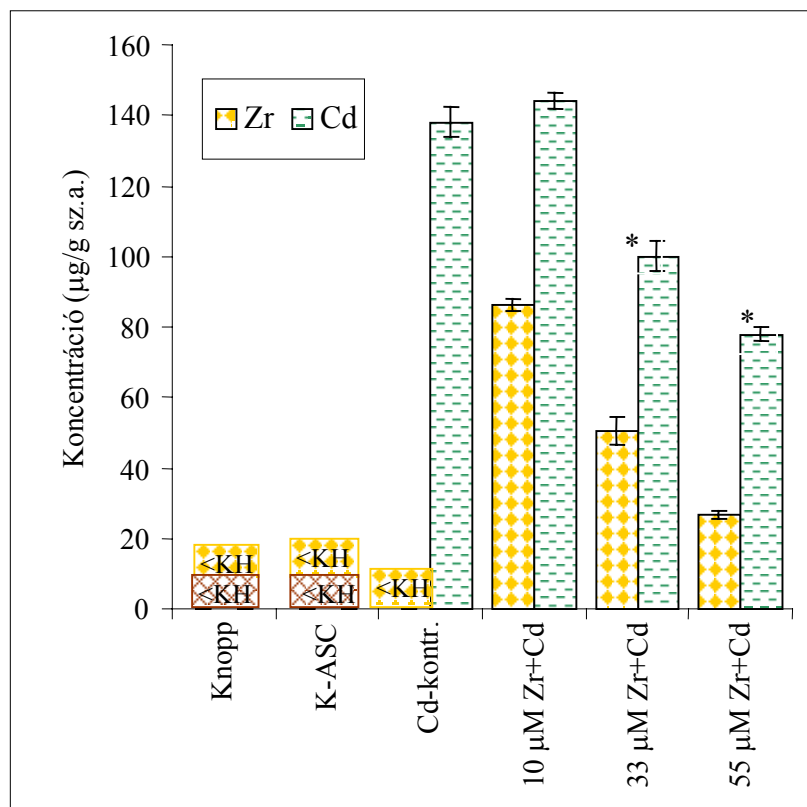
43. ábra: Levélminta B és a Zr koncentrációjának alakulása Cd stressz mellett

(* = $P < 0,05$, KH=2,5 µg/g sz.a.)



44. ábra: A Cd-koncentráció változása a búza csírnövény gyökerében a Zr-ASC kezelést

követően (Zr-KH=2,5 µg/g sz.a., Cd-KH=0,25 µg/g sz.a.)



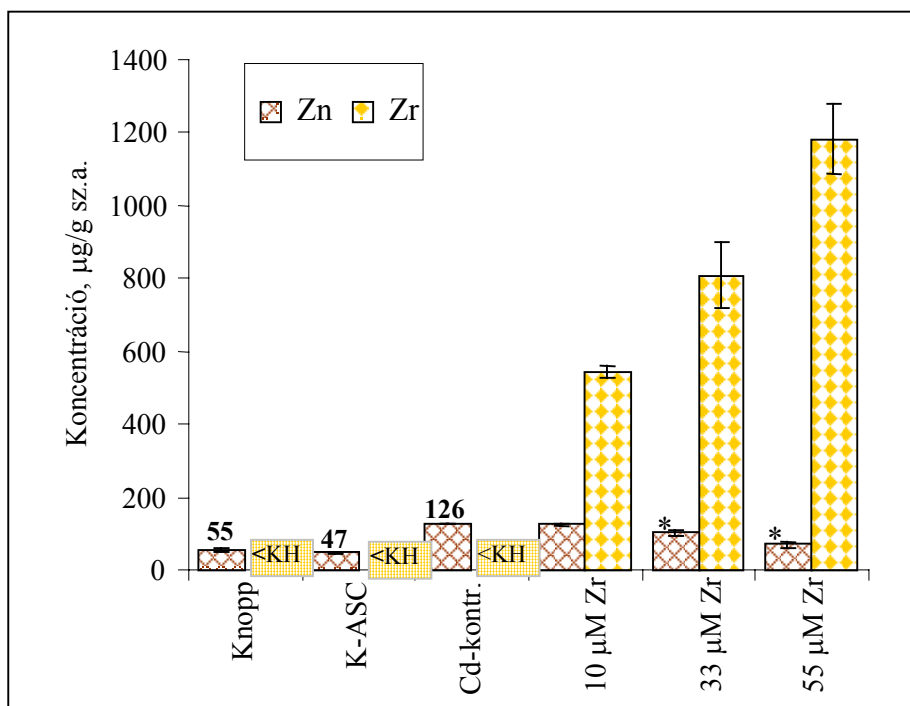
45. ábra: A Cd-koncentráció változása a búza csírnövény levelében a Zr-ASC kezelést követően (Zr-KH=2,5 µg/g sz.a., Cd-KH=0,25µg/g sz.a.)

A Cd-tartalmú tápoldatban nevelt növények levelében a *cink*-koncentráció nem változott szignifikáns mértékben. A gyökérminták Zn-koncentrációjára a kadmium jelentős hatással volt. A Cd-kontroll tápoldatban nevelt növények gyökerében a Zn-koncentrációja közel 2,7-szeresére nőtt a K-ASC kontrollban nevelt növényben mért értékhez képest.

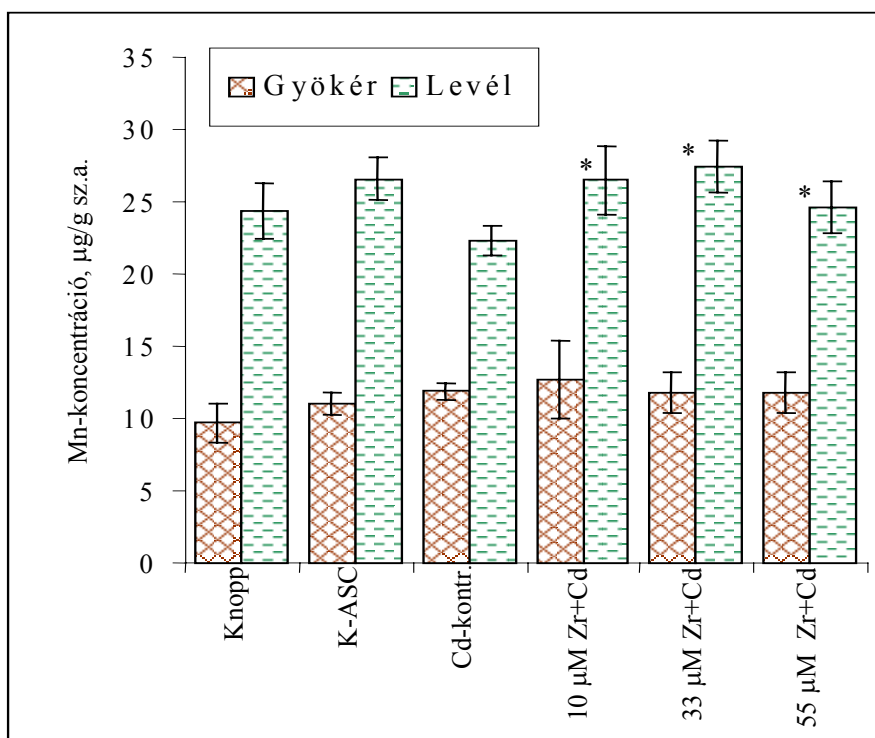
10 µM Zr-ASC kezelés hatására a gyökérminták Zn-koncentrációjában szignifikáns változást nem észleltem, míg a 33 és 55 µM Zr-ASC kezelés hatására a növények gyökerében a Zn koncentráció szignifikánsan csökkent (46. ábra).

A Cd-tápoldatban nevelt búza csíranövények gyökerének *mangántartalmában* szignifikáns változás nem következett be.

A levélminták Mn koncentrációja szignifikánsan csökkent a Cd-kontroll tápoldatban nevelt növények esetében (47. ábra).



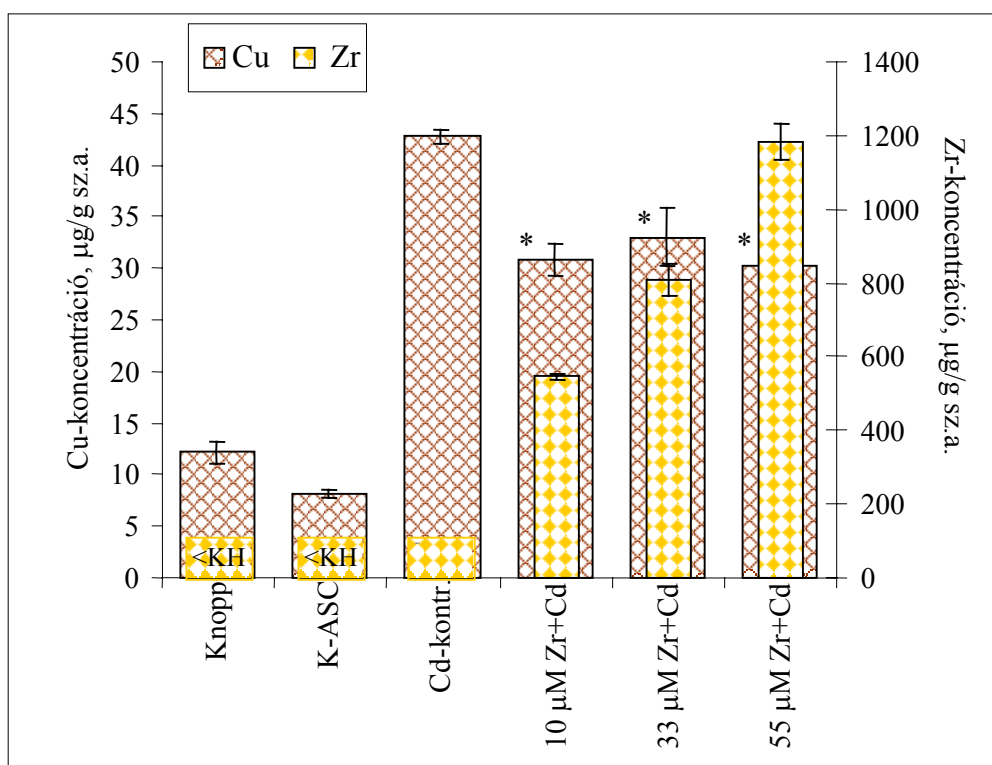
46. ábra: A Cd-tartalmú tápoldatban nevelt minta gyökerének Zn koncentrációjának változása Zr-ASC kezelés során (* = $P < 0,05$, KH=2,5 µg/g sz.a.)



47. ábra: A Cd-tartalmú tápoldatban nevelt búza csíranövény Mn-koncentrációjának változása Zr-ASC kezelés során (* = $P < 0,05$)

A különböző koncentrációjú Zr-ASC kezelések hatására a levélminták Mn-koncentrációja szignifikánsan nőtt a Cd-kontroll oldatban nevelt mintában mért értékhez képest: 10 és 33 μM Zr-ASC kezelés hatására a Mn-koncentráció arányosan növekedett, a Mn-tartalom a nagyobb Zr-koncentráció esetében nagyobb volt. 55 μM Zr-ASC kezelés hatására a Mn-tartalomban kismértékű csökkenést tapasztaltam, ez az érték azonban még mindig szignifikánsan magasabb volt, mint a Cd-tartalmú tápoldatban nevelt növény levelében mért érték (47. ábra).

A tápoldat Cd-tartalmának hatására a gyökérminták rézkoncentrációja jelentős mértékben változott. A Cd-kontroll tápoldatban nevelt növények gyökérmintáiban igen magas Cu-koncentrációt mértem (42,7 $\mu\text{g/g}$ sz.a., SD= 0,495). A különböző koncentrációjú Zr-ASC kezelés hatására ez a rendkívül magas Cu-koncentráció szignifikánsan csökkent (48. ábra).

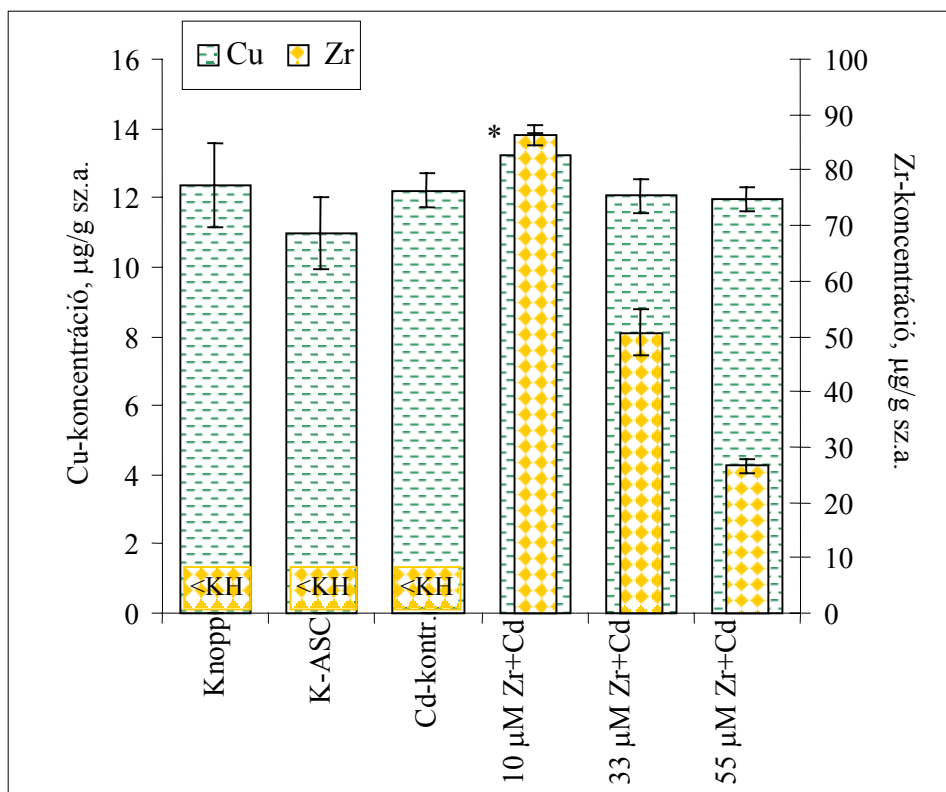


48. ábra: A Cd-tartalmú tápoldatban nevelt búza csíranövény gyökerében mért Cu-koncentráció változása a Zr-ASC kezelést követően (* = $P < 0,05$, KH=2,5 $\mu\text{g/g}$ sz.a.)

A Zr-ASC kezelés 10-55 μM tartományon belüli koncentrációja gyakorlatilag nem befolyásolta a Cu-koncentráció csökkenésének mértékét. A három eltérő Zr-koncentráció azonos mértékben csökkentette a Cd-tartalom miatt megnőtt Cu-koncentráció értékét.

A levélminták esetében szignifikáns Cu-koncentráció-növekedést csak az 10 μM Zr-ASC kezelés esetében mértem. Ugyanakkor nem tapasztaltam szignifikáns változást a Cu-

koncentráció értékekben sem a Cd-kontroll tápoldatban sem a 33- és 55 μM Zr-tartalmú tápoldatban nevelt növényminták esetében (49. ábra).



49. ábra: A Cd-tartalmú tápoldatban nevelt búza csíranövény levelében mért Cu-koncentráció változása a Zr-ASC kezelést követően (* = $P < 0,05$, KH=2,5 $\mu\text{g/g}$ sz.a.)

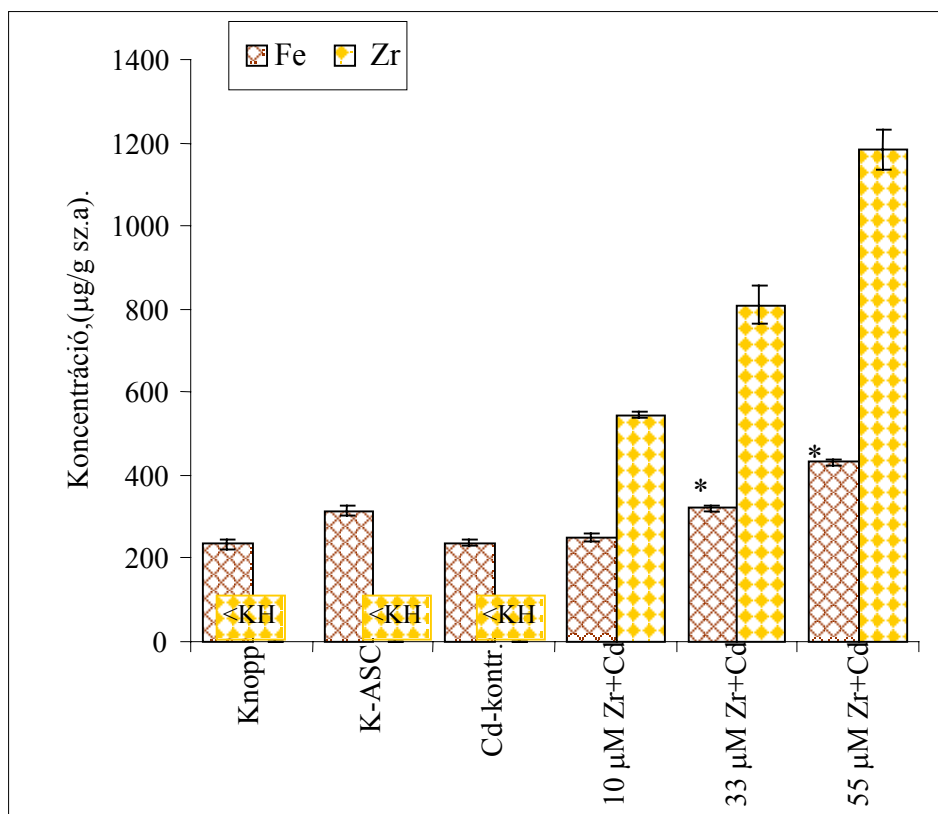
A tápoldat Cd-tartalmának hatására a csíranövények gyökér- és levélmintáiban mért vaskoncentráció jelentős mértékben változott.

A Cd-kontroll tápoldatban nevelt növények gyökérmintáiban a vaskoncentráció szignifikánsan csökkent a K-ASC kontrolltápoldatban nevelt mintákhoz képest. A 10 μM Zr-ASC kezelés hatására a gyökérminták vaskoncentrációja nem változott.

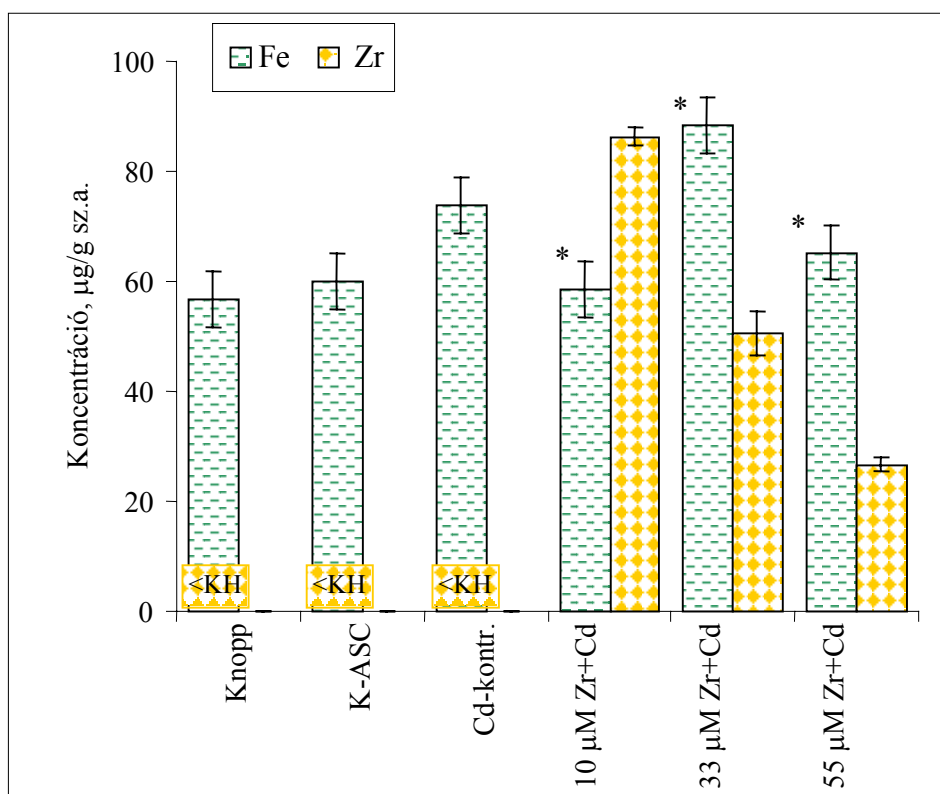
A 33 és 55 μM Zr-tartalmú tápoldatban nevelt növények gyökerében szignifikánsan nőtt a vaskoncentráció a Cd-kontroll növények gyökérmintáihoz képest.

A koncentrációnövekedés olyan nagy mértékű volt, hogy a 33 μM Zr-ASC kezelés hatására a gyökérminta vaskoncentrációja elérte a K-ASC kontrollnövény gyökérmintájában mért értéket, az 55 μM Zr-ASC kezelés hatására pedig mintegy 40%-kal meghaladta azt (50. ábra).

A búza csíranövény levélmintáiban a Cd-tartalmú tápoldat hatására a vaskoncentráció nőtt a K-ASC kontroll tápoldatban nevelt növények levelének vastartalmához képest (51. ábra). A tápoldatot Zr-ASC-tal kiegészítve a Zr-koncentrációtól függően változó hatást tapasztaltam.



50. ábra: A Cd-tartalmú tápoldatban nevelt búza csíranövény gyökerében mért Fe-koncentráció változása a Zr-ASC kezelést követően (* = $P < 0,05$, KH=2,5 µg/g sz.a.)



51. ábra: A Cd-tartalmú tápoldatban nevelt búza csíranövény levelében mért Fe-koncentráció változása a Zr-ASC kezelést követően (* = $P < 0,05$, KH=2,5 µg/g sz.a.)

A Cd mellett 10 és 55 μM Zr-ot is tartalmazó tápoldatban nevelt növények levelében a vaskoncentráció szignifikánsan csökkent a Cd-kontroll mintákban mért értékekhez képest. A 10 μM Zr-ASC kezelés hatására a minta vaskoncentrációjára a K-ASC kontrollmintával azonos értéket kaptam, az 55 μM Zr-ASC kezelés hatására a minta vaskoncentrációja ennél nagyobb érték volt, de a Cd-kontroll mintánál mért értékhez képest szignifikánsan kisebb volt.

A 33 μM Zr-ASC kezelés hatására a Cd-kontroll mintához képest szignifikánsan nőtt a levél vastartalma.

4.2.5.3. A Zr-ASC és a Cd, elemösszetételre gyakorolt hatásának kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések

A kadmiumot is tartalmazó tápoldatban nevelt búza csíranövényekben a *cirkónium* transzlokációja a tápoldatból a gyökérbe igen nagy mértékű, a gyökérmintákban mért Zr-koncentráció nagyságrenddel nagyobb, mint a hasonló körülmények között, de Cd nélkül végzett kísérleteknél.

A jelenség hátterében a Zr és Cd közötti esetleges antagonista hatás állhat, s a búza csíranövény a toxikus kadmiumot érzékelve, védekező folyamatként, nagyobb mértékben dúsítja fel a cirkóniumot. Hasonló folyamatot már tapasztaltak a Cd és a Cu, valamint a Cd és Zn között, amikor az élő szervezet megfelelő Cu- illetve Zn-ellátottság mellett képes kompenzálni a Cd toxikus hatását (SANDSTEAN, 1981; STEFANOVITS et al., 1998; HE et al., 2004). A jelenséget a kísérletek során magam is tapasztaltam, a Cd-tartalmú tápoldatban nevelt növény gyökerében mind a *réz*, mind a *cink*-koncentráció jelentősen megnő (előbbi esetében közel ötszörös, utóbbi esetében majdnem háromszoros a növekedés), amely jelenséget védekezési mechanizmusként értelmezem. Ez a megnövekedett Cu- és Zn-koncentráció Zr jelenlétében szignifikánsan csökken. Az említett fémionok koncentrációváltozása is alátámasztja a $\text{Zr} \leftrightarrow \text{Cd}$ antagonista hatást, ugyanis a tápoldatban jelenlevő Zr-ASC a gyökérben akkumulálódva át tudja venni részben a Cu és a Zn védekezésben betöltött feladatát.

A cirkónium gyökér $\rightarrow$ levél irányú transzlokációja nagymértékben csökken, amely folyamat feltételezésem szerint azzal magyarázható, hogy a Cd gátolja a növény vízfelvételét és a növényen belüli vízmozgást (POSCHENRIEDER et al., 1989), így a vízőldható tápanyagok – jelen esetben a Zr-ASC- transzlokációja is gátolt.

A búza csíranövényben a gyökér jelentős mennyiségű *kadmiumot* akkumulál. Ennek mértéke olyan nagy, hogy a tápoldatban kis koncentrációban jelenlevő Zr nem befolyásolja ennek értékét. A levélmintáknál a Cd esetében is tapasztalható a gátolt transzlokáció, amely véleményem szerint alátámasztja a Zr és a Cd közötti ionkompetíció elméletét.

A levélmintákban a kadmium hatására nagymértékben csökken a *mangán* koncentrációja, de a Zr hatására a levélminták Mn-koncentráció értéke szignifikánsan nő, elérve az aszkorbinsavas kontrollban mért értéket. Megállapítható, hogy a Zr-ASC képes nemcsak ellensúlyozni, de teljes mértékben ki is küszöböli a Cd okozta Mn-csökkenést.

A gyökérminták *vaskoncentrációja* lecsökken a Cd hatására, de a 33 μM Zr-ASC kezelés ezt a kedvezőtlen jelenséget kompenzálja, ugyanakkor 55 μM Zr-ASC kezelés hatására a gyökér *vaskoncentrációja* az aszkorbinsavas kontrollban mért értéket is meghaladja.

4.2.6. Klorofilltartalom változása

A Cd-kontroll tápoldatban nevelt növények klorofilltartalma szignifikánsan csökkent a K-ASC tápoldatban nevelt növényekéhez képest.

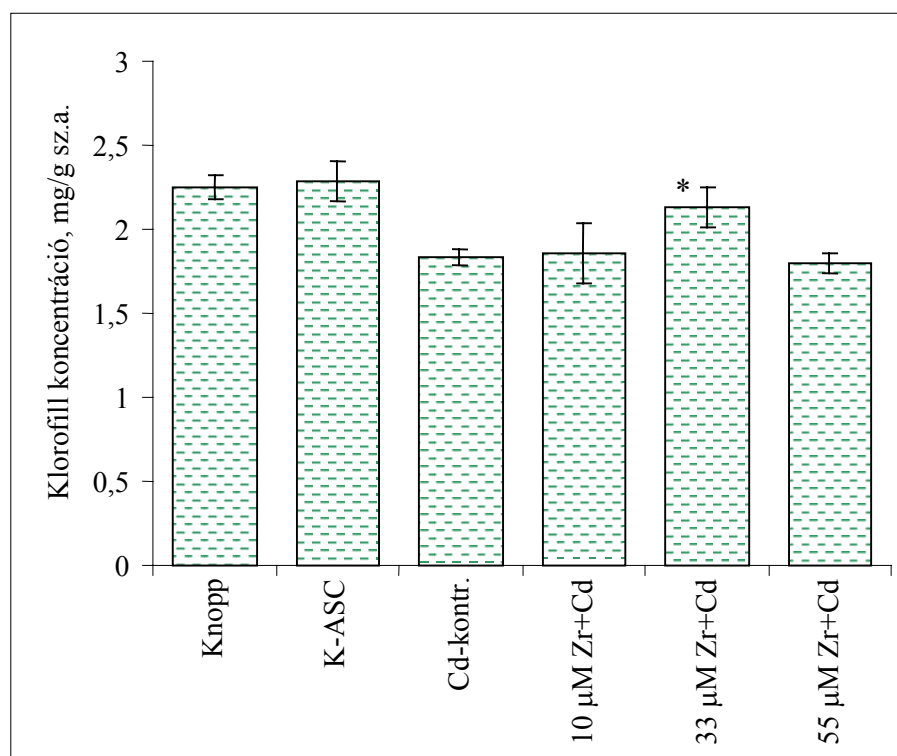
A 10 és az 55 μM koncentrációjú Zr-ASC kezelés nem befolyásolta a minták klorofill-koncentrációját (52. ábra).

A 33 μM Zr-ASC kezelés hatására szignifikáns koncentrációnövekedést mértem, ennek mértéke azonban nem érte el az aszkorbinsavas kontrollminta klorofill-koncentrációjának értékét, vagyis nem volt képes a kadmium klorofill-csökkentő hatását teljes mértékben ellensúlyozni.

4.2.6.1. A klorofilltartalomra gyakorolt hatásának kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések

A Cd-tartalmú tápoldatban nevelt növények klorofillkoncentrációját a Cd jelentősen csökkenti. Ennek oka lehet a klorofill bioszintézisének gátlása (STOBART et. al., 1985), az LHCI fénnyeggyűjtő fehérjekomplex bioszintézisének gátlása (TZIVELEKA et. al., 1999) vagy az oxidatív károsodás (HEGEDŰS et.al., 2001). A nagymértékű káros hatást a Zr jelenléte nem tudja teljes mértékben ellensúlyozni, de a 33 μM koncentrációjú kezelés esetén szignifikánsan magasabb klorofilltartalom tapasztalható.

Érdemes megjegyezni, hogy a 33 μM Zr-koncentráció esetében a levelek Fe-tartalma is szignifikánsan növekszik a Cd-kontroll növények levelének Fe-tartalmához képest. A klorofilltartalom növekedése tehát a vas intracelluláris akkumulációjával, a Fe^{2+} ionok esetleges nagyobb mértékű jelenlétével függhet össze. Ezek a kisméretű ionok (Ti, Zr) kiszorítják a kötőhelyekről az elraktározott vasat, így több vas képes részt venni a biokémiai folyamatokban (pl. a klorofill bioszintézisében), ahogyan azt a Ti klorofilltartalom növekedését kiváltó hatása esetén is valószínűsítették (CARVAJAL és ALCARAZ, 1998; SIMON et.al., 1988b; KISS et.al., 1985).



52. ábra: A Cd-tartalmú tápoldatban nevelt búza csíranövény klorofill-koncentráció változása a Zr-ASC kezelést követően (* = $P < 0,05$)

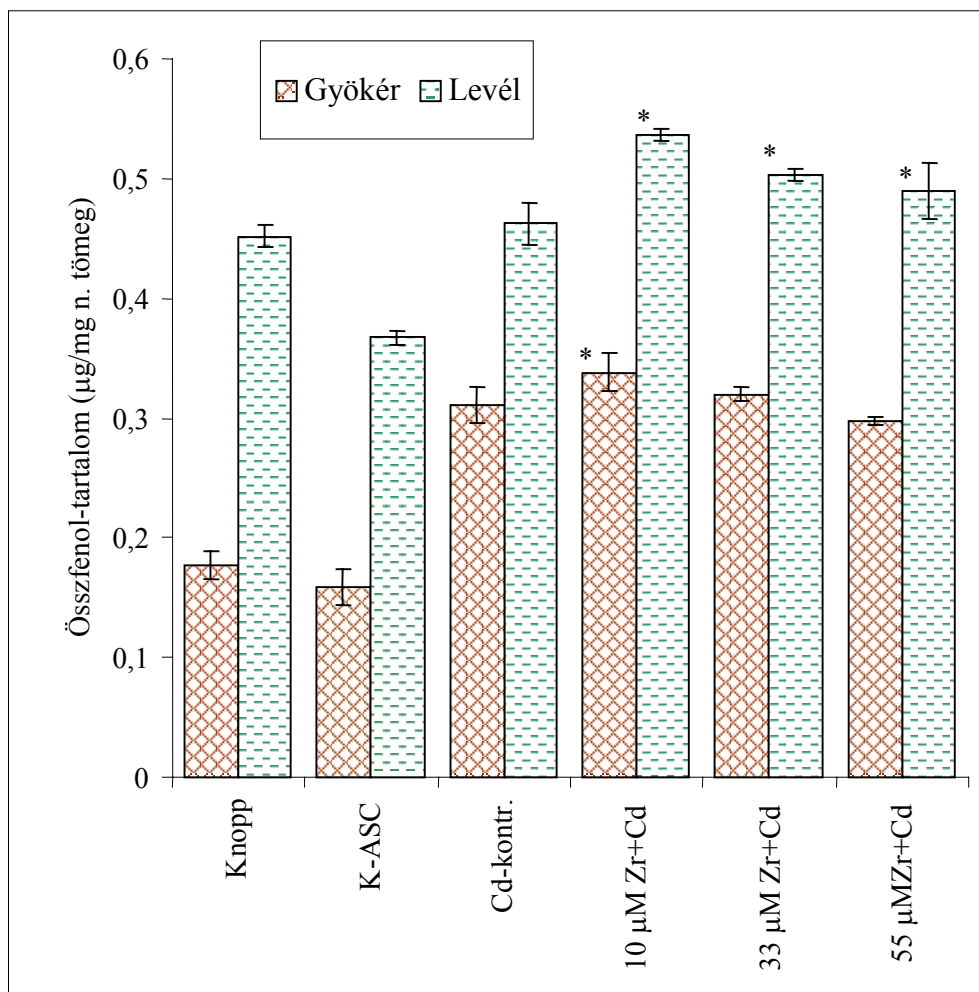
4.2.7. Összfenol-tartalom változása

A Cd-tartalmú kontroll tápoldatban nevelt búza csíranövények (53. ábra) gyökerében és levelében egyaránt szignifikánsan növekedett az összfenol-tartalom értéke.

A gyökérmintáknál a 10 és 33 μM Zr-ASC kezelés nem tudta ellensúlyozni a kadmium okozta stresszhatást, az összfenol-koncentrációban kismértékű, szignifikáns növekedés következett be.

55 μM Zr-ASC kezelés hatására már észlelhető csökkenés az összfenol-tartalomban, de a változás nem volt szignifikáns.

A levélminták összfenol-tartalma az 10 μM Zr-ASC kezelés hatására további, szignifikáns növekedést mutat a Cd-tartalmú kontrolloldatban nevelt növények levélmintáihoz képest. A 33 és 55 μM Zr-koncentrációval kiegészített tápoldatokban az összfenol-koncentráció még szignifikánsan magasabb a kontrollhoz képest, de csökkenő hatás észlelhető (53. ábra).



53. ábra: A Cd-tartalmú tápoldatban nevelt búza csíranövény fenoltartalmának változása a Zr-ASC kezelést követően (* = $P < 0,05$)

4.2.7.1. Az összfenol tartalomra gyakorolt hatás kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések

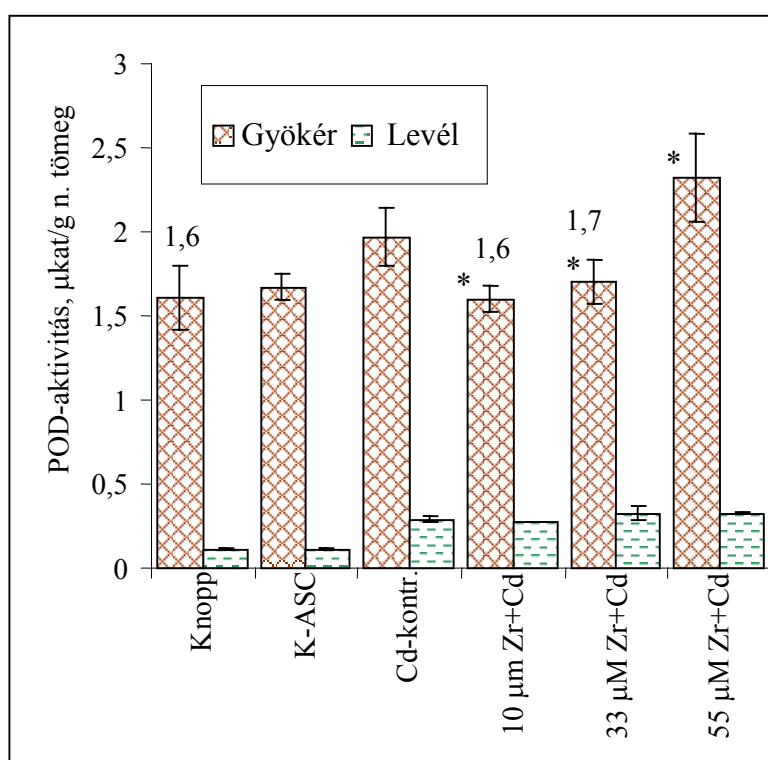
A kadmiumtartalmú tápoldatban nevelt búza csíranövény gyökerében és levelében mért összfenol tartalom növekedése egyértelműen jelzi a növényt érő stresszhatást. Ezt a hatást a 10 µM Zr-ASC kezelés még nem képes befolyásolni, de a 33 és 55 µM Zr-koncentráció kismértékben csökkenti a növényi szövetek az összfenol-tartalmát, ami korlátozottabb mértékű stresszhatásra utal, jóllehet az alkalmazott Zr-ASC kezelésekkel nem lehet teljes mértékben ellensúlyozni a Cd-okozta stresszhatást.

4.2.8. A kadmium- és Zr-kezelt növények antioxidáns hatású enzimatisz védekező rendszere

4.2.8.1. Gvajakol-peroxidáz (POD)

A Cd-tartalmú kontrolloldatban nevelt növények POD-aktivitása, a vártan megfelelően, szignifikánsan nőtt mind a levélben, mind a gyökérben a Knopp- és a K-ASC kontrollhoz képest, hiszen a legkülönbébb abiotikus stressztényezők hatására a növények POD-aktivitása növekszik (54. ábra).

A 10 és 33 μM Zr-ASC tápoldatban nevelt növények gyökérében a POD-aktivitás értéke a Cd-kontrollhoz képest szignifikánsan kisebb volt. A Zr jelenlétében gyakorlatilag a kontrollnak megfelelő értékig csökkent a POD-aktivitás értéke. A levélben nem tapasztaltam, hogy a Zr-ASC hatására változott volna a POD-aktivitás értéke a Cd-kontrollban mérthez képest

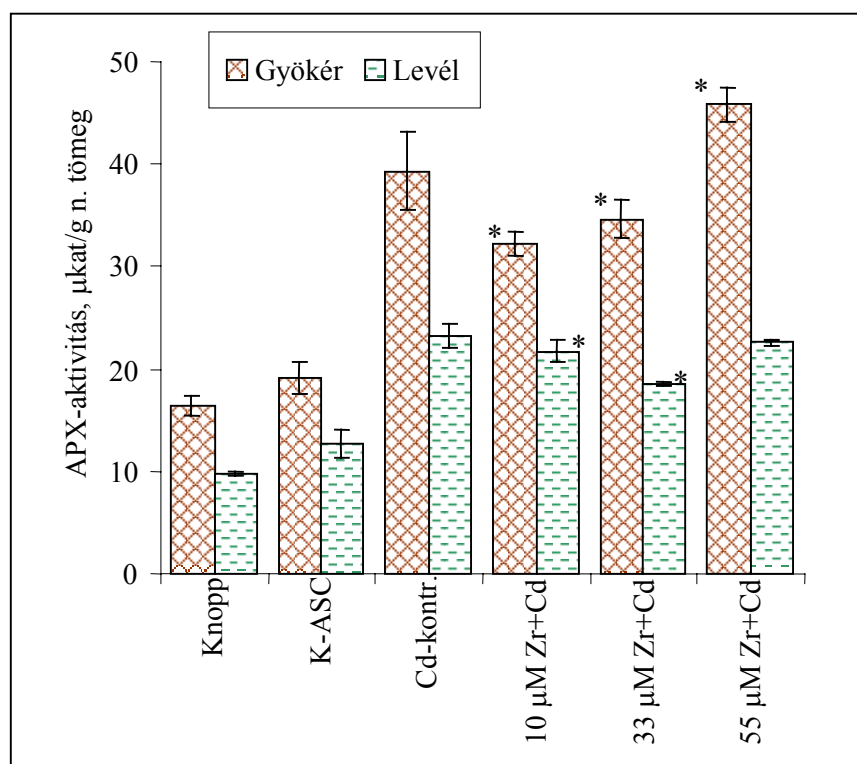


54. ábra: A Cd-tartalmú tápoldatban nevelt búza csíranövény POD-aktivitás változása a Zr-ASC kezelést követően (* = $P < 0,05$)

4.2.8.2. Aszkorbinsav-peroxidáz (APX)

A Cd-kontroll mintánál mind a gyökérben, mind a levélben jelentős APX-aktivitás emelkedés volt megfigyelhető (55. ábra).

A 10 és 33 μM Zr-ASC tartalmú tápoldatban szignifikáns csökkenést mértem az APX-aktivításban a Cd-kontrollhoz képest. Az 55 μM Zr-ASC kezelés esetében a gyökérmintában szignifikánsan nőtt az APX aktivitása



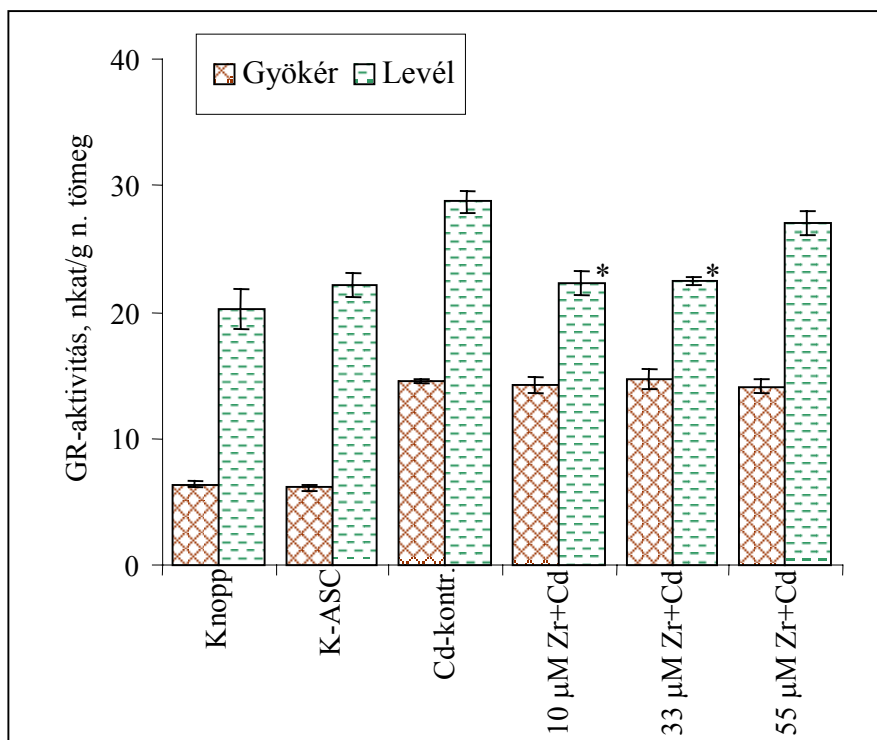
55. ábra: A Cd-tartalmú tápoldatban nevelt búza csíranövény APX-aktivitás változása a Zr-ASC kezelést követően (* = $P < 0,05$)

4.2.8.3. Glutation-reduktáz (GR)

A Cd-kontroll tápoldatban nevelt növények GR-aktivitása jelentős mértékben növekedett.

A különböző Zr-ASC kezelések hatására mérhető volt ugyan csekély aktivitáscsökkenés a növények gyökereiben a Cd-kontrollhoz képest, de a hatás nem volt szignifikáns.

A levélmintáknál a 10 és 33 μM Zr-ASC kezelés hatására a GR-aktivitás szignifikánsan csökkent, a kezelés hatására azonos aktivitásértékeket kaptam a K-ASC kontrollban mérttel (56. ábra).



56. ábra: A Cd-tartalmú tápoldatban nevelt búza csíranövény GR-aktivitás változása a Zr-ASC kezelést követően (* = $P < 0,05$)

4.2.8.4. Az enzimaktivitására gyakorolt hatás kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések

A kadmium közvetlenül nem képez aktív oxigénformákat, mint például a réz, de néhány enzim aktivitásának fokozása révén mégis oxidatív stresszt okozhat.

A Cd-tartalmú tápoldatban nevelt növény gyökerében is és levelében is nagymértékű növekedés tapasztalható mindhárom vizsgált enzim (POD, APX, GR) aktivitásértékében, ami arra utal, hogy a növényt jelentős mértékű oxidatív stresszhatás érte (VAN ASSCHE és CLIJSTERS, 1990; CHAOUI et. al., 1997; CLIJSTERS et al., 1999). A gyökérmintáknál a 10 és 33 $\mu\text{mol/ml}$ Zr-ASC kezelés szignifikánsan csökkenti a POD- és az APX-enzimaktivitás értékét. Ez azt jelenti, hogy a kis Zr-koncentrációjú tápoldat képes enyhíteni a Cd okozta oxidatív stresszhatást. Hasonló eredményeket kapott HEGEDŰS és munkatársai (2002) titán-aszkorbáttal árpán végzett kísérletek során, valamint KOCZKA és munkatársai (2001) *Ginkgo biloba* L növényen végzett vizsgálatait alapján.

A levél esetében a 10 - 55 μM Zr-ASC-tal kiegészített 200 μM Cd-kezelés esetében nem tapasztalható jelentős POD-aktivitás emelkedés. A 33 és 55 μM Zr-koncentráció hatására

kismértékű növekedés mérhető, mely a két különböző fémion által kifejtett stresszhatás eredője lehet (nem szignifikáns változás).

A 10 és 33 μM Zr-koncentrációval kiegészített Cd-tartalmú tápoldatban fejlődött növények levelében jelentősen kisebb mértékű az APX- és GR-aktivitásának emelkedése, mint a Cd-kontroll növények esetében. Mindez arra utal, hogy a 10 és 33 μM Zr-ASC kezelés hatására kisebb mértékű oxidatív stresszhatás jelentkezik a növények levélszövetében, így az aktív oxigénformák méregtelenítésében kulcsfontosságú két enzim aktivitása is kevésbé emelkedik.

Az 55 μM koncentráció már a Cd-kontroll értékhez hasonló enzimaktivitás szintet mutat. Mindez arra utal, hogy a Zr a 10 és 33 μM koncentrációtartományban valamilyen módon mérsékelni képes a Cd által okozott oxidatív stresszhatást. A növekedési paraméterek, egyes esszenciális elemek akkumulációja, a klorofilltartalom szintén arra utalhat, hogy a 200 μM Cd által okozott jelentős mértékű abiotikus stresszhatás a 10 és 33 μM Zr-ASC adagolásával jelentős mértékben csökkenthető, illetve a növények stressztűrő képessége fokozható.

Ennek pontos mechanizmusa nem ismert, de a folyamat magyarázataként titán esetében KUZEL és munkatársai (2003) azt feltételezték, hogy a titán képes néhány esszenciális mikroelemet elmozdítani a kötőhelyéről, s ezáltal védi a növényt az oxidatív stresszhatással szemben.

Ti-ASC oldattal végzett búza és bab kísérletek során STEFANOVITS és munkatársai (1999a, 1999b, 2000) a leírt kedvező, stresszhatást csökkentő hatást 104 μM Ti-tartalom esetén észlelték.

4.3. Levélpermetezési kísérlet eredményei

A 3.3.3. fejezetben leírtaknak megfelelően 437,5 μg Zr-ot permeteztem a búza csíranövény levelére Zr-ASC formájában. A többszöri mosást követően a tömegállandóságig szárított (104°C, 2 óra) levél tömege 0,2017 g volt, a gyökérmintáé 0,1813 g. A roncsolmányoknak csak a Zr-koncentrációját vizsgáltam, a kapott értékeket a 4. táblázatban foglaltam össze.

4. táblázat: A levélpermetezési kísérlet eredményei

Levéltre juttatott Zr	Bemérés		Zr koncentráció	Felvett Zr	%
437,5 μg	Gyökér	0,1813 g	64,6 $\mu\text{g/g}$	11,7 μg	2,7%
	Levél	0,2017 g	114 $\mu\text{g/g}$	22,9 μg	5,2%

4.1.6.1. A búza csíranövényre levélpermetezéssel kijuttatott Zr-ASC felszívódásának kiértékelése, az eredményekből levonható következtetések

A levélpermetezési kísérlet során arra kerestem választ, hogy a levélre juttatott Zr-ASC oldatot képes-e a növény felvenni, és megvalósul-e a Zr levél→gyökér irányú transzportja. Eredményeim alapján megállapítható, hogy a levélre juttatott Zr-ASC oldatból, ha kis mértékben is, de a növény képes a Zr-ot akkumulálni. A Zr-ASC formájában kijuttatott 437,5 µg Zr-nak 2,7%-a akkumulálódik a gyökérben és 5,2%-a a levélben.

A levél- és a gyökérminták analízise révén a gyökérben mérhető Zr-tartalom alapján feltételezhető, hogy kismértékben, de megvalósul a levél→gyökér irányú transzport is.

Ugyanezt az iontranszport folyamatot Ti-ASC-tal levélpermetezett búza esetében már igazolták (KELEMEN et al., 1993).

5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

5.1. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK A CIRKÓNIUM-ASZKORBÁT BÚZA CSÍRANÖVÉNYRE GYAKOROLT HATÁSA TERÉN

Elsőként vizsgálva a cirkónium növényekre gyakorolt hatását megállapítható, hogy:

A 100 és 550 μM Zr-ASC kezelés jelentős mértékű abiotikus stresszhatást vált ki a búza csíranövény fejlődési paramétereire:

- Szignifikánsan csökkenti a csírázási százalékot,
- Szignifikánsan csökkenti a gyökér és a levél méretét
- Szignifikáns növeli a gyökér és a levél szárazanyag-tartalmát

A cirkóniumnak búza csíranövény elemösszetételére gyakorolt hatásai:

- A különböző Zr-koncentrációjú tápoldatból a búza csíranövény képes felvenni a cirkóniumot.
- A gyökérmintákban akkumulálódott Zr mennyisége összefüggést mutat a tápoldat Zr-koncentrációjával.
- Kimutatható, hogy búzanövény esetében a cirkónium gyökérből a levélbe irányuló elemtranszport mellett kismértékben ugyan, de a levélből a gyökérbe is eljuthat, szintén elemtranszport útján
- Az 550 μM Zr-ASC kezelés esetében a transzlokáció már gátolt
- A gyökér bór koncentrációjában 100 és 550 μM Zr-ASC kezelés hatására szignifikáns növekedés jelentkezik a K-ASC kontroll mintához képest, a változás tendenciája megegyezik a cirkóniumnál tapasztaltakkal. A növény, valószínűleg védekezési reakcióként, a magban jelenlevő jelentős mennyiségű bórt (60-100 $\mu\text{g/g}$ sz.a.) mobilizálja, ellensúlyozandó a növényt ért toxikus hatást.
- A gyökér cink, mangán, réz és vas koncentrációja 100 és 550 μM Zr-ASC kezelés hatására szignifikánsan nő.

A búza csíranövény aminosav összetételére és klorofilltartalmára gyakorolt hatás:

- A különböző koncentrációjú Zr-ASC kezelések hatására megváltozik a növény gyökerében és levelében az aminosav-komponensek aránya, megnő az összaminosav-koncentráció értéke.
- A klorofilltartalom a Zr-ASC kezelés hatására szignifikánsan nő. Megállapítható, hogy a toxikusnak tekinthető 100 és 550 μM koncentrációtartományban a növények fotoszintetikus rendszere nem károsodik, klorotikus tünetek nem észlelhetők.

A búza csíranövény összfenol tartalmára és antioxidáns enzimek aktivitására gyakorolt hatás:

- A gyökérminták összfenol-tartalma szignifikánsan csökken, függetlenül a tápoldat Zr-koncentrációjától. A levélminták esetében 33 és 55 μM Zr-ASC kezelés idéz elő szignifikáns növekedést.
- A POD, az APX valamint a GR enzim aktivitása 100 és 550 μM Zr-ASC kezelés hatására szignifikánsan nő, amely növekedés oxidatív stresszreakciót jelez.

5.2. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK A CIRKÓNIUM-ASZKORBÁTNAK A KADMIUM-TARTALMÚ TÁPOLDATBAN NEVELT BÚZA CSÍRANÖVÉNYRE GYAKOROLT HATÁSA TERÉN

A búza csíranövény fejlődési paramétereire gyakorolt hatás:

- A Zr-ASC kezelés képes ellensúlyozni a 200 μM (22,5 $\mu\text{g/ml}$) kadmium növekedési paraméterekre gyakorolt toxikus hatását:
 - Szignifikánsan növeli a csírázási százalékot
 - Szignifikánsan növeli a gyökér és levél hosszát
 - Szignifikánsan csökkenti a gyökér és a levélminták szárazanyag-tartalmát

A búza csíranövény elemösszetételére gyakorolt hatás:

- A Zr nagymértékű tápoldat→gyökér transzlokációja. Zr és Cd közötti antagonista hatás miatt a búza csíranövény a toxikus kadmium hatására, feltételezhetően, hogy védekezési folyamatként, nagyobb mértékben dúsítja fel a cirkóniumot a gyökérben.
- A Cd-kontroll gyökérmintákban mind a réz, mind a cink koncentrációja jelentősen megnőtt. Ezek az elemek közismert antagonistái a kadmiumnak. Zr jelenlétében a réz és a cink koncentrációja szignifikánsan csökkent. A tápoldatban jelenlevő Zr-ASC a gyökérben akkumulálódik és elképzelhető, hogy részben át tudta venni a réznek és a cinknek a kadmium toxikus hatásával szemben betöltött védekező feladatát.

- A cirkónium gyökér→levél transzlokáció nagymértékben csökken
- A kadmium jelentősen feldúsult a gyökérben, de a gyökér→levél transzlokáció gátolt
- A Zr-ASC ellensúlyozza a kadmiumnak a levél mangánkoncentrációjára és a gyökér vastartalmára kifejtett negatív hatását

A búza csíranövény klorofilltartalmára gyakorolt hatás:

- A Zr jelenléte (33 μM) szignifikánsan növeli klorofillkoncentrációt

A búza csíranövény összfenol tartalmára és antioxidáns enzimeinek aktivitására gyakorolt hatása:

- 33 és 55 μM Zr-koncentráció csökkenti az összfenol-tartalmat, ami korlátozottabb mértékű stresszhatásra utal
- A gyökerekben a 10 és 33 μM Zr-ASC kezelés szignifikánsan csökkenti a POD- és az APX-aktivitást
- A levélmintákban 10 és 33 μM Zr-ASC kezelés az APX és a GR enzimaktivitását szignifikánsan csökkenti.
- A 10 és 33 μM Zr-ASC kezelés enyhíti a Cd okozta nagymértékű nehézfém-stressz káros következményeit.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A cirkónium Földünk egyik gyakran előforduló fémje, élettani hatásáról mégis keveset tudunk. Zöldalgaon és élesztőtörzseken végzett kísérleteim kedvező eredményei alapján folytattam a vizsgálatokat, amelyek során a cirkónium-aszkorbát magasabb rendű növényekre gyakorolt élettani és biokémiai hatását kívántam feltérképezni. A kísérleteket *Triticum aestivum* L. Mv. 20 búzafajtával végeztem.

A célkitűzésben megfogalmazott kérdésekre kapott válaszok a következőkben foglalhatók össze:

Akkumuláció, transzlokáció, toxikus koncentráció

A búza csíranövény képes a vizsgált koncentrációtartományban (10-550 μM Zr) akkumulálni a cirkóniumot.

- A 100 és 550 μM Zr-koncentrációjú tápoldat már toxikus hatást gyakorol a növény fejlődési paramétereire (csírázási százalék, gyökér és levél hossza, szárazanyag-tartalom).
- Igazoltam, hogy megvalósul a cirkónium gyökér $\rightarrow$ levél irányú transzlokációja.
- Igazoltam, hogy a cirkónium levél $\rightarrow$ gyökér irányú transzlokációja is létrejön.

Elemösszetétel

A 100 és 550 μM Zr-ASC kezelés hatására a vizsgált mikroelemek (B, Cu, Fe, Mn) koncentrációja a gyökérben megnő. Az elemkoncentrációban tapasztalt változás a Zr toxikus mennyiségével van összefüggésben; a toxikus koncentráció hatására a gyökérmembrán és a mag olyan nagymértékben károsodik, hogy a benne levő mikroelemek teljes egészében hozzáférhetővé válnak, s a gyökérben mérhető koncentrációértékben megjelennek.

Aminosav-összetétel, klorofilltartalom

A Zr-ASC kezelés hatására mind a gyökér, mind a levél összaminosav tartalma megnő, a növekedés mértéke 10 és 33 μM Zr-ASC kezelés hatására a legnagyobb mértékű. A kezelés hatására megváltozott az aminosavkomponensek egymáshoz viszonyított aránya.

A tápoldat Zr-tartalma a növények klorofilltartalmára is hatással van, 55 μM Zr-ASC kezelés esetében mérhető a legnagyobb mértékű koncentrációnövekedést a klorofilltartalomban.

Összfenol-tartalom, antioxidáns enzimek aktivitása

A növényt érő stresszhatásra, védekező reakcióként a növények összfenol-tartalmuk növekedésével reagálnak. A búza csíranövény levelében (10, 100, 550 μM Zr hatására), és a gyökérmintákban az összfenol-tartalom szignifikánsan csökken, a levélminták esetében 33 és 55 μM Zr-ASC kezelés pedig szignifikáns növekedést idéz elő.

Feltehető, hogy a Zr képes a sejtek redoxiállapotát befolyásolni. A kialakuló kismértékű oxidatív stressz okozhat nagyobb toleranciát és magyarázhatja a Zr kis koncentrációjának kedvező hatását.

A vizsgált antioxidáns enzimek (POD, APX, GR) aktivitása mind a gyökérben, mind a növényben 100 és 550 μM Zr-ASC kezelés esetében szignifikánsan nő. A növekedés gátlásában is megmutatkozó toxikus koncentráció tartomány hatására nő a növények antioxidáns enzimeinek aktivitása.

Képes-e résztvenni a cirkónium a növény védekezési mechanizmusában, amennyiben környezeti stresszhatás éri nehézfém-szennyezés formájában?

Kísérleti eredményeim alapján egyértelműen kijelenthetem, hogy a tápoldat 10 és 33 μM cirkónium koncentrációja kedvező hatással volt a növény kadmiumszennyezés elleni védekezési rendszerére. A Zr jelenléte a növekedési paraméterek (csírázási százalék, gyökér és levél hossza, szárazanyag-tartalom), a vizsgált mikroelemek koncentrációja, összfenol-tartalom és a vizsgált antioxidáns enzimek aktivitása szempontjából egyaránt mérsékli, ellensúlyozza a kadmium okozta stresszhatást. Számos esetben nemcsak ellensúlyozza, hanem teljes mértékben ki is küszöböli azt. Így például gátolja a Cd gyökér $\rightarrow$ levél transzlokációját, hatására szignifikánsan csökken a gyökér Zn-koncentrációja, szignifikánsan nő a gyökér és a levél Fe-tartalma, a levél Mn-koncentrációja valamint a levélben szignifikánsan csökken a POD, az APX és a GR aktivitása.

Mennyiben hasonlítható össze a Zr-ASC hatása a korábban már vizsgált mikroelemek hatásával?

Az összehasonlítás kérdése elsősorban a titán szempontjából merült fel, miután a cirkónium a titánnal azonos mellékcsoportban (IVB) található. A titán-aszkorbáttal számos kísérletet végeztek már, így a dolgozatban is hivatkozott irodalmi adatok alapján megállapítható, hogy a cirkónium-aszkorbát jelenlegi ismereteink alapján a titán-aszkorbáttal hasonló növényélettani hatással bír.

Ez a pozitív élettani hatás 10 és 33 μM Zr-ASC kezelés esetében megmutatkozik a klorofilltartalom kedvező alakulásában, az összaminosav-tartalom növekedésében, s a növényt környezeti stresszhatásként érő kadmium-szennyezés elleni védekező reakciókban egyaránt.

SUMMARY

Zirconium is one of the most ubiquitous metals on Earth, however its physiological role has not been revealed up to now. The former encouraging experiments carried out on green algae and yeast strains served as a base for going on with further studies on the physiological and biochemical effects of Zr on the higher plants, namely on the wheat strain *Triticum aestivum* L. Mv. 20.

The answers for the questions presented in the Introduction can be summarized as follows:

Accumulation, translocation, toxic concentration

Wheat seedlings can accumulate Zr in the tested range of 1 – 50 µg / ml.

- the hydroponic solution with a Zr concentration of 100 or 550 33 µmol/ml has a toxic effect on the growth parameters of the plant, i.e. percent of germination, lengths of roots and leaves, total dry solid content;
- the translocation of Zr from the roots to the leaves has been proved;
- the translocation of Zr from the leaves to the roots has also been proved.

Total element concentration

The concentration of the elements studied (B, Cu, Fe, and Mn) was increased in the roots by the 100 and 550 33 µmol/ml Zr-ASC treatments. The change in the element concentrations is connected to the toxic level of Zr. The toxic concentration impairs both the membrane structure and the nucleus of the roots in such an extent that the inner located microelements become liberated and available to be detected in quantifiable amount in the roots.

Aminoacid composition and chlorophyll content

The total amino acid content in the roots and in the leaves was increased by the Zr-ASC treatment, showing the highest level in the cases of the 10 and 33 µmol/ml Zr-ASC concentrations. The relative ratio between the aminoacids was changed by the treatment as well. The Zr concentration of the hydroponic solution has an effect on the chlorophyll content of the test plants: the highest increase in the chlorophyll content was observed when applying 55 µmol/ml Zr-ASC solution.

Total phenolic compounds and the activity of antioxidant enzymes

A typical defensive reaction of plants on stress is the increase of the amount of total phenolic compounds. This amount is significantly decreased in the leaves of the wheat seedlings and in the root samples by the treatment with 10, 100 and 550 $\mu\text{mol/ml}$ Zr, while it is significantly increased in the leaf samples by the treatment with 33 and 55 $\mu\text{mol/ml}$ Zr-ASC.

It is presumed that Zr is able to affect the redox state of the cells. The resulting little oxidative stress may be responsible for higher tolerance and may be the reason behind the positive effect of the little concentration of Zr.

The activity of the studied antioxidant enzymes (POD, APX and GR) was significantly increased both in the roots and in the plant by the 100 and 550 $\mu\text{mol/ml}$ Zr-ASC treatments. The toxic concentration range of Zr manifested by growth inhibition increased the activity of the antioxidant enzymes of the test plants.

Can Zr be assumed to take part in the defensive mechanism of the plants against environmental stress caused by toxic heavy metal contamination?

The Zr concentration of 10 and 33 $\mu\text{mol/ml}$ in the hydroponic solutions had an unambiguously positive effect on the defensive mechanism of the test plant against cadmium related stress. The presence of Zr reduced and compensated cadmium stress in the terms of growth parameters (percent of germination, lengths of roots and leaves, total dry solid content), the concentration of studied microelements, the amount of total phenolic compounds and the activity of antioxidant enzymes. In several cases, this compensation mechanism was proven to totally eliminate the effects of cadmium stress, e.g. it blocked the translocation of Cd from the roots to the leaves, significantly decreased the concentration of Zn in the roots, significantly increased the concentration of Fe in the roots and in the leaves, significantly increased the concentration of Mn in the leaves, and finally, it significantly decreased the activity of the enzymes POD, APX and GR.

Are the effects of Zr-ASC comparable with those of some formerly studied microelements?

The comparison can be established with titanium, as it is found in the same chemical group (4B). The application of Ti-ASC was addressed in several experiments before, and according to the scientific literature cited in the Introduction Zr-ASC seems to possess plant physiological effects that are similar (positive) to those of Ti-ASC.

The positive physiological effects of the treatments with 10 and 33 $\mu\text{mol/ml}$ Zr-ASC solutions can be confirmed in the advantageous change of chlorophyll content, in the defensive

mechanism against Cd-related environmental stress and in the increase of total amino acid content.

7. HOGYAN TOVÁBB?

Tudományos munkám során, az egyes kísérleti eredmények alapján újabb és újabb kérdések merültek fel, amelyek egyben a kutatás folytatásának lehetőségét és irányvonalát is megszabják.

Az elkövetkező években a következő feladatokat szeretném elvégezni:

- A Zr-ASC komplex szerkezetének felderítése, a komplex molekula tulajdonságainak pontos leírása (stabilitási állandó, eltarthatóság stb)
- A Zr anyagmérlegének pontos feltérképezése a tápoldat $\rightleftharpoons$ gyökér $\rightleftharpoons$ levél anyagtranszport alapján, a transzfer faktorok vizsgálata
- A Zr és egyéb, elsősorban növényélettani szempontból esszenciális mikroelemek kapcsolatának mélyebb vizsgálata, anyagmérleg felállítása
- A Zr-ASC hatásának vizsgálata a dolgozatban leírt kadmiumon kívül más, a természetben megtalálható toxikus elemmel szemben (pl ólom, arzén, kromát stb). A leírt vizsgálatokat első lépésben búza csíranövényen szeretném végezni, hiszen a dolgozatban közölt mérési adataimmal ez hasonlítható össze.
- A leírt növényélettani vizsgálatok kiterjesztése más olyan növényekre (pl. bab, árpa, napraforgó), amelyekről a Ti-ASC-os kísérletek alapján már rendelkezünk összehasonlító mérési eredményekkel.
- Kertészeti haszonnövényeken végzett kísérleti eredményeink ismeretében tervezem vizsgálataink szélesebb körben való kiterjesztését. Céлом megvalósításához szeretném újra felvenni a kapcsolatot a SZIE, Állatorvos-tudományi Kar, Állattenyésztési, Takarmányozási és Laborállat-tudományi Intézetével, ahol évtizedek óta folynak mikroelem-kutatások a takarmányozástan területén.

MELLÉKLETEK (IRODALOMJEGYZÉK)

- ADRIANO, D.C. (1986): Trace Elements in the Terrestrial Environment. Springer-Verlag, New York p.533
- ADRIANO, D.C. (1992): Biogeochemistry of Trace Metals. Lewis Publishers, Florida, p. 513
- ALBREKTSSON, T., HANSSON, H-A., IVARSSON, B. (1985): Interface analysis of titanium and zirconium bone implants. *Biomaterials*, 6: 97-101
- ANDERSON, J.W., FOYER, C.H., WALKER, D.A. (1983): Light-dependent reduction of dehydroascorbate and uptake of exogenous ascorbate by spinach chloroplasts. *Planta* 158: 442-450
- ANGELONE, M., BINI, C. (1992): Trace elements concentration in soils and plants of Western Europe
In: Biogeochemistry of Trace Metals.Ed.: Adriano, D.C., Lewis Publishers, Boca-Raton, USA, 19-60
- ARNON, D.I.: (1949): Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.*, 24: 1-15.
- ASADA, K. (1992): Ascorbate peroxidase – hydrogen peroxid scavenging enzyme in plants. *Physiol. Plant.*, 85:235-241
- BECANA, M., RODRIGUEZ-BARRUCCO, C. (1989): Protective mechanisms of nitrogenase against oxygen excess and partially – reduced oxygen intermediates. *Physiol. Plant.* 75: 429-438
- BEDERKA, J.P., LUEKEN, T.M., BRUDNO, S. (1985): Element balances in the human. *Trace Subst. Environ. Health* 19: 304-313
- BINGHAM, F.T., PAGE, A.L., MAHLER, R.J., GANJE, T.J. (1975): Growth and cadmium accumulation of plants grown on a soil treated with cadmium enriched sewage sludge. *J. Environ. Qual.* 4: 207-211
- BLINDA, A., ABOU-MANDOUR, A., AZARKOVICH, M., BRUNE, A., DIETZ, K.J. (1996): Heavy metal – induced changes in peroxidase activity in leaves, roots and all suspension cultures of *Hordeum vulgare* L. In: Plant Peroxidases Biochemistry and Physiology (eds: Obinger C., Burner, U., Ebermann, R., Penel, C., Greppin, H.). Univ. Genova 380-385
- BLUMENTHAL, W.B. (1958): The Chemical Behavior of Zirconium. D. van Nostrand Company (ed.), INC., Princeton, N.J. p. 398
- BOHN, H., MCNEAL, B.L., O'CONNOR, G.A. (1985): Talajkémia. Mezőgazdasági Kiadó, Gondolat Kiadó, Budapest, p. 363
- BRESSER, A.H.M., SALOMONS, W. (1991): Acidic Precipitation. In: Advances in Environmental Science (eds: Adriano, D.C. and Salomons, W.) p 344
- CANNY, M.J. (1995): Apoplastic water and solute movement: new rules for an old space. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 46: 215-236
- CARVAJAL, M., MARTÍNEZ-SÁNCHEZ, F., ALCARAZ, C.F. (1994): Effect of Ti(IV) on some physiological activity indicators of *Capsicum annuum* L. plants. *J. Hort. Sci.* 69: 427-432

- CARVAJAL, M., ALCARAZ, C.F. (1998): Why titanium is a beneficial element for plants. *J. Plant Nutr.* 21: 655-664
- CHANCE, B., MAEHLY, A.C. (1955): Assay of catalases and peroxidases. *Methods Enzymol.*, 2: 764-817.
- CHAOUI, A. MAZHOUDI, S., GHORBAL, M.H., EL FERJANI, E. (1997): Cadmium and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Sci.* 127: 139-147
- CIFUENTES, F.R. et al. (1996): Chromium sorption and reduction in soil with implications to bioremediation. *Soil. Sci.* 161: 233-241
- CLIJSTERS, H., CUYPERS, A., VANGRONSVELD, J. (1999): Physiological responses to heavy metals in higher plant; defence against oxidative stress. *Z. Naturforsch. C.* 54: 730-734
- COUTURE, P., BLAISE, C., CLUIS, D., BASTIEN, C. (1989): Zirconium toxicity assessment using bacteria, algae and fish assays. *Water, Air and Soil Pollution* 47: 87-100
- CSATHÓ, P. (1994): A környezet nehézfém szennyezettsége és az agrártermelés. Tematikus szakirodalmi szemle. MTA, TAKI, Budapest, p. 176
- DEVERALL, B.J. (1976): Current perspectives in research on phytoalexins. In: Biochemical aspects of plant-parasite relationships (eds.: Friend, J., Therlfall, D.R.) Academic Press, London, New York and San Francisco 207-223
- EDWARDS, E.A., RAWSTHORNE, S., MULLINEAUX, P.M. (1990): Subcellular distribution of multiple forms of glutathion reductase in leaves of pea (*Pisum sativum* L.). *Planta* 180: 278-284
- ELSTNER, E.F. (1982): Oxygen activation and oxygen toxicity. *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 33: 73-96
- ESTERHAUER, H., GRILL, D. (1978): Seasonal variation of glutathione and glutathione reductase in needles of *Picea abies*. *Plant Physiol.* 61: 119-121
- FARKAS, G. (1968): Növényi anyagcsere élettan. Akadémia Kiadó, Budapest 127-128
- FARKAS, G.L., DÉZSI, L., HORVÁTH, K. (1964): Common pattern of enzymatic changes in detached leaves and tissues attacked by parasites. *Phytopath. Z.* 49: 343-354
- FARKAS, G.L., KIRÁLY, Z. (1962): Role of phenolic compounds in the physiology of plant diseases and disease resistance. *Phytopath. Z.* 44: 105-150
- FERRAND, E., DUMAT, C., LECLERC-CESSAC, E., BENEDETTI, M. (2003): Study of soil to plant transfer of zirconium. ICOTTE 7th, Uppsala, Sweden,
- FERNANDEZ, J.C., HENRIQUES, F.S., (1991): Biochemical, physiological, and structural effects of excess copper in plants. *Bot Rev.* 57: 246-273
- FILEP, Gy. (1987): Talajtani alapismeretek I. Általános talajtan. DATE, Mg. Kar jegyzet, Debrecen, p. 195
- FILEP, Gy. (1988): Talajkémia. Akadémia Kiadó, Budapest, p. 293
- FODOR, L. (1993): Szóbeli közlés, nem publikált adat

- FODOR, M. (1993): A cirkónium, mint kevésbé ismert mikroelem (analitikai és biológiai vizsgálatok). Műszaki doktori értekezés, Budapest, KÉE – BME, p.95
- FODOR, M., HEGÓCZKI, J., VERECZKEY, G. (2003): The effects of zirconium, a less known microelement, on basic fermentation characteristics and protein composition of *Saccharomyces cerevisiae*. *Acta Alimentaria* 32: 353-362
- FOYER, C.H., HALLIWELL, B. (1976): The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: A proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta* 133: 21-25
- FOYER, C.H. (1993): Ascorbic acid. In: Antioxidants in Higher Plants (eds: Alscher, E.G., Hess, J.L.) CRC Press, Florida, 31-58
- FOYER, C.H., KINGSTON-SMITH, A., PASTORI, G., HARBISON, J. (1998): Photosynthesis and antioxidant metabolism in maize leaves subjected to low temperatures. In: Photosynthesis: Mechanisms and Effect (ed. Garab, G.). Kluwer Academic Pub. The Netherlands, Vol. IV. 2425-2431
- FOYER, C.H., LELANDIS, M., KEINERT, J.K. (1994): Photooxidative stress in plants. *Physiol. Plant.*, 92: 696-717
- FRIEND, J. (1981): Plant phenolics, lignification and plant disease. *Prog. Phytochem.* 7: 197-261
- GALIBA, G., SIMON-SARKADI, L., KOCSY, G., SALGO, A., SUTKA, J. (1992): Possible chromosomal location of genes determining the osmoregulation of wheat. *Theor. Appl. Genet.* 85: 415-418
- GASPAR, T., PENEL, C., CASTILLO, F.J. et al., (1985): A 2-step control of basic and acidic peroxidases and its significance for growth and development. *Physiol. Plantarum*, 64: 418-423
- GIAQUINTA, R.T. (1983): Phloem loading of sucrose. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 34: 347-387
- GILLHAM, D.J., DODGE, A.D. (1986): Hydrogen peroxide scavenging systems within pea chloroplasts. A quantitative study. *Planta* 167: 246-251
- GHOSH, P., D'CRUZ, O.J., NARLA, R.K., UCKUN, F.M. (2000): Apoptosis-inducing vanadocene compounds against human testicular cancer. *Clinical Cancer Research* 6: 1536-1545
- GOODMANN, R.N., KIRÁLY, Z., WOOD, K.R. (1991): A beteg növények biokémiája és élettana. Akadémia Kiadó, Budapest 394-396
- GORSCHAKOVSKII, P.L., NIKONOVA, N.N. (1971): Principles of the accumulation of rare elements by some higher plants and their importance for the exploration of ore deposits. *Teor. Vop. Fitoindikatsii* (ed.: Korchagin, A.A.), Leningrad. Otd., USSR, 173-179. *Chem. Abstr.* 75: 128916u
- GRIGNON, C., SENTENAC, H. (1991): pH and ionic conditions in the apoplast. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 44: 103-128
- GROSS, G.G. (1978): Biosynthesis of lignin and related monomers. *Rec. Adv. Phytochem.* 11: 141-184
- HAM, K.N., BROWN, D.J., DAWBORN, J.K., JOHNSON, C.I., NELSON, S., XIPELL, J.M. (1985): Dialysis osteomalacia: a possible role of zirconium as well as aluminium. *Pathology*, 17: 458-463
- HARPER, D.B., HARVEY, B.M.R. (1978): Mechanism of paraquat tolerance in perennial ryegrass. II. Role of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase. *Plant Cell Environ.* 1: 211-215

- HE, P.P., LV X.Z., WANG, G.Y. (2004): Effects of Se and Zn supplementation on the antagonism against Pb and Cd in vegetables. *Environment International* 30: 167-172
- HEGEDŰS, A., ERDEI, S., HORVÁTH, G. (2001): Comparative studies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. *Plant Sci.* 160: 1085-1093
- HEGEDŰS, A. TÓTH, E., VAJDA, K., HAUPTMANN, G., STEFANOVITS-BÁNYAI, É., ERDEI, S. (2002): Titán-aszkorbát kezelés hatása a növények antioxidáns védekező rendszerére. Proc. The 9th Symposium on Analytical and Environmental Problems, Szeged. p. 65-69
- HENCSEI, P., BARTUS, G., GÖNCZÖL, J. (1998): A szervetlen kémia környezetvédelmi vonatkozásai. Műegyetemi Kiadó p.131.
- HESS, E.G. (1958): The polyphenolase of tobacco and its participation in amino acid metabolism. I. Manometric studies. *Arch. Biochem. Biophys.* 74: 198-208
- IKARASHI, Y., MOMMA, J., TSUCHIMYA, T., NAKAMURA, A. (1996): Evaluation of skin sensitization potential of nickel, chromium, titanium and zirconium salts using guinea-pigs and mice. *Biomaterials* 17: 2103-2108
- KABATA-PENDIAS, A., PENDIAS, H. (1984): Trace elements in soils and plants. CRC Press, Boca Raton, Florida, p. 315
- KARLSON, P. (1975): Biokémia. Medicina Könyvkiadó, p. 463
- KATERJI, N., VAN HOORN, J.W., HAMDY, A., MASTRORILLI, M. (2004): Comparison of corn yield response to plant water stress caused by salinity and by drought. *Agr. Water Manag.* 65: 95-101
- KELEMEN, G., KERESZTES, A., BACSY, E., FEHER, M., FODOR, P., PAIS, I. (1993): Distribution and intracellular-localization of titanium on plants after titanium treatments. *Food Struct.* 12: 67-72
- KINDL, H., WÖBER, G. (1975): Biochemie der Pflanzen, Springer Verlag, Berlin, p. 364
- KISS, F., DEÁK, F., FEHÉR, M., BALOUG, A., SZABOLCSI, L., PAIS, I. (1985): The effect of titanium and gallium on photosynthetic rate of algae. *J. Plant Nutr.* 8: 825-831
- KLECHKOVSKII, V.M., GULYAKIN, I.V. (1958): Behavior in soils and plants of trace amounts of strontium, cesium, ruthenium and zirconium. *Pochvovedenie* 3: 1-16
- KOSÁRY, J., STEFANOVITS-BÁNYAI, É., CSEKE, E., NOVÁK-FODOR, M., BOROSS, L. (1995): The effect of environmental pollution on the function of active skeleton muscle. Part 1: An adequate method to study the effect of metal ions on the activity of phosphofructokinase. *Pharmazie* 50: 489
- KŐRÖS, E. (1980): Bioszervetlen kémia. Gondolat Kiadó, Budapest, p. 206
- KŐRÖS, E. (1989): A Gyógyszerészeti Tudomány Aktuális Kérdései, ELTE, 5: 17-36
- KRUPA, Z. (1999): Cadmium against higher plant photosynthesis – variety of effects and where do they possibly come from? *Z. Naturforsch. C.* 54: 723-729
- KUZEL, S., HRUBY, M., CIGLER, P., TLUSTOS, P., PHU, N.V. (2003): Mechanism of physiological effects of titanium leaf sprays on plant grown on soil. *Biol. Trace Element. Res.* 91: 179-189
- LÁNG, F. (1998): Növényélettan. A növényi anyagcsere. ELTE Eötvös Kiadó p. 998
- LARCHER, W. (1994): Ökophysiologie der Pflanzen. Verlag Euegn Ulmer, Stuttgart, p. 394

- LEPP, N.W. (1993): Uptake and Accumulation of Metals in Bacteri and Fungi. In: Biogeochemistry of Trace Metals (Ed. Adriano), Lewis, Boca Raton, USA, p 513
- LESKÓ, K., STEFANOVITS-BÁNYAI, É., PAIS, I., SIMON-SARKADI, L. (2000): Change of free amino acids and peroxidase activity by cadmium and titanium ascorbate treatments on wheat seedlings. In: Proc. 9th International trace Element Symposium (ed. Pais, I.), Budapest, p 173-181
- LESKÓ, K. STEFANOVITS-BÁNYAI, É., PAIS, I., SIMON-SARKADI, L. (2002): Effect of Cadmium and Titanium-ascorbate Stress on Biological Active Compounds in wheat seedlings. *J. of Plant Nutrition*, 11: 2571-2581
- LOCH, J., NOSTICZIUS Á. (1992): Agrokémia és növényvédelmi kémia. Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 399
- LONERAGAN, J. (1997): Plant nutrition in the 20th and perspectives for the 21th century. *Plant and Soil* 196: 163-174
- LOVREKOVICH, L., LOVREKOVICH, H., STAHMANN, M.A. (1968): The importance of peroxidase in the wildfire disease. *Phytopathology* 61: 518-522
- MALAN, C., GREYLING, M.M., GRESSEL, J. (1990): Correlation between CyZn superoxid dismutase and glutathion reductase, and environmental and xenobiotic stress tolerance in maize inbreds. *Plant Sci.* 69: 157-166
- MASON, H.S. (1955): Comparative biochemistry of the phenolase complex. *Adv. Enzymol.* 16: 105-184
- MEHLHORN, H., LELANDAI, M., KORTH, H.G., FOYER, C.H. (1996): Ascorbate is the natural substrate for plant peroxidases. *FEBS Lett.* 378: 203-206
- MILONE, M.T., SGHERRI, C., CLIJSTERS, H., NAVARI-IZZO, F. (2003): Antioxidative responses of wheat treated with realistic concentration of cadmium. *Environmental and Experimental Botany*, 50: 265-276
- MORAL, R. et al. (1995): Effects of chromium on the nutrient element content and morphology of tomato. *J. Plant Nutr.* 18: 815-822
- MOSER M., PÁLMAI, Gy. (1999): A környezetvédelem alapjai. Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest, p.494.
- MOYA, J.L., ROS, R., PICAZO, I. (1993): Influence of cadmium and nickel on growth, net photosynthesis and carbohydrate distribution in rice plants. *Photosynth. Res.*, 36: 75-80
- MÜNKER, C., WEYER, S., MEZGER, K., REHKÄMPER, M., WOMBACHER, F., BISCHOFF., A. (2000): ⁹²Nb- and ⁹²Zr and the Early Differentiation History of Planetary Bodies. *Science*, 289: 1538-1542
- NAKANO, Y., ASADA, K.: (1981): Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiol.*, 22: 867-880.
- NEISH, A.C. (1960): Biosynthetic pathways of aromatic compounds. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 11: 55-80
- NIELSEN, E.T. ORCUTT, D.M. (1996): The Physiology of Plants under Stress. J. Wiley and Sons, INC. p. 689

- NOVÁK-FODOR, M., JANZSÓ, B., SUHAJDA, Á., PAIS, I. (1992a): Preparation of zirconium-containing yeasts. In: Proc. 5th Int. Trace Element Symp.(ed.: Pais, I.), Budapest, 53-60
- NOVÁK-FODOR, M., JANZSÓ, B., SUHAJDA, Á., PAIS, I. (1992b): Zirconium, als ein neues Spurenelement. Experimente mit Hefen. In: Die biologische Bedeutung der Mengen-und Spurenelemente (ed: Anke, M.). 12 Arbeitstagung, Jena, 275-281.
- O'NEILL, P. (1985): environmental Chemistry, Ed.: Allen, G. and Unwin, London
- PAIS, I., FEHÉR, M., FARKAS, E. (1979): Role of titanium in the life of plants. I. *Acta Agron. Hung.* 29: 71-75
- PAIS, I. (1997): A létfontosságú nyomelemek. Irodalmi áttekintés.Ed.: Béres, J., Béres Rt. p.364
- PAIS, I., JONES, B.J. (1997): The Handbook of Trace Elements. St. Lucie Press, Boca Raton, Florida, p. 223
- PANDOLFINI, T., GABBRIELLI, R., COMPARINI, C. (1992): Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L. *Plant Cell Environ* 15: 719-725
- PATEL, P.M., WALLACE, A., ALEXANDER, G.V. (1980): Transfer values to fruits of Li in tomato and Cd in bush bean. *J. Plant Nutr.* 2: 87-91.
- POSCHENRIEDER, C., GUNSE, B., BARCELO, J. (1989): Influence of cadmium on water relations, stomal resistance, and abscisic acid content in expanding bean leaves. *Plant Physiol.* 90: 1365-1371
- PRASAD, T.K., ANDERSON, M.D., MARTIN, A., STEWART, C.R. (1994): Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide. *Plant Cell* 6: 65-74
- RABE, R., KREEB, K.H. (1979): Enzyme activities and chlorophyll and protein content in plants as indicators of air pollution. *Environ. Pollut.* 19: 119-137
- RUBINSTEIN, B., LUSTER, D.G. (1993): Plasma membrane redox activity: components and role in plant processes. *Annu. Rev. Plant Physiol. Mol. Biol.* 44: 131-155
- RUDOLPH, K., STAHMANN, M.A. (1964): Interaction of peroxidases and catalases between *Phaseolus vulgaris* and *Pseudomonas phaseolicola* (halo blight of bean). *Nature* 204: 474-475
- SALIN, M.L. (1987): Toxic oxygen species and protective systems of the chloroplast. *Physiol. Plant.* 72: 681-689
- SANDSTEAN, H.H. (1981): Trace element interactions. *J. Labor Clin. Med.* 98: 457-462
- SANVILLE, W.D., POWERS, C.F., SCHUYTEMA, G.S., STAY, F.S., LAUER, W.L. (1982): Phosphorus inactivation by zirconium in an eutrophic pond. *J. Water Pollution Control* 54: 432-443
- SANZHAROVA, N.I., ALEKSAKHIN, R.M. (1982): Uptake of ²²Na, ³²P, ⁶⁵Zn, ⁹⁰Sr, ⁹⁵Zr and ¹⁰⁶Ru by Crops. *Pochvovedeniye*, 9: 59-64
- SATO, F., YOSHIOKA, H., FUJIWARA, T., HIGASHIO, H., URAGAMI, A., TOKUDA, S. (2004): Physiological responses of cabbage plug seedlings to water stress during low-temperature storage in darkness. *Sciencia Horticulturae*, in press. www.elsevier.com/locate/scihorti (keywords: plant, stress)
- SAVVIN, S.B. (1961): Analytical use of Arsenazo III. Determination of thorium, zirconium, uranium and rare earth elements. *Talanta* 8: 673-685

- SHAPIRO, C.S. (1993): Radioecology after Chernobyl. Biogeochemical Pathway of Artificial Radionuclides. SCOPE 50 (ed: Warner, F., Harrison, R.M.) Wiley, U.K. p 400
- SCHALLER, K.H. (1984): Zirconium. In: Metalle in der Umwelt. Verteilung, Analytik und biologische Relevanz. (ed: Merian, E.) Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield beach, Florida, Basel. Vol. II. Part. 27. 645-649
- SCHROEDER, H.A., MITCHNER, M., NASON, A.P. (1970): Zirconium, Niobium, Antimony, Vanadium and Lead in Rats: Life Term Studies. *J. Nutrition*, 100: 59-68
- SCHARRER, K. (1955): Biochemie der Spurenelemente, "Zirconium". Publisher Paul Parey, Berlin p 229
- SCHIESSLE, W., PHILIPP, K., JUNG-LANGHORST, U. (1966): Tierexperimentelle Inhalationsuntersuchungen mit radioaktiven Zirkonium. *Strahlentherapie*, 116: 566-584
- SCHWARZ, K. (1970): Controll of the environmental conditions of trace element research: An experimental approach to unrecognized trace element requirements. In: Mills, C.F. (ed) Proceedings International Symposium. Aberdeen, Scotland, 25-52
- SIMON, L., KISS, F., BALOGH, Á., PAIS, I. (1988a): Effect of titanium on growth and photosynthetic pigment composition of *Chlorella pyrenoidosa* (green algae). I. Effect of titanium ascorbate on growth and protein content of *Chlorella*. In: Proc. of 3th Int. Trace Element Symp., (Ed.: Pais, I.) 1988, 76-87
- SIMON, L., HAJDU, F., BALOGH, Á., PAIS, I. (1988b): Effect of titanium on growth and photosynthetic pigment composition of *Chlorella pyrenoidosa* (green algae). II. Effect of titanium ascorbate on pigment content and chlorophyll metabolism of *Chlorella*. In: Proc. of 3th Int. Trace Element Symp., (Ed.: Pais, I.) 1988, 87-102
- SIMON, L., NOVÁK-FODOR, M., PAPP, T., HAJDÚ, F., BALOGH, Á., PAIS, I. (1992): The effect of zirconium on the *Chlorella pyrenoidosa* green algae. In: Proc. 5th Int. Trace Element Symp. (ed.: Pais, I.), Budapest, 61-74
- SIMON, L., FODOR, M., PAIS, I. (2001): Effects of zirconium on the growth and photosynthetic pigment composition of *Chlorella pyrenoidosa* green algae. *J. of Plant Nutrition*, 24: 159-174
- SIMON, L. (2003). Kadmium rizofiltráció vizsgálata. In: Mikroelemek a táplálékláncban (ed.: Simon, L. and Szilágyi, M.), Bessenyei György Könyvkiadó 193-203
- SINGLETON V.L., ROSSI J.A. (1965): Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphoturestic acid reagents. *Am. J. Enol Vitic* 16. 144-158.
- SLOWEY, J.F., HAYES, D., DIXON, B., HOOD, D.W. (1965): Distribution of Gamma-Emitting Radionuclides in the Gulf of Mexico. In: Proc. Of Symp., Univ. of R.I. (ed: Schink, D.R., Corless, J.T.) Occasional Publication No.3. Narragansett Marine Laboratory, Univ. of Rhode Island, Kingston, R.I. 3: 109-129
- SMITH, I.C., CARSON, B.L. (1978): Trace metals in the environment. Ann. Arbor. Science Vol. 3.- Zirconium p 371

- SMITH, I.K., VIERHELLER, T.L., THORNE, C.A. (1988): Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid). *Anal. Biochem.*, 175: 408-413.
- STEFANOVITS-BÁNYAI É., KEREPESEI I., SÁRDI É., PAIS I. (1998): Effect of cadmium and titanium-ascorbate on Hydroponically-grown wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. Macro and Trace Elements 18th Workshop, Jena, 267-277.
- STEFANOVITS-BÁNYAI É., KEREPESEI I., SÁRDI É., PAIS I. (1999a): Effects of Ti-ascorbate on heavy metal induced carbohydrate metabolism and peroxidase activity in wheat seedlings. .). In: Proc. 9th International Trace Element Symposium (ed. Pais, I.), Budapest, 165-171.
- STEFANOVITS-BÁNYAI É., SÁRDI É., KEREPESEI I., KISS M., PETRI J., PAIS I. (1999b): The protective effect of Titanium ascorbate in plant stress processes caused by some heavy metals. In 2nd International Symposium on Trace Elements in Human: New Perspectives, Athens, Greece, 239-250.
- STEFANOVITS-BÁNYAI É., SÁRDI É., VÉGVÁRI, A., WESZELY, G., PAIS, I. (2000): Change of peroxidase activity by arsenic and titanium ascorbate treatments on wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.) and bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). In: Proc. 9th International Trace Element Symposium (ed. Pais, I.), Budapest, 256-264
- STEFANOVITS-BÁNYAI É., MARKÓTH, H., BERTÉNYI-DIVINYI, ZS., MONSPART-SÉNYI, J. (2002): Nutritionally important components of *Rosa canina* L. originating from various areas of Hungary. *Centr. Eur.J. of Occupational and Environment. Med.*, 8: 172-177
- STEFANOVITS, P. (1977): Talajvédelem, környezetvédelem. Biológiai Környezetünk Védelme sorozat, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, p. 244
- STEFANOVITS, P. (1981): Talajtan. 2. Átd. Bőv. Kiadás. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, p. 380
- STOBART, A.K., GRIFFITHS, W.T., AMEEN-BUKHARI, I., SHERWOOD, R.P. (1985): The effects of Cd²⁺ on the biosynthesis of chlorophyll in leaves of barley. *Physiol. Plant.* 63: 293-298
- STUMPF, P.K., CONN, E.E. (1980): The Biochemistry of Plants. A comprehensive treatise. Vol1. The Plant Cell. Ed.: Tolbert, N.E., Academic Press, San Francisco p 705
- SUBA, J. (1978): Növényélettani gyakorlatok. Tankönyvkiadó, Budapest
- TENENBAUM, S., OPDYKE, D.L. (1969): Antimicrobial Properties of the Pyrithione Salts. VII. In vitro Methods for Comparing Pyrithiones to Standard Antimicrobials. *Food Cosmet. Toxicol.* 7: 223-232
- TZIVELEKA, L., KALDIS, A., HEGEDŰS, A., KISSIMON, J., PROMBONA, A., HORVÁTH, G., ARGYROUDI-AKOYUNOGLU, J. (1999): The effect of Cd on chlorophyll and lightharvesting complex II biosynthesis in greening plants. *Z. Naturforsch. C*, 54: 740-745
- URITANI, I. (1971): Protein changes in diseased plants. *Ann. Rev. Phytopath.* 9: 211-234
- URITANI, I. (1976): Protein metabolism. In: Physiological plantpathology. R. Heitefuss and P.H. Williams (eds). Springer-Verlag, Berlin, 509-525
- VAN ASSCHE, F., CLIJSTERS, H. (1990): Effect of metals on enzyme activity in plants. *Plant Cell. Env.* 13: 195-206
- VÁRALLYAI Gy., KERÉNYI, A., ORSOVAI, I. (1994): Természeti és társadalmi környezetünk. Talaj – talajvédelem – talajhasznosítás. ELTE, TTK jegyzet, Budapest, p. 1-73

- WAALKES, M.P. (2000): Cadmium carcinogenesis in review. *J. of Inorg. Biochem.* 79: 241-244
- WYEN, N.V., ERDEI, S., FARKAS, G.L. (1974): Isolation from *Avena* leaf tissues of nuclease with the same specificity towards RNA and DNA. Accumulation of the enzyme during leaf senescence. *Biochem. Biophys. Act.* 332: 472-483
- XUE, Q., WEISS, A., ARKEBAUER, T.J., BAENZIGER, P.S. (2004): Influence of soil water status and atmospheric vapor pressure deficit on leaf gas exchange in field-grown winter wheat. *Environmental and Experimental Botany*, in press. www.elsevier.com/locate/envexpbot (keywords: wheat)
- ZHONG, W., PARKINSON, J.A., GUO, M., SADLER, P.J. (2002): Unusual features for zirconium (IV) binding to human serum transferrin. *J. Biol. Inorg. Chem.* 7: 589-599
- ZIMMERMAN, V., DAINITY, J. (1974): Membrane Transport in Plants. Springer Verlag, p 473

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Tekintettel arra, hogy doktori téziseimet az 1993. megírt műszaki doktori dolgozatom szerves folytatásának tekintem, kissé rendhagyó ez a köszönetnyilvánítás. Rendhagyó már csak azért is, mert eltelt időközben tíz év, és ez mindenki életében nagy idő.

Ez a tíz év, életem egyik legnehezebb időszaka volt, ezért, hogy ez a dolgozat most elkészült, sok embernek tartozom köszönettel:

- Elsőként Édesanyámnak, Édesapámnak (†) és Bátyámnak, akik hol szelíden, hol kevésbé szelíden ösztönöztek és biztattak, hogy átjussak a mélypontokon;
- Pais István Professzor emeritusnak, aki elindított a mikroelemkutatás területén
- Tanszékvezetőmnek, Dr. Fodor Péter Professzornak, akinek sok munkája mellett mindig akadt ideje egy jó szóra
- Stefanovitsné Dr. Bányai Évának, aki mentorom volt a növénykísérleteknél, s előszeretettel színezte ki botladozó írásaimat;
- Dr. Hegedüs Attilának, aki tanítványból tanítóvá nőtt fel, s zavart udvariassággal terelgetett a megfelelő úton, rámutatva logikai bukfenceimre és kijavítva angol nyelvtudásomat;
- Dr. Dernovics Mihálynak, aki Attilához hasonlóan “lekörözött”, és kiemelkedő tanítványból lett bölcs kollégaként sok-sok tanáccsal látott el;
- Tömöry Istvánnak, számítógépeink “lelkének”, aki éjjel-nappal készenlétben állt, hogy kordában tartsa a számítógép ördögét;
- Bertényiné Divinyi Zsuzsának, Fekete Zsuzsának és Firisz Zsuzsának, akik mintáimat előkészítették és ICP-OES méréseit végezték;
- Leskó Kornéliának, a BME PhD hallgatójának, aki az aminosav analízisek elvégzésében segített;
- Dr. Simon Lászlónak és Prof. Dr. Szilágyi Mihálynak, hogy elvállalták dolgozatom előbírálását;
- S végezetül, de nem utolsó sorban az Alkalmazott Kémia Tanszék eddig nem említett dolgozóinak: Erős Judit, Dr. Ipolyi Ildikó, Jókainé Szatura Zsuzsa, Kertész Katalin, Dr. Kosáry Judit, Dr. Stefánka Zsolt, Száraz Andrásné, Szurduk Sándorné, Dr. Tóth Árpád, Vörösné Szatura Ágnes, Dr. Woller Ágnes

és PhD hallgatóinak: Abrankó László, Balogh Teréz, Gergely Valéria, Kápolna Emese, Schäffer Richárd

akiktől nagyon sok szeretetet, jó szót és segítséget kaptam.