

**A növényben nehézfém-hatásra kialakuló  
stresszállapot korai fázisának detektálására  
alkalmas paraméterek kiválasztása**

**Doktori Értekezés**

**Jócsák Ildikó**

**GÖDÖLLŐ, 2016**

DOKTORI ISKOLA: BIOLÓGIAI TUDOMÁNYOK  
TUDOMÁNYÁG: BIOLÓGIA  
VEZETŐ: PROF. DR. NAGY ZOLTÁN  
Intézetvezető, Egyetemi tanár  
SZIE MKK Növénytani és Ökofiziológiai Intézet

TÉMAVEZETŐ: PROF. DR. VÉGVÁRI GYÖRGY  
SZIE Kertészettudományi Kar  
Intézetigazgató, Egyetemi tanár  
Kaposvári Egyetem, Élettani, Biokémiai és Állategészségügyi  
Intézet

.....  
ISKOLAVEZETŐ  
JÓVÁHAGYÁSA

.....  
TÉMAVEZETŐ  
JÓVÁHAGYÁSA

## TARTALOMJEGYZÉK

<b>RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE</b> .....	<b>4</b>
<b>1. BEVEZETÉS</b> .....	<b>5</b>
<b>2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS ÉS CÉLKITŰZÉS</b> .....	<b>9</b>
<b>2.1 Nehézfém terhelés hatása a növényekre</b> .....	<b>9</b>
2.1.1 A kadmium jellemzése és a növényekre gyakorolt hatása .....	11
2.1.2 A nikkel jellemzése és a növényekre gyakorolt hatása.....	15
2.1.3 Nehézfém terhelés hatására indukált egyes védekezési mechanizmusok .....	18
2.1.3.1 Reaktív oxigén formák kialakulása nehézfém stressz következtében.....	18
2.1.3.2 A nehézfémek detoxifikációja szerves savak segítségével .....	19
<b>2.2 Az elárasztás növényekre gyakorolt hatása</b> .....	<b>20</b>
<b>2.3 A váltakozó áramú impedancia fogalma és alkalmazási területei az élettudományokban</b> .....	<b>22</b>
2.3.1 A váltakozó áramú impedancia fogalma, biológiai szövetek impedanciája .....	22
2.3.2 Növények váltakozó áramú impedanciáját közelítő modellek .....	23
2.3.3 Váltakozó áramú impedancia spektroszkópia alkalmazása növényi szövetekben.....	25
2.3.3.1 Gyökér növekedés becslés és terményminőség vizsgálat .....	25
2.3.3.2 Az EIS alkalmazásai a növényi stresszvizsgálatokban-abiotikus és biotikus stressz detektálás.....	26
2.3.3.3 Növényi vízállapot jellemzése váltakozó áramú impedancia méréssel.....	29
<b>2.4 Célkitűzés</b> .....	<b>29</b>
<b>3. ANYAG ÉS MÓDSZER</b> .....	<b>31</b>
<b>3.1 Kísérleti növények és nevelési körülmények</b> .....	<b>31</b>
3.1.1. Árpa növények nevelése.....	31
3.1.2 A Hoagland tápoldat összetétele .....	31
3.1.3 Zöldborsó növények nevelése .....	32
3.1.4 Árpa csíranövények nehézfém (kadmium, nikkel) kezelése .....	32
3.1.5 Zöldborsó csíranövények kadmium kezelése és elárasztása.....	32
3.1.6 Zöldborsó csíranövények magnézium kezelése.....	32
<b>3.2 Zöldborsó csíranövények gyökér- és hajtáshosszúság mérése</b> .....	<b>33</b>
<b>3.3 Morfológiai és fénymikroszkópos vizsgálatok</b> .....	<b>33</b>
<b>3.4 Impedancia spektrumok meghatározása</b> .....	<b>34</b>
<b>3.5 Az impedancia spektrumok értékelése</b> .....	<b>34</b>
<b>3.6 Fluoreszcencia indukció mérés</b> .....	<b>36</b>
<b>3.7 SPAD index mérés (növények klorofill tartalmának becslése)</b> .....	<b>37</b>
<b>3.8 Szerves sav mérés</b> .....	<b>37</b>
<b>3.9 Nehézfém tartalom meghatározás</b> .....	<b>37</b>
<b>3.10 Növényi szövetkivonat készítése enzimaktivitás mérésekhez</b> .....	<b>38</b>

<b>3.11 Enzimaktivitások meghatározása .....</b>	<b>38</b>
<b>3.12 Statisztikai elemzés .....</b>	<b>39</b>
<b>4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK.....</b>	<b>41</b>
<b>4.1 Egy napos és egy hetes kadmium és nikkkel kezelés hatásának vizsgálata a stressz kialakulásának korai szakaszában .....</b>	<b>41</b>
4.1.1 Kadmium és nikkkel felhalmozódás árpa ( <i>Hordeum vulgare</i> L.) csíranövényekben .....	41
4.1.2 A kadmium- és nikkkel felhalmozódás eredményeinek értékelése .....	43
4.1.3 Egy hetes kadmium és nikkkel kezelés hatása a SPAD indexre.....	44
4.1.4 Egy hetes kadmium és nikkkel kezelés hatása a fluoreszcencia indukció mérés paramétereire.....	45
4.1.5 A SPAD index és a fluoreszcencia indukció mérés paraméter változásainak értékelése .....	47
4.1.6 A szerves savak konstitutív mennyiségének meghatározása a gyökérben és a levélben .....	49
4.1.7 Kadmium kezelés hatása árpa ( <i>Hordeum vulgare</i> L.) csíranövények szerves sav tartalmára .....	50
4.1.7.1 Egy napos és egy hetes kadmium kezelés hatása árpa ( <i>Hordeum vulgare</i> L.) csíranövények gyökér szerves sav tartalmára.....	50
4.1.7.2 Egy napos és egy hetes kadmium kezelés hatása árpa ( <i>Hordeum vulgare</i> L.) csíranövények levél szerves sav tartalmára .....	53
4.1.8 Nikkel kezelés hatása árpa ( <i>Hordeum vulgare</i> L.) csíranövények szerves sav tartalmára .....	56
4.1.8.1 Egy napos és egy hetes nikkkel kezelés hatása árpa ( <i>Hordeum vulgare</i> L.) csíranövények gyökér szerves sav tartalmára .....	56
4.1.8.2 Egy napos és egy hetes nikkkel kezelés hatása árpa ( <i>Hordeum vulgare</i> L.) csíranövények levél szerves sav tartalmára .....	58
4.1.9 A szerves sav tartalom változásainak értékelése .....	61
4.1.10 Kadmium és nikkkel hatása árpa ( <i>Hordeum vulgare</i> L.) csíranövények antioxidatív enzimaktivitására .....	65
4.1.10.1 Egy napos és egy hetes kadmium kezelés hatása a GPX és az APX enzimek aktivitására .....	65
4.1.10.2 Egy napos és egy hetes nikkkel kezelés hatása a GPX és az APX enzimek aktivitására.....	68
4.1.11 A gvajakol peroxidáz (EC 1.11.1.7.) és az aszkorbát peroxidáz (EC 1.11.1.11.) aktivitás változásainak értékelése.....	70
<b>4.2 Kadmium és elárasztás, mint stressz tényezők, hatásainak vizsgálata zöldborsó csíranövényeken (<i>Pisum sativum</i> L.) hagyományos paraméterek meghatározásával és váltakozó áramú impedancia méréssel .....</b>	<b>74</b>
4.2.1 Eltérő nevelési módok megjelenése az impedancia paraméterekben .....	74
4.2.1.1 Ra, Rs és Cm értékek változása a gyökérben .....	74
4.2.1.2 Ra, Rs és Cm értékek változása a hajtásban .....	76
4.2.2 A kadmium és az elárasztás hatása zöldborsó csíranövények egyes morfológiai, illetve elektromos paramétereire .....	80
4.2.2.1 Zöldborsó csíranövények morfológiai változása .....	80
4.2.3 A központi henger állapotának változásai .....	83
4.2.4 A szövetek kadmium tartalma.....	86
4.2.5 A kadmium tartalom mérés eredményeinek értékelése .....	87
4.2.6 Az elárasztás és a kadmium kezelés együttes hatása az impedancia paraméterekre .....	87
4.2.7 A váltakozó áramú impedancia mérés kísérleti eredményeinek értékelése .....	91
4.2.8 Az eredmények összefoglalása, új tudományos eredmények .....	95
<b>5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK .....</b>	<b>97</b>
<b>6. ÖSSZEFOGLALÁS .....</b>	<b>99</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>100</b>
<b>MELLÉKLETEK.....</b>	<b>103</b>
<b>M1. Irodalomjegyzék .....</b>	<b>103</b>
<b>M2. Árpa csíranövények gyökér és levél elemtartalma .....</b>	<b>122</b>

<b>M3. SPAD és Fluoreszcencia mérések eredményei táblázatosan a statisztikai eredmények feltüntetésével...</b>	<b>123</b>
<b>M4. A szerves sav mérések eredményei táblázatosan, a statisztikai eredmények feltüntetésével .....</b>	<b>126</b>
<b>M5. Enzimaktivitások eredményei táblázatosan, a statisztikai eredmények feltüntetésével.....</b>	<b>135</b>
<b>M6. Az impedancia mérés és a hozzá kapcsolódó kiegészítő vizsgálatok eredményei táblázatosan, a statisztikai eredmények feltüntetésével .....</b>	<b>139</b>
<b>KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS .....</b>	<b>145</b>

## RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

APX	– aszkorbát peroxidáz
CAT	– kataláz
C <sub>m</sub>	– membrán kapacitás
EIS	– elektromos impedancia spektrum
fr.t.	– friss tömeg
F <sub>0</sub>	– alapfluoreszcencia
F <sub>m</sub>	– maximális fluoreszcencia
F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	– PSII maximális fotokémiai hatásfoka
F <sub>v</sub>	– változó fluoreszcencia
GR	– glutation reduktáz
HPLC	– High performance liquid chromatography
LHC	– Fénygyűjtő komplex (Light Harvesting Complex)
LOX	– lipoxigenáz
POD, GPX	– peroxidáz (gvajakol peroxidáz)
PSI	– első fotokémiai rendszer
PSII	– második fotokémiai rendszer
R <sub>a</sub>	– apoplazmikus, vagy sejtek közötti ellenállás
R <sub>s</sub>	– szimplazmikus, vagy sejten belüli ellenállás
SOD	– szuperoxid dizmutáz
SPAD	– Soil plant analysis development
sz.t.	– száraz tömeg
TxVC	– trachea szám x központi henger átmárője
VC	– központi henger (vascular cylinder)
Z	– impedancia értéke

## 1. BEVEZETÉS

Az emberi tevékenység következtében a környezetszennyezés egyre nagyobb méreteket ölt a Földön, ezért rendkívül fontos a káros hatások megismerése és tanulmányozása, továbbá a károsító hatások semlegesítése, vagy kiküszöbölése. A bioszférába bocsátott veszélyes anyagok kisebb vagy nagyobb mértékben minden élőlényre, így a növényekre is hatnak. Fontos feladat többek között, a növényeket érő hatások pontos megismerése és annak tanulmányozása, illetve feltárása, hogy milyen változásokat indukálnak a növényekben, hiszen a bennük felhalmozódott mérgező vegyületek a táplálékláncon keresztül eljuthatnak az emberi szervezetbe, és mérgezéshez vezethetnek. Ma már több tudományág is foglalkozik a környezetszennyezés detektálásával (kémia, biokémia, fizika, biofizika, molekuláris biológia, genetika, stb.), továbbá a károsító hatások semlegesítésével és kiküszöbölésével. Érdemes ezért a vizsgálatokat is több tudományterület módszereinek kombinálásával vagy egymás utáni alkalmazásával végezni annak érdekében, hogy teljesebb képet kapjunk vizsgálatunk tárgyáról.

A normális életműködéshez szükséges folyamatokat gátló ingerek az élőlényekben védekezési folyamatokat indítanak be. Ennek következtében egy, a normálistól eltérő állapot alakul ki, amely ha hosszabb ideig fennmarad már szemmel is jól látható külső változásokat okoz. Ezt az állapotot stressz állapotnak nevezzük. A stresszt okozó inger a stresszor, amely a legkülönfélébb környezeti változásokat foglalja magába. A stresszoroknak többféle csoportosítása létezik. Egyik lehetséges csoportosítási szempont szerint, a stresszorokon belül alapvetően két csoport különíthető el:

- a természet, vagyis a környezet extrém megnyilvánulásai, mint pl. a vízellátottsági zavarok: árvizek vagy belvizek illetve szárazság, és
- az emberi tevékenységből származó környezetszennyezés által okozott stresszek.

A klímaváltozás következtében napjainkban egyre gyakoribbak az áradások, amelyeknek a következménye a talaj oxigéntartalmának részleges vagy teljes kiszorulása. Ez káros a növényi fejlődés szempontjából. A növény gyökerének az egészséges működéshez megfelelő mennyiségű talajoxigénre van szüksége. Abban az esetben, ha ez nem biztosított, a növény állapota kezdetben leromlik, majd elpusztul a levegőtlen talajban meginduló káros folyamatok- úgymint széndioxid felesleg, toxikus anyagok felhalmozódása- következtében.

Az egyre növekvő ipari tevékenység egyenes következménye, a környezetbe kerülő szennyező anyagok számának és azok mennyiségének növekedése. Ezek az anyagok természetesen a bioszféra minden részében jelen vannak, de mivel a növények elsődleges közege a talaj, a vizsgálataink középpontjába a talaj szennyezőanyagai kerülnek. Napjainkban a legnagyobb

problémát a nehézfémek és azok vegyületeinek talajba jutása okozza. A növényekkel interakcióba lépő nehézfémek lehetnek esszenciálisak, azaz a növényi működéshez elengedhetetlenül fontosak, valamint nem esszenciálisak, azaz olyanok, amelyek a növénybe jutva már bármilyen kis mennyiségben is toxikus tüneteket okoznak. Az előbb említett két elemcsoport hatásmechanizmusukat tekintve különbözők, ezért a növényélettani vizsgálatok során is lényeges hatásukat összevetni és a különbségeket megállapítani. A nikkel esszenciális nehézfém, amely azonban toxikus tüneteket okoz, ha többletben jelenik meg a növényben. Az egyik legtoxikusabb nem esszenciális nehézfém a kadmium, amely bányászati és mezőgazdasági tevékenység során kerül a környezetbe, illetve a növényekbe (szerves- és műtrágyák, talajjavító anyagok, növényvédő szerek, szennyvíziszap, gépjármű gumibroncskopás). Élettani hatásait tekintve a kadmium akkumulálódása a növényben komoly anyagcsere- és ezzel együtt fejlődési zavarokat okoz, amely termés kieséshez vezet. Tekintettel arra, hogy a növények nehézfém tűrő képessége nagyobb, mint az emberé, nikkel és kadmium szennyezés esetén a növényben akkumulált, de még számára nem letális mennyiség emberi szervezetbe jutva elegendő koncentrációban már mérgezést okoz. Mindez indokoltá teszi a nehézfémek által előidézett növényi reakciók minél sokrétűbb tanulmányozását.

A fentieket figyelembe véve nyilvánvaló, hogy a stresszfaktorok, illetve azok hatásainak vizsgálata fontos növényélettani kutatási feladat. Érdekes elkülöníteni a természetben előforduló és elő nem forduló alkalmazott koncentrációk különböző hatásait, illetve ezen hatások időbeli megjelenését.

A klasszikus növényélettani vizsgálati módszerek (klorofill tartalom meghatározás, elemtartalom mérés, antioxidatív enzimaktivitás meghatározás, szerves sav mérés) jó eszközei a stresszélettani kutatásoknak, mivel alkalmasak a növény fiziológiás, illetve stresszállapot jellemzésére. Ezek a módszerek sok esetben a növény szöveteinek feltárását, feldolgozását igénylik, ami invazív mivoltukból adódóan egy egyeden csupán egy vizsgálatot tesznek lehetővé, holott egy növényegyed többszöri, *in vivo* vizsgálata sokkal árnyaltabb képet adhatna a stresszor által kiváltott növényi válaszokról. Emellett az is fontos, hogy a vizsgálat a lehető legkevesebb sérülést okozza, mivel a sérülés már önmagában stresszhatásnak tekinthető, ami az eredmények pontosságát kérdőjelezheti meg. A modern növényélettani kutatásokban egyre szaporodnak a nem invazív vizsgálati módszerek (fluoreszcencia indukciós mérés, műszeres klorofilltartalom meghatározás, fotoszintetikus aktivitás mérés, sztóma konduktancia mérés), illetve igény mutatkozik más tudományterületek módszereinek integrálására is a növényi stressz kutatása során. A stresszélettanban új módszerek számítógépes váltakozó áramú impedancia mérés is megfelel ezen elvárásoknak, mivel paraméterei információt szolgáltatnak a növényi szövet állapotáról és



annak megváltozásáról, lényegi szöveti roncsolás nélkül, mivel mindössze két, viszonylag rövid és vékony elektróda kerül a növényi szövetbe. Feltételezhető tehát, hogy az így kapott eredmények megfelelően tükrözik a növény élettani állapotát, annál is inkább, mivel azértékelésnél alkalmazott modell paraméterei nagymértékben függenek a növényi szövet belső viszonyaitól. Így várhatóan gyors és pontos eredményeket kapunk e módszer alkalmazásával.

A vizsgálatokat célszerű továbbá nem modellnövényen, hanem haszonnövényeken végezni, hiszen éppen az emberi fogyasztásban vagy takarmányozásban fontos növényfajok stresszválaszai szolgálhatnak útmutatásul a növénynemesítésnek, illetve a fitoremediációs törekvéseknek.

A fenti elvárásokból kiindulva a doktori kutatásaim során két fő területre fókuszáltam:

- klasszikus növényélettani vizsgálati módszerek segítségével- HPLC, antioxidatív enzimaktivitás mérés, fluoreszcencia indukció mérés, SPAD index mérés-, arra a kérdésre kerestem a választ, hogy melyik az a legkorábbi időpont, amikor a nehézfémstressz hatásai a kezelést követően kimutathatók egy eszenciális és egy nem eszenciális nehézfém mérgezést követően.
- módszertani szempontból egy, az orvostudományban, illetve az élelmiszertudományokban elterjedten alkalmazott szöveti szerkezet változásait jelző módszert, a váltakozó áramú impedancia mérés alkalmasságát kívántam megvizsgálni környezeti stresszorok által kiváltott növényi szöveti változások korai detektálására és nyomon követésére.



## 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS ÉS CÉLKITŰZÉS

### 2.1 Nehézfém terhelés hatása a növényekre

Az emberi környezetátalakító tevékenység következtében jelentősen megnőtt a növényeket érő stressztényezők száma, illetve azok mértéke. Mindez komoly kihívások elé állítja az élő szervezetek alkalmazkodó képességét (CHEN és ZONG, 1999).

A növényi produkcóra számos károsító környezeti tényező hat (DREZNER *et al.*, 2007), amelyek közül az egyik legfontosabb a nehézfém terhelés. A *nehézfém* kifejezés a 3,5-7 g/cm<sup>3</sup> sűrűségű és magas rendszámú (20-nál nagyobb) elemeket jelöli, magába foglalva az átmeneti fémeket, metalloidokat a lantanoidákat és az aktinoidákat is (DUFFUS, 2002).

Az élő szervezetekkel összefüggésben megkülönböztetünk esszenciális és nem esszenciális nehézfémeket. Az esszenciális nehézfémek, gyakran egyúttal mikroelemek is, azaz ppm-es, vagy annál kisebb koncentrációban fordulnak elő a természetes környezetben. A legfontosabb esszenciális nehézfémek a következők: cink, kobalt, mangán, molibdén, nikkel, réz, vanádium és a vas. A mikroelemek kis mennyiségben szükségesek az élőlények számára, élettani szempontból azonban nagy jelentőséggel bírnak: enzimek aktív helyei, illetve proszterikus csoportok atomjai is lehetnek. Az esszenciális elemeknek alapvetően kétféle problémaköre adódhat: hiány esetén a növények nem képesek kifejlődni, ami általában a fotoszintetikus produkció csökkenésében nyilvánul meg, és ez végeredményben kisebb termést eredményez. Többlet esetén, ami lehet nagy dóziszú és/vagy hosszú ideig tartó mérgezés, toxikus tünetek jelentkeznek, ami végül letális állapothoz vezet. A nem esszenciális nehézfémeknél, úgymint pl. a kadmium és az arzén csupán többletről, azaz mérgezéses állapotról beszélhetünk, nincs hiány-, vagy optimális ellátottsági állapot (PRASAD, 2004).

A növények képesek tolerálni a nehézfémeket egy bizonyos intervallumon belül. BAKER és WALKER (1989) nehézfém-tolerancia szempontjából három csoportba osztotta a növényeket:

- kizárók (a növényi biomassza fémaakumulációja alacsonyabb a talaj fémmennyiségénél),
- indikátorok (a növényi biomassza fémaakumulációja megközelítőleg hasonló a talaj fémmennyiségéhez),
- akkumuláló fajok (a növényi biomassza fémaakumulációja meghaladja a talaj fémkoncentrációját).

A nehézfémek felvételük során versengenek más fémekkel ugyanazon membráncsatornákért. A nikkel például a réz, a cink és a kobalt mellett jellemzően a vassal verseng (CATALDO *et al.*, 1978). Mindezek következtében a nehézfémek, így a toxikus nehézfémek is, rövid idő alatt

bejutnak a növénybe, és különböző anyagcsere utakba bekapcsolódva zavart idéznek elő a normális működésben (PRASAD, 2004).

A nehézfém mérgezés növényi detoxifikációja igen komplex folyamat, számos tényező közreműködésével (TUBA és CSINTALAN, 1993), úgymint

- csökkent mértékű szállítás (ANGELOVA és IVANOV, 2009),
- különböző sejtszervekbe történő kiválasztás (LASAT, 1998),
- kelatálás (COBBET, 2000),
- illetve a biotranszformáció (TOMSETT *et al.*, 1992).

A növények gyökerei képesek fémeket megkötő kelátor vegyületeket kiválasztani, és a rizoszférába bocsátani: cukrokat, aminosavakat, illetve leggyakrabban szerves savakat (pl. almasav, borostyánkősav, citromsav) (SALT *et al.*, 1993; CARVALHAIS *et al.*, 2010), ami segíti a felvételüket függetlenül attól, hogy esszenciális, vagy nem esszenciális nehézfém található a talajban. Ugyanezen vegyületek, mivel erős affinitásuk van a nehézfémek felé, szerepet játszanak a fém kiválasztásban a növényi szervezeten belül is (FULEKAR *et al.*, 2009).

A felvett nehézfémek több típusba sorolhatók attól függően, hogy melyik növényi részben halmozódnak fel:

- jellemzően a hajtásban felhalmozódók: Ag, Cr, Pb, Al, Va, Sn
- jellemzően a gyökérben felhalmozódók: Cd, Co, Cu, Fe, Mo
- egyenletes eloszlásúak: Ni, Mn, Zn (PRASAD, 2004)

A fitoremediáció egy nehézfémtől, vagy más környezetkárosító vegyülettől szennyezett talaj, vagy tápközeg megtisztítását jelenti növények segítségével.

A fitoremediáció sikerét megalapozhatja a nehézfémek növényekre gyakorolt hatásának minél pontosabb megismerése. A nem esszenciális nehézfémeket a növény nem képes beilleszteni a metabolizmusába, ezért fontos kutatási feladat megakadályozni azt, hogy a nehézfémek kifejthessék károsító hatásukat. Ennek egyik lehetséges módja a nehézfém extrakciója a szennyezett talajból, illetve egy, a nehézfémet jól akkumuláló fajban koncentrálni, majd megsemmisíteni (PADMAVATHIAMMA és LI, 2007). Az így létrejött biomasszából a fém esetlegesen visszanyerhető, amennyiben gazdaságilag megtérül (ZACCHINI *et al.*, 2009). Világszerte mindössze körülbelül 400 növényfajról tudják, hogy nehézfémeket képesek hiperakkumulálni. Az akkumulálható fémek a kadmium, a króm, a réz, a mangán, a nikkel és a cink (KERSTEN *et al.*, 1980). Az akkumuláló növények legtöbbször a *Brassicaceae* család tagja, beleértve több *Thlaspi* fajt, amelyek főként nikkelt és cinket tudnak nagyobb mennyiségben felhalmozni, egészen a testtömegük 3 % - ig (30000 µg/ g száraz anyag), anélkül, hogy a metabolizmusukban letális folyamatok indulnának be. A nikkelt hiperakkumulátor *Thlaspi*

*goesingense* Hal. tanulmányozása során KRÄMER *et al.* (2000); valamint KÜPPER *et al.* (2001) megállapították, hogy a hiperakkumuláció úgy valósul meg, hogy a növény hatékonyan képes a nikkelt a hajtás sejtjeinek központi vakuólumába pumpálni és ott tárolni, azaz kivonni a növényi metabolizmusból.

A nehézfémek irodalmából kitűnik, hogy a hiperakkumulációra képes fajok legtöbbje nem fejleszt nagy levéltömeget, vagy nincs nagyüzemi termesztésben (FULEKAR *et al.*, 2009). Fontos feladat tehát a mezőgazdasági termesztési gyakorlatban szereplő fajok nehézfémstresszre adott reakcióinak vizsgálata, azért, mert közülük kerülhetnek ki a későbbiekben potenciális ténylegesen hatékonyan bioakkumuláló fajok, fajták.

### **2.1.1 A kadmium jellemzése és a növényekre gyakorolt hatása**

A környezeti stressz tényezők közül a kadmium az egyik leginkább károsító elem, amely növénybe jutását követően növekedésvisszaesést és csökkent termést okoz (MALAN és FARRANT, 1998).

A kadmium egy nem esszenciális nehézfém, amely főként az ipari tevékenység eredményeként kerül a bioszférába, többek között erőművek, fémfeldolgozó üzemek, szeméttételezők, cement üzemek melléktermékeként, de legnagyobb részben, mint a foszfát műtrágyák vivőanyaga. Kijuthat a természetbe továbbá szennyvízülepítés és kezelés eredményeként, és a városi közlekedés velejárójaként, az autók gumibroncsok kopásából adódóan (MHATRE és PANKHURST, 1997). Az emberi tevékenységtől alig befolyásolt területeken a kőzetek ásványosodás folyamatai során kerülhet kadmium növények által felvehető formában a talajba. A kadmium a természetben általában nem önállóan, hanem legtöbbször ólom- cink tartalmú ásványokban fordul elő (BAKER *et al.*, 2000).

Azokban a talajokban, ahol a kadmium szennyezés hosszú időn keresztül fennmarad, illetve meghaladja a 0,35  $\mu\text{M}$  vagy annál magasabb koncentrációt, csupán a kadmiumot hiperakkumulálni képes növény, a *Thlaspi caerulescens* L. marad életben (EBBS *et al.*, 2002). A zöldborsó esetében az a legkisebb kadmium koncentráció, amely már terméseszköket okoz, 10 mg kadmium 1 kg szárazanyagra vonatkoztatva (ORMORD, 1977).

Az egyik legkönnyebben felvehető és a növényekben gyorsan transzlokálódó nehézfém a kadmium, ezzel is magyarázható a viszonylag alacsony koncentráció ellenére fellépő erős toxicitása (CHAKRAVARTY és SRIVASTAVA, 1992). A növények kadmium felvételét alapvetően befolyásolja a talaj kadmium koncentrációja, illetve az, hogy a talajban lévő kadmium a növények által felvehető formában van-e jelen, valamint más elemek koncentrációja, a talaj pH és redox potenciál értéke, illetve a hőmérséklet.

Vizes oldatban a kadmium kétértékű kation formájában van jelen és erős komplexképző hajlammal rendelkezik, főként kén- és nitrogéntartalmú ligandumokkal, elsősorban fehérjékkel lép reakcióba (CATALDO és MCFADDEN, 1988; GREGER és LINDBERG, 1992), amely káros a növényre nézve, mivel a nehézfém komplexek jelenléte megzavar számos anyagcsere utat és szerkezeti, illetve működésbeli rendellenességeket okoz a sejtben.

A talajban jelen lévő egyéb elemek koncentrációja a felvehetőség szempontjából azért lényeges tényező, mert a kadmium azokkal verseng a növénybe jutásért, hiszen felvételük többnyire ugyanazon a membráncsatornán keresztül történik. Ezen elemek a következők lehetnek: cink, kalcium, kálium, magnézium, mangán, nikkel, réz és vas (CLARKSON és LÜTTGE, 1989; RIVETTA *et al.*, 1997).

A kadmium gyökérbe jutása végbemehet apoplazmikus és szimplazmikus úton aktív és passzív transzporttal egyaránt (SALT *et al.*, 1995). A kadmium 30 % - a a gyökér kéreg szövetén passzív diffúzióval jut át, de aktív módon is bejuthat a növénybe egy  $H^+$ -ATP-ázhoz kötötten (COSTA és MOREL, 1994). A gyökér xilémet apoplazmikus és/vagy szimplazmikus úton is elérheti (SALT *et al.*, 1995).

A kadmiumnak erős affinitása van eredetileg tápelemek felvételét szolgáló ionszatornák iránt, úgymint a  $K^+$  és a  $Ca^{2+}$  csatornák (LINDBERG *et al.*, 2004). Ezen kívül a levélszövet kutikuláján és a sztómákon át is be tud jutni a növényekbe (FISMES *et al.*, 2005), a levélen keresztül. Mindezek miatt a kadmium könnyen bejut a növénybe és gyorsan transzlokálódik.

A kadmium főként a gyökérben halmozódik fel és csupán kis hányada jut el a föld feletti részekbe, ennek ellenére más fémekhez képest (Ni, Zn és Cu) magas a levél kadmium tartalma (CATALDO *et al.*, 1988).

A talaj 40 ppm kadmium tartalma jelentősen csökkentette a hajtásmagasságot és a hajtás átmérőt, valamint 49,2 %-kal visszavette a hajtás elágazódását *Populus alba* L. esetében (KHAMIS *et al.*, 2014). A levél száraz anyag akkumulációját is jelentősen, 43,1 %-kal, a gyökér száraz anyag akkumulációját 24,3 %-kal vetette vissza a 40 ppm - es kadmium kezelés (KHAMIS *et al.*, 2014).

A fentiek alapján nyilvánvaló, hogy a kadmium nagyon mérgező már egészen kis koncentrációban is (CHAKRAVARTY és SRIVASTAVA, 1992).

A kadmium-mérgezésnek számos, szemmel jól látható tünete van: a levelek széle elbarnul, klorózis lép fel, vöröses levélér és levélnyel alakul ki, a levelek összekunkorodnak, a gyökérzet barna színe és csökkent növekedése figyelhető meg (KABATA-PENDIAS és PENDIAS, 1984).

A fotoszintézis az egyik legfontosabb anyagcsereút, amelyre a kadmium más nehézfémekhez hasonlóan közvetlenül hat, többek között peroxidatív körülmények előidézésével, melynek következményeként például a kloroplasztisz membránlipid és fehérje komponensei lebomlanak

(DROPPA és HORVÁTH, 1990). HORVÁTH *et al.* (1996) kimutatták továbbá, hogy a PSII sokkal érzékenyebben reagál a kadmium mérgezésre, mint a PSI, mégpedig azért, hogy a klorofill képtelen normális pigment komplexet kialakítani, ezáltal a PSII működése gátlódik. A fotoszintézis hatékonyságát a klorofill *a/b* arány megváltoztatásával és a Calvin ciklus kulcsenzimjeinek gátlásával is csökkenthetik a nehézfém ionok (STIBOROVA *et al.*, 1986). A kadmium a CO<sub>2</sub> fixációt is gátolhatja. A kadmium számos szerkezeti és működésbeli zavart okoz a fotoszintetikus rendszerben, a protoklorofillid-reduktáz enzim gátlásán keresztül csökken a klorofill mennyisége (SANTOS *et al.*, 2010). Emellett a klorofill molekulákban található Mg<sup>2+</sup> ion kicserélődhet Cd<sup>2+</sup>-ra, ami csökkenti a fotoszintetikus rendszer kvantumhasznosítását (SANTOS *et al.*, 2010). A fotoszintézis gátlását természetesen követi a száraz anyag akkumuláció mértékének csökkenése is (CHIRAZ *et al.*, 2004; KHAMIS *et al.*, 2014). A kadmium fotoszintézisre gyakorolt hatása tehát, több folyamat közvetlen és közvetett gátló hatásának együttes következménye.

A kadmium mérgezés súlyos szerkezeti és működésbeli zavarokat okoz a növényekben. Kadmium jelenlétében a sejtosztódás nem áll le, csupán a sejtek tágulása gátolt (PRASAD, 2004). A sejt növekedés gátlása több mechanizmus, főként sejtfal és membránmódosulások együttes következménye (ROS *et al.*, 1992; OUARITI *et al.*, 1997; PRASAD, 2004). OURITI *et al.* (1997) paradicsom növények sejt membránjain végzett vizsgálatai során megállapították, hogy kadmium jelenlétében csökkent a sejtmembrán telítetlen zsírsavak -a linol- és a linolénsav-aránya (ROS *et al.*, 1992), ami szintén merevebb membránstruktúrát eredményez (ROS *et al.*, 1992).

A nehézfémek visszavetik a csírázási folyamatokat, hatásukra a kikelt csíranövények gyökér- és hajtáshosszúsága, illetve friss- és száraztömege nem éri el a normál értékeket. Magok és csíranövények vizsgálatánál kiderült, hogy a mikroelemek közül a réz és a kadmium a sziklevélben, a cink és a magnézium az egész magban, a vas pedig a maghéjban halmozódik fel (SINGH *et al.*, 1996). A kadmium retardáló hatása miatt csökken az érett mag mennyisége is, ami annak tudható be, hogy a nehézfém felvétel következtében csökken a termés zsír-, fehérje- és szénhidrát-tartalma (MALAN és FARRANT, 1998).

A kadmium kezelés szacharóz felhalmozódást is eredményezhet és más egyéb olyan tüneteket, amelyek az öregedési folyamatok során figyelhetők meg. (SKORSINSKA *et al.*, 1991). Más vizsgálatok szerint a kadmium alkalmazása csökkenti a széndioxid megkötést és a szacharóz szintet a fotoszintézis során (SHEORAN *et al.*, 1991). Kadmium jelenlétében megnövekszik néhány aminosav mennyisége (pl. lizin és hidroxilizin), melyek felhalmozódása már egyéb növényi stressz esetében is megfigyelhető volt (COSTA és SPITZ, 1997).

A kadmium a növények általános anyagcseréjére és vízforgalmára is hat (SANITA DI TROPPI *et al.*, 1999). Kadmium stressz napraforgó növény relatív víztartalmának csökkenését okozta, illetve növelte az egységnyi felületre eső sztóma számot. A magas kadmium koncentráció jelentősen befolyásolja a növény vízállapotát oly módon, hogy a vízfelvétel gátolt, következésképpen a növény vízhiányos tüneteket mutat (COSTA és MOREL, 1994). Zöld bab növény normális vízellátottsága mellett 22 nM/l –es kadmiumos kezelés hatására a vízpotenciál csökkent és a levelek relatív víztartalma is jelentősen csökkent, illetve szignifikáns turgor veszteséget tapasztaltak (BARCELÓ *et al.*, 1996).

Kukorica esetében a megnövekedett kadmium koncentráció következtében módosult a gyökérszerkezet: az endodermisz lignintartalma megnőtt, a hipodermiszbe H-típusú lignin épült be. Mindez megnövelte a gyökér sejtfalak merevségét (DEGENHARDT és GIMMLER 2000; BARCELÓ *et al.*, 1996).

Kadmium stressz hatására a növényben védekező mechanizmusok lépnek működésbe a toxicitás kivédésére. Detoxifikációja során a kadmium főként a fehérjék kén és nitrogén tartalmú ligandumaival képez komplexeket, valamint cink és vas-tartalmú enzimek proszretikus csoportjaihoz kapcsolódva lehetetleníti el azok eredeti funkcióját (CATALDO és MCFADDEN, 1988; GREGER és BERTELL, 1992).

Kadmium mérgezést követően indukált génexpresszió aktiválja a fitokelatin szintáz enzimet és glutation alapú peptidok, a fitokelationok szintézise indul meg (GRILL *et al.*, 1985). A fitokelatinok, amely vegyületek fontos szerepet játszanak a nehézfémek megkötésében, komplexet képeznek a kadmiummal és egy  $Cd^{2+}/H^{+}$  antiport mechanizmuson keresztül a vakuólumba juttatják a kadmiumot (SALT és WAGNER, 1993). A fitokelatinok főleg glutamin, cisztein és glicin tartalmú összetett vegyületek, különböző komplexeket képeznek a kadmiummal oly módon, hogy a cisztein tiol csoportja kelátot képez a nehézfém-ionnal, így a kadmium ionok, mint szabad töltéshordozók nem tudják káros hatásukat kifejteni a citoplazmában (GRILL *et al.*, 1985).

Higanyal kezelt dohánynövények esetében jelenlétüket feltételezték már 1973-ban (ANELLI *et al.*, 1973), de csak 1985-ben GRILL *et al.*, izolálták először a fitokelatinokat.

A fentiekből látható, hogy a kadmium eljut a teljes növényi szervezetbe és különböző módokon képes felhalmozódni. A tolerancia mechanizmusok széles spektrumának köszönhetően a növények különböző mértékben, de relatíve sokáig képesek tolerálni a kadmium mérgezést szemmel látható tünetek nélkül. A hiperakkumulátor fajok, pl. a *Thlaspi caerulescens* L. átlagosan száraz tömegre vonatkoztatva 84,96 mg/kg (TERRY és BAÑUELOS, 2000) kadmiumot tud felvenni.



Humánbiológiai szempontból éppen ez a tény jelenti a veszélyforrást, hiszen, állati –emberi– szervezetbe jutva ugyanez a kadmium mennyiség már súlyos károsodásokhoz vezethet. A kadmium a májban marad és hosszú (10-30 év) felezési idejű, ami azt jelenti, hogy nagyon kis mennyiségű, de hosszan tartó kadmium terhelés az emberben felhalmozódva egészségkockázatot jelent (CLEMENS *et al.*, 2013). A szervezetbe jutó kadmiumnak általában csupán 5%-a jut a vérbe. (EFSA, 2009). Abban az esetben viszont, ha a szervezet vastartalma alacsony, a vérbe juttatható kadmium mennyisége többszöröse lehet (MCLAUGHLIN *et al.*, 1999).

### 2.1.2 A nikkell jellemzése és a növényekre gyakorolt hatása

A nikkell a földkéreg huszonkettedik leggyakoribb eleme, a természetben önállóan, vagy vas mellett fordul elő. A periódusos rendszerben a 28 számú elem, az atomtömege: 58,71 g. Hosszú ideig vitatott volt, de az újabb kutatások igazolták, hogy a nikkell a növények számára esszenciális nehézfém (DIXON *et al.*, 1975; BROWN *et al.*, 1987).

A természetben nagyobb mennyiségben főként az ultrabázikus vulkáni kőzetekben, kialakuló ún. szerpentin talajokban fordul elő (MEINDL *et al.*, 2014). A szerpentin talajokban a nikkell koncentrációja elérheti a 8000 ppm-et is. Az antropogén tevékenység (fémbányászat, fosszilis üzemanyag égése, járművek kipufogásai, háztartási hulladék, közüzemi- és ipari hulladék, szerves- és műtrágyázás) következtében is egyre nagyobb mértékű a környezet nikkellterhelése (BAKER és BROOKS, 1989; SEREGIN és KOZHEVNIKOVA, 2006), ezért egyre több tanulmány témája a nikkell fitoremediációja (BROOKS *et al.*, 1981; CHEN *et al.*, 2003; IORI *et al.*, 2013).

A nikkell növénybe jutása több tényező függvénye:

- a talaj, vagy a tápközeg kémhatása (KUKIER *et al.*, 2004),
- más ionok jelenléte (MCKENNA *et al.*, 1993; LUO és RIMMER, 1995; PODAR *et al.*, 2004),
- talaj szervesanyag tartalma (BURKE *et al.*, 2000; JEAN *et al.*, 2008).

A *Lathyrus sativus* L. esetén 5-ös pH-ig a nikkell felvétel folyamatosan emelkedett, a 8-as értéket elérve csökkenésnek indult (PANDA *et al.*, 2007). *Berkheya coddii* Ehrh. növényben a  $\text{Ca}^{2+}$  és  $\text{Mg}^{2+}$  ionok gátolták a nikkell felvételt (ROBINSON *et al.*, 1999).

A nikkell felvétele főként a gyökéren keresztül történik passzív és aktív transzportfolyamatok eredményeként (SEREGIN és KOZHEVNIKOVA, 2006), amelyeknek az aránya változhat növényfajonként (ASCHMANN és ZASOSKI, 2006), attól függően, hogy a nikkell milyen formában van jelen a talajban, vagy a tápközegben, illetve a rendelkezésre álló nikkell koncentrációjától. Például a vízdékony nikkell vegyületeket a kation transzport rendszeren

keresztül veszi fel a növény; mivel a réz és a cink kompetíciós gátlásban vannak a nikkellel szemben, ezért nagy valószínűséggel ez a három ion ugyanazon transzportcsatornákat használja (CATALDO *et al.*, 1978; KÖRNER *et al.*, 1987). Emellett a magnézium transzport rendszer is szerepet játszik a növény nikkellel felvétele során, a töltés/méret arányuk hasonlósága miatt (OLLER *et al.*, 1997).

A nikkellel szállítása a transpirációs áram segítségével, a xilémen át jut a gyökérből a levélbe, majd az osztódó, fiatal szöveti részekbe, rügyekbe, termésbe és a magba a retranzlokációs folyamatok révén, a floémen át történik (WELCH 1995; FISMES *et al.*, 2005; PAGE *et al.*, 2006). FISMES *et al.* (2005) vizsgálatai során levélen keresztül juttattak nikkelt salátába (*Lactuca sativa* L.), retekbe (*Raphanus sativus* L.) és babba (*Phaseolus vulgaris* L.). Eredményeik szerint - amelyek egybeestek korábbi munkák megállapításaival (NEUMANN és CHAMMEL, 1986)- a nikkellel egy igen mobilis elem a floémában (NEUMANN és CHAMMEL, 1986), mivel a mérgezés helyétől gyorsan eljutott növények más részeibe, főként a fejlődő részekbe.

A nikkellel, mint esszenciális nehézfém, a glioxaláz enzimekben, a peptid deformilázokban, az F430 porfirinvegyületben, a metil-Co M redukáz központi fématomja, illetve néhány szuperoxid dizmutázban, valamint hidrogenázokban is megtalálható.

Esszenciális mivoltát elsőként hüvelyesekben, az ureáz enzim alkotójaként bizonyították (DIXON *et al.*, 1975) és a nikkellel ezen enzim aktiválásában is szerepet játszik (TERRY és BAÑUELOS, 2000), illetve az emberi szervezet számára is esszenciális. Az ureáz enzim (EC 3.5.1.5, urea amidohidroláz) egy, a sejten belül a citoszólban található (MOBLEY és HAUSINGER, 1989) nikkellel-függő metalloenzim, ami az urea ammóniává és szén-dioxiddá történő hidrolízisét katalizálja (SIRKO és BRODZIK, 2000). Az ureázt minden növényi szövetben kimutatták (POLACCO és HOLAND, 1994), elsődleges feladata, hogy levetővé teszi az élő szervezet számára az urea (külső, vagy belső, metabolikus folyamatokból származó) felhasználását nitrogén előállítására (MOBLEY és HAUSINGER, 1989). A nikkellel esszenciális mivoltát szintén bizonyítja BROWN *et al.* (1987) tanulmánya, amelyben leírták, hogy elhanyagolhatóan alacsony (< 30 nanogram Ni/l) nikkellel tartalmú tápközegben nevelve az árpa csírázási képessége, a csíranövények vitalitása és az életképes magok száma is csökkent. Életképtelenek voltak azok a magok, amelyek nikkellelhiányosnak voltak tekinthetők, vagyis száraz tömegre vonatkoztatva kevesebb, mint 30 nanogram nikkellel tartalmaztak. Nikkellel visszapótlás esetén ezen szimptómák megszűntek és az árpa növények képessé váltak megélni a teljes életciklusukat.

A növényi szövetekben a toxicitás határértéke: 20-30 mg/kg száraz tömeg (FÖRSTNER, 1995). Néhány növényfaj hiperakkumulálja a nikkellel, úgymint az *Alyssum* fajok és a *Thlaspi* fajok (TERRY és BAÑUELOS, 2000).

A nikkelt  $\mu\text{M}$ -os koncentráció fölött (0,05-10  $\mu\text{g/g}$  száraz tömeg) mérgezést okoz a növényekben (NIEMINEN *et al.*, 2007), amely az alábbi tünetekben nyilvánul meg:

- kiszáradás (LLAMAS *et al.*, 2008; IORI *et al.*, 2013),
- fotoszintetikus aktivitás és sztóma konduktancia csökkenés (VELIKOVA *et al.*, 2011),
- levél klorózis (KHALID és TINSLEY, 1980; PICCINI és MALAVOLTA, 1992; ZORNOZA *et al.*, 1999),
- gyökernövekedés visszaesés (SAMANTARAY *et al.*, 1997; SEREGIN *et al.*, 2003).

A növényen belüli nikkelt kiválasztásnak nem minden részlete tisztázott, annyi azonban bizonyosnak látszik a hiperakkumuláló és a nem-hiperakkumuláló fajok felépítésének összehasonlításánál, hogy a levélsejtek vakuólumai a detoxifikáció fő helyszínei (KRÄMER *et al.*, 2000).

A különböző növényi szövetekben más és más vegyületek felelnek a nikkelt komplexálásért, de az főként szerves savak segítségével valósul meg (BROOKS *et al.*, 1981; TATÁR *et al.*, 2000; CHEN *et al.*, 2003; MONTARGÈS-PELLETIER *et al.*, 2008). A szerves savak egyrészt az oldhatóságot elősegítő protonforrással szolgálnak, másrészt, mint anionok részt vesznek a nikkelt kationok megkötésében, így a komplexálási folyamatokban (MONTARGÈS-PELLETIER *et al.*, 2008).

A hiperakkumuláló fajok nagyságrendileg  $\text{mg/kg}$  száraz anyag nehézfémeket tudnak felhalmozni. A növényi hiperakkumuláció élettani szempontból rendkívül érdekes és fontos téma, mivel a hiperakkumulátor fajok jelentős mértékben hozzájárulhatnak a talaj nehézfémektől való megtisztításához, viszont a zárvatermőknek csupán 0,2 %-át teszik ki és azok közül is sok alkalmatlan a valós felhasználásra, mivel túl kis biomasszát nevel (BAKER és BROOKS, 1989). Három hiperakkumuláló faj (*Alyssum murale* L., *Thlaspi caerulescens* L., *Leptoplax emarginata* Boiss.) röntgen abszorpciós spektroszkópiai vizsgálatai felfedték, hogy a nikkelt főként nikkelt-malát komplexek formájában tárolódik a levélben. Ezzel szemben az *Alyssum murale* L. és a *Leptoplax emarginata* Boiss.) szárában a citromsav komplexálja a nikkelt (MONTARGÈS-PELLETIER *et al.*, 2008).

A szerves savak mellett más ligandumok is részt vehetnek a nikkelt komplexálásában és a detoxifikációban:

- hisztidin (KRÄMER *et al.*, 1996),
- nikotinamid (MARI *et al.*, 2006; OUERDANE *et al.*, 2006; CALLAHAN *et al.*, 2007),
- szalicilsav (FREEMAN *et al.*, 2005).

Az utóbbi két alfajzetről kitűnik, hogy a kadmium és a nikkelt egyaránt olyan nehézfémek, amelyek jelentősen károsíthatják a növényi szervezetet, de a hatásmechanizmusuk módja

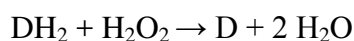
különböző. A különözöség alapvetően abból a tényből táplálkozik, hogy a kadmium egy nem esszenciális nehézfém, azaz bármilyen kis koncentrációban toxikus a növény számára, míg a nikkell pedig esszenciális, ezért a nikkell toxicitás csupán csak fémtöbblet esetén lép fel.

### **2.1.3 Nehézfém terhelés hatására indukált egyes védekezési mechanizmusok**

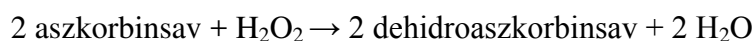
#### **2.1.3.1 Reaktív oxigén formák kialakulása nehézfém stressz következtében**

Számos stresszre a növények általánosan azzal válaszolnak, hogy megnő az aktív oxigén gyökök mennyisége a növény sejtjeiben. Reakcióképes oxigén gyökök állandóan keletkeznek a növényi sejtekben az anyagcsere folyamatok melléktermékeként függetlenül attól, hogy éri-e stresszhatás a növényt, vagy sem. A növényekben jól szervezett védekezési mechanizmusok léteznek a képződő oxigén gyökök semlegesítésére, ezért ha a növény egészséges, akkor az oxigén gyökök keletkezése és megkötése egyensúlyban van (ARORA *et al.*, 2002). A főbb antioxidáns vegyületek: a karotinoidok, az aszkorbinsav, a glutation és a tokoferol. A különböző antioxidáns enzimek: a szuperoxid diszmutáz (SOD), a gvajakol peroxidáz (POD), a kataláz (CAT), az aszkorbát peroxidáz (APX), a glutation reduktáz (GR) és a lipoxigenáz (LOX) (ELSTNER, 1988; GORA és CLIJSTERS, 1989; MEHLHORN *et al.*, 1995; DIPIERO *et al.*, 1997).

A peroxidázok (EC 1.11.1.7.) valamennyi élőlényben előforduló glükoproteinek, proszтетikus csoportjuk a protohem és az alábbi reakciót katalizálják:



ahol  $DH_2$  az elektrondonor. Az enzimek *in vivo* szerepe nem teljesen tisztázott, feltehetően az anyagcsere vagy stressz során keletkező hidrogén - peroxid bontását katalizálja. A növényi peroxidázok a polifenolok oxidálásával szerepet játszanak a betegséggel szembeni ellenállás kialakulásában (CSEKE és VÁMOSNÉ-VIGYÁZÓ, 1991). Szubsztrát specifikusságuk széleskörű *in vitro* aktivitás-mérésekhez legelterjedtebben a gvajakolt használják, ezért másik elnevezésük a gvajakol-peroxidáz. A POD-ok a sejt falban, a citoszólban, a vakuólumban és az apoplastban egyaránt megtalálhatók, de a mitokondriumban, illetve a kloroplastisban nem. Ezzel szemben az aszkorbinsav peroxidáz (EC 1.11.1.11.) növényekre és algákra jellemző, a sejtszervecskékben: a kloroplastisban, a mitokondriumban, a glioxiszómákban, a peroxiszómákban és a citoplazmában (ARORA *et al.*, 2002) protohem proszтетikus csoportot tartalmazó enzim, amely az alábbi reakciót katalizálja:



Az enzimek jellemzően az aszkorbinsav az elektrondonorja és az aszkorbát-glutation ciklus első enzimeként a hidrogén-peroxidot semlegesíti (ASADA, 1992).

A legtöbb stresszfaktor, például a magas vagy az alacsony hőmérséklet, a hosszantartó szárazság vagy elárasztás, a nehézfém ionok és más káros vegyületek hatására, a növényi sejtek fiziológiai egyensúlya megbomlik, főként az enzimek reakciói jellegének és aktivitásának befolyásolásával. Az élő sejtek védekező mechanizmusai közül könnyen mérhető az antioxidatív enzimek aktivitásnövekedése. A stimulációt későbbi aktivitás csökkenés követheti, ha a nehézfém ionok mennyisége magasabb a növény tűrés határánál. (ITURBE-ORMAETXE *et al.*, 1998). LEE *et al.* (1977) kutatásaiban kadmium hatása következtében a POD aktivitása emelkedett szója csíranövényekben. Nagy mennyiségű cinkkel és rézzel kezelt bab növényben öregedési folyamatokat figyeltek meg, amely folyamatok velejárója a POD és a LOX enzimek aktivitásának emelkedése (GORA és CLIJSTERS, 1989). GALLEGO *et al.* (1996) kísérleteiben vas és kadmium terheléskor, 0,5 mM koncentrációnál aktivitás csökkenést tapasztaltak az összes antioxidatív enzim esetében. Ennek a csökkenésnek az okát az enzimek károsodására vezették vissza, melyet oxidatívnak feltételeztek, mivel a nehézfémek serkentik a reaktív oxigénformák képződését. Az enzimgátlás másik oka lehet, hogy a nehézfémek az enzimek szulfhidril csoportjaihoz közvetlenül kötődnek, így az enzimszerkezet megbontását, azok aktivitásának csökkenését vagy elvesztését eredményezik (PADMAJA *et al.*, 1990).

### **2.1.3.2 A nehézfémek detoxifikációja szerves savak segítségével**

A szerves savak elterjedtek az élő szervezetekben, de a növényekben kiemelkedően nagy mennyiségben fordulnak elő. Ennek oka, hogy sok ponton kapcsolódnak a különböző növényi anyagcsere utakhoz. A légzési folyamatok kapcsán kiemelt szerepük van a növényi szervezet energiaellátásában, az aminosav bioszintézisben, a zsírsav bioszintézisben és oxidációban, a glioxálsav ciklusban, a szénhidrát bioszintézisben (POPOVA és PINHEIRO de CAVALHO, 1998), illetve a fotoszintézis intermedierei (LOPEZ-BUCIO *et al.*, 2000).

A növényekben található szerves savak mennyisége fajonként, fajtánként, de még szövetenként is különböző, illetve környezeti stresszhatások eredményeként jelentősen megnőhet (LOPEZ-BUCIO *et al.*, 2000), valamint diurnálisan is változhat. *Ricinus communis* L. xilém nedvében figyelte meg SCHURR és SCHULZE (1995) a borostyánkősav, a citromsav és a fumársav mennyiségének diurnális változásait, illetve LOPEZ-BUCIO *et al.* (2000) *Lagerstroemia indica* L. növények szerves sav tartalom mérése során megállapították, hogy a diurnális maximumuk éjjel van.

A szerves savak a növényekre ható fémekkel is kölcsönhatásban állnak, és mivel biológiailag lebomló anyagokról van szó, környezetkárosító mellékhatás nélkül alkalmazhatók a kelátokhoz-

kötött nehézfém fitoextrakciós folyamatokban (KHRISNAMURTI *et al.*, 1997). A gyökér szerves sav kiválasztás révén csökkenti a gyökér környéki talaj kémhatását, így növelve meg az esszenciális, vagy éppen toxikus nehézfémek oldhatóságát (CHEN *et al.*, 2003), mivel a fémek alacsony kémhatáson jobban oldódnak. A nehézfém toxicitás ezután a termesztett növények alacsonyabb terméshozamában nyilvánulhat meg (MOSSOR-PIETRASZEWSKA, 2001).

CIEŚLIŃSKI *et al.* (1998) kadmiummal kezelt durumbúzánál tapasztalták, hogy a búza rhizoszférájának a szerves sav mennyisége egyenes arányban állt az alkalmazott koncentrációval. A szerves savak kelátképző hatékonysága a következő sorrendet mutatja: citromsav > almasav > ecetsav (GAO *et al.*, 2003). A nehézfémek detoxifikálásában jelentős szerepe van a fitokelatinoknak, amelyek komplexálják és a vakuólumba szállítják a károsító fémionokat, de, különösen hiperakkumuláló fajok esetén nem kizárólag a fitokelatinok felelősek a tolerancia mechanizmusok kialakításában (EBBS *et al.*, 2002).

A szerves sav - fém interakció másik formája a növényekben a fém transzport és detoxifikáció, amely folyamatok főként a citromsav és az almasav közreműködésével zajlanak (BROOKS *et al.*, 1981, TATÁR *et al.*, 2000).

Reteknél figyelték meg, hogy a citromsav csökkenti a kadmium mérgezést oly módon, hogy kelátképzéssel kevésbé toxikus formává alakul, ami elősegíti a fém eljutását a gyökérből a levélbe (CHEN *et al.*, 2003).

HAN *et al.* (2009) izolálták a citrát szintáz enzimet kódoló gént, a OsCS1-et, ami rizsben alumínium mérgezés hatására indukálódik. Ezt a gént azután átvitték több egymástól különböző transzgenikus dohányvonalakba, majd expresszáltatva azt tapasztalták, hogy megemelkedett a citrát efflux, ami elősegítette a fokozottabb alumínium toleranciát.

## **2.2 Az elárasztás növényekre gyakorolt hatása**

A számos környezeti stresszhatásból kiemelkedik az elárasztás stressz, mivel a klímaváltozás egyik lehetséges kimeneteleként nagy valószínűséggel jelentős mennyiségű, az ember által lakott és művelt földterület kerülhet a közeljövőben víz alá, vagy válhat időszakosan elárasztottá (CHEN és ZONG, 1999), amelynek a növényekre nézve káros következményei vannak. Az első és legfontosabb probléma az elárasztás esetében az, hogy a talajból kiszorul az oxigén, ami pedig a szárazföldi növények normális gyökérműködésének elengedhetetlen feltétele. Oxigénhiányos környezetben a növény nem képes a tápanyagok felvételére és továbbítására, amely a hajtásokban és a levelekben ion- és tápanyaghiányt okoz (TUBA, 1996).

Egyéb stresszhatások mellett az oxigénhiány egyik legelső következménye szintén az oxigén szabadgyökök mennyiségének emelkedése a növényi szövetekben (BLOKHINA *et al.*, 2003), ami maga után vonja az oxidatív enzimek aktivitásának változását is. Oxigénhiány esetén a

vakuólumból egyre több proton kerül a citoplazmába, amely növeli a citoplazma savasságát, és ez végül az alapvető életfolyamatok leállításához vezethet (TUBA, 1996). Négy napos zöldborsó növény elárasztásakor a gyökérnövekedés lelassult, de a növény növekedése és fejlődése nem állt le. Ezt a lelassult növekedést az okozta, hogy az elárasztást követően a gyökérben a mitotikus sejtosztódás rövid időn belül jelentősen csökkent, ám később a merisztéma mitotikus funkciója újra aktivizálódott, így a zöldborsó növény növekedése az elárasztás hatására nem állt le (NIKI és GLADISH, 2001).

Az elárasztás kártékony hatásának kiküszöbölésére a növényekben adaptációs stratégiák alakultak ki. Az elárasztást tűrő, illetve a mocsári, vízparti növények gyökerében levegővel telített üregecskék, úgynevezett aerenchimák alakultak ki, melyek a növény segítségére vannak az elárasztás okozta oxigénhiány semlegesítésében (JUSTIN *et al.*, 1987). Az aerenchimák az elárasztásra toleráns növényekben eredendően megtalálhatók, de azokban a növényekben, amelyek életében az elárasztás nem természetes jelenség, egy az aerenchimához hasonló képződmény alakul ki hirtelen elárasztás hatására. A gyökér szállítószövetének központi zónájában a sejtek elhalnak és úgynevezett lizigén szállítószöveti üreg alakul ki. Négy napos zöldborsó növények hirtelen elárasztásakor az üregek kialakulása már huszonnégy órán belül elkezdődik a gyökerekben. Ezekben a gyökerekben normál körülmények között nem alakulnak ki a szállítószöveti üregek. Elárasztott szövetekben az aerenchima fejlődés összefügg a cellulázok megnövekedett aktivitásával, mivel mindkét jelenséget az etilén szabályozza. (NIKI és GLADISH, 2001).

Az elárasztás után újralevegőztetett talajokon megfigyelték, hogy a OsIRT2 és OsNramp1 fehérjék kifejezetten segítik a kadmium felvételét (NAKANISHI *et al.*, 2006; TAKAHASHI *et al.*, 2011), tehát ez is jelzi, hogy az elárasztott körülmények között jelen lévő kadmium felvételét jó levegőztettség esetén speciális proteinek segítik.

## 2.3 A váltakozó áramú impedancia fogalma és alkalmazási területei az élettudományokban

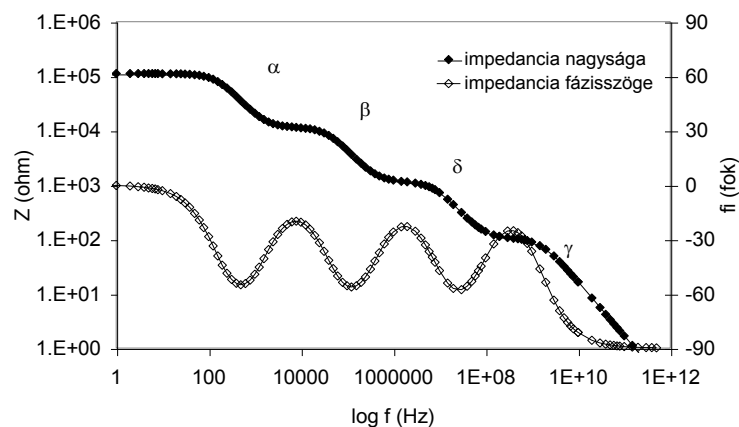
### 2.3.1 A váltakozó áramú impedancia fogalma, biológiai szövetek impedanciája

Ha egy anyagra adott frekvenciájú szinuszosan változó feszültséget kapcsolunk, akkor az anyagon keresztül folyó áram is szinuszosan változó lesz, és a frekvenciája megegyezik a feszültség frekvenciájával. Ha az anyagnak csak ohmos ellenállása van, nincsen induktivitása és kapacitása, akkor a feszültség és az áram fázisa ugyanaz. Amennyiben az anyag induktív jellegű, akkor az áram késik a feszültséghez képest, ha az anyag polarizálódik az elektromos térben, azaz elektromos kapacitása van, akkor az áram siet a feszültséghez képest. A szinuszos feszültség és a szinuszos áram hányadosa definíció szerint a váltakozó áramú impedancia. A váltakozó áramú impedancia a frekvencia függvényében adja az elektromos impedancia spektrumot (EIS). Az elektromos impedancia mérésével, értelmezésével, modellezésével az elektromos impedancia spektroszkópia foglalkozik (GRIMNES és MARTINSEN, 2000).

A növényi szövetekben az elektromos vezetőképesség az ionok jelenlétének tulajdonítható. A sejtek közötti állomány, az apoplazma, és a sejteken belüli állomány, a szimplazma főleg ohmos ellenállással rendelkezik (PETHING és KHELL 1987). A sejtmembrán az elektromos térben polarizálódik, és kapacitásként viselkedik (PETHING és KHELL; 1987, KUANG és NELSON, 1998). A növényi szövetek elektromos tulajdonságait tehát a sejtalkotók, illetve azok szerkezete határozza meg, amely azt is előrevetíti, hogy amennyiben két szöveti szerkezet eltér egymástól, akkor ez az eltérés az impedancia spektrumokban is megmutatkozik majd. A biológiai szövetek elektromos impedanciája egy komplex érték, mely egy valós és egy képzetes részből tevődik össze, amelyeket a szövet különböző alkotórészeinek ellenállása és kapacitása határozza meg (KUANG és NELSON; 1998; DEAN *et al.*; 2008). A sejtmembrán elektromos szempontból úgy viselkedik, mint egy kondenzátor viszonylag nagy átvezetési ellenállással, amelynek a kapacitása függ a frekvenciától (HAYDEN *et al.*, 1968). Alacsony frekvenciánál,  $f \leq 1000\text{Hz}$ , az áram főleg a sejtek között, az apoplazmában halad, és a sejt membrán nagy kapacitása miatt nem tud a membránon áthatolni és a sejtek belsejében, a szimplazmában haladni. A frekvencia növelésével a membrán kapacitása csökken és magas frekvenciákon,  $f \geq 10^5 - 10^6\text{Hz}$ , a membrán ellenállás gyakorlatilag nullává válik és az áram két egymással párhuzamos úton halad egyrészt a sejtek között, másrészt a sejteken belül, amely alacsony eredő ellenállást eredményez (PETHING és KHELL, 1987; KUANG és NELSON, 1998; GRIMNES és MARTINSEN, 2000). Az élő szövetben az impedancia spektrum 1 Hz frekvenciától  $10^{12}$  Hz frekvenciáig négy sávot tartalmaz: az  $\alpha$  sáv létrehozásában szerepet játszanak a membrán felületén az ellenionok, az aktív membránhatások, az ion csatornák és az ionok diffúziója. A  $\beta$  sávot a passzív membrán



kapacitás, illetve a sejtek közötti és sejten belüli állományok polarizációs és vezetési mechanizmusai hozhatják létre. A  $\gamma$  sáv elsősorban a kötött és szabad víz polarizációja miatt alakul ki. A  $\delta$  sávot a sejt szervek, pl. a mitokondriumok, illetve a makromelekulák polarizációja okozhatja.



**1. ábra. Az élő szövet jellegzetes impedancia spektruma a frekvencia függvényében (Grimnes, Martinsen, 2000, nyomán).**

Látható, hogy az élő szövet impedancia nagysága a frekvencia növelésével csökken, a fázisszög periodikus változást mutat (1. ábra). Az impedancia nagyságának csökkenése azt szemlélteti, hogy bizonyos szöveti alkotórészek már nem képesek polarizációval követni az elektromos tér változását a magas frekvencia miatt. Az  $\alpha$  sávot az okozza, hogy az egyes ionmozgások már nem képesek olyan gyors helyváltoztató mozgásra, amelyet a növekvő frekvencia igényelne. A  $\beta$  sáv azt szemlélteti, hogy a membránok már nem tudnak olyan gyorsan polarizálódni, ahogy a frekvencia megkövetelné. Ha például a sejt membrán már nem teljesen ép, akkor a csökkenés mértéke sokkal kisebb, ezért az impedancia spektrum felvilágosítást adhat a szövetben a membránok integritásáról is. A  $\delta$  sáv a makromolekulák polarizációjának megszűnését jelenti. A  $\gamma$  sáv a víz molekulák polarizációjának leállása miatt jelenik meg a nagyon magas frekvenciánál (PETHING és KHELL, 1987; KUANG és NELSON, 1998; GRIMNES és MARTINSEN, 2000; MARTINSEN *et al.*, 2002; DEAN *et al.*, 2008). Általában a szimplazma ellenállása egy nagyságrenddel kisebb, mint az apoplazma ellenállása, illetve a membrán ellenállása, pedig kb. egy nagyságrenddel nagyobb, mint az apoplazma ellenállása (GRIMNES és MARTINSEN, 2000).

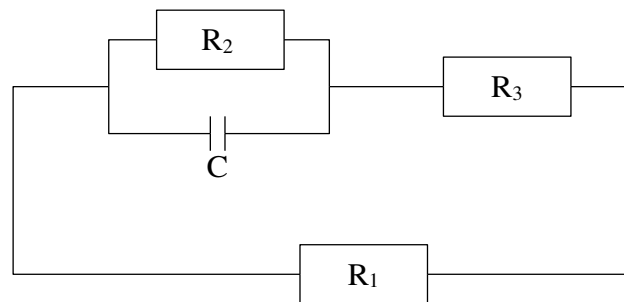
### 2.3.2 Növények váltakozó áramú impedanciáját közelítő modellek

A növényi szövetek impedanciáját csak az utóbbi időben kezdték részletesen vizsgálni. A mért impedancia spektrumok értelmezésére többféle elektromos modellt fejlesztettek ki (GRIMNES

és MARTINSEN, 2000). A növényi szövetek impedanciáját 10 Hz - 1 MHz frekvencia tartományban (a  $\beta$  sávban) lényegében három tényező határozza meg:

- a sejten belüli állomány ellenállása,
- a sejtek közötti állomány ellenállása és
- a sejtmembrán impedanciája.

A növényi szövetek impedancia spektrumát többféle modellel próbálták értelmezni. A mért impedancia értékekre különböző modell függvényeket illesztnek, amelyek megadják a modell paramétereit. Az illesztésre a komplexszámokra kidolgozott legkisebb négyzetek módszerét használják (MACDONALD, 1992). Az első próbálkozások között szerepel a *Hayden-modell* (HAYDEN *et al.*, 1968). Ez a modell tartalmazza a sejtfa ellenállását ( $R_1$ ), a sejtmembrán ellenállását ( $R_2$ ), a citoplazma ellenállását ( $R_3$ ) és a sejtmembrán kapacitását ( $C$ ).



Az eredő impedancia:

$$Z = \frac{R_1 R_2 R_3 - jX R_1 (R_2 + R_3)}{R_3 (R_1 + R_2) - jX (R_1 + R_2 + R_3)}$$

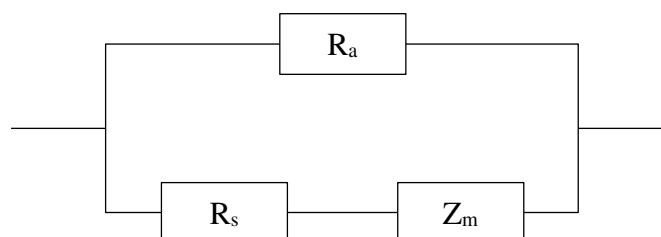
ahol  $X = \frac{1}{C\omega}$  a membrán kapacitás impedanciája és  $C$  a sejtmembrán kapacitása,  $\omega = 2\pi f$  a körfrekvencia,  $f$  a mérő frekvencia és  $j = \sqrt{-1}$  a képzetes egység.

Ha  $R_2 \gg R_3, R_1$ , akkor

$$Z = \frac{R_1^2 R_3 + X^2 R_1 - jX R_1 (R_1 - R_3)}{R_1^2 + X^2}$$

Ha a mérőfrekvencia alacsony, illetve  $\omega \rightarrow 0$ , akkor  $Z = R_1$  és ha a frekvencia nagy, azaz  $\omega \rightarrow \infty$ , akkor  $Z = R_3$ .

Egy továbbfejlesztett modell a *módosított Hayden-modell* (TOYODA és TSENKOVA 1998), amelyik figyelembe veszi, hogy a sejtmembrán impedanciája függ a frekvenciától:



Ennek az eredő impedanciája:

$$Z = \frac{1}{1/R_a + 1/(R_s + Z_m)}$$

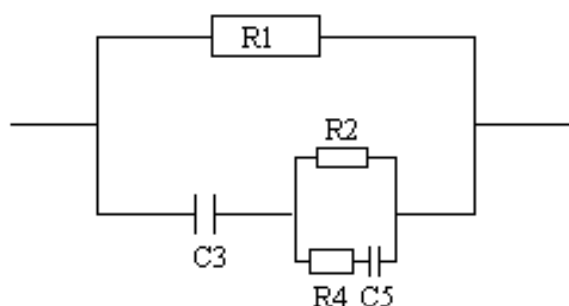
amely tartalmazza az extracelluláris tér, vagy az apoplazma ellenállását ( $R_a$ ), az intracelluláris tér vagy szimplazma ellenállását ( $R_s$ ) és a sejtmembrán impedanciáját ( $Z_m$ ) konstans  $\varphi$  fázisszöggel.

A  $Z_m$  értékét a következő módon lehet kifejezni:

$$Z_m = (\cos \varphi + j \sin \varphi) / C_m \omega$$

Ahol  $j = \sqrt{-1}$ ,  $\omega = 2\pi f$ , ahol  $f$  a mérő feszültség frekvenciája és  $C_m$  a sejtmembrán kapacitása.

Az úgynevezett *kettős héj modell* külön figyelembe veszi a citoplazmában levő vakuólum ellenállását és a vakuólumot körülvevő membrán kapacitását (ZHANG és WILLISON, 1991):



$R_1$  a sejtfal illetve a sejtek közötti állomány ellenállása,  $R_2$  a citoplazma, illetve a sejten belüli állomány ellenállása,  $C_3$  a sejtmembrán kapacitása,  $R_4$  a vakuólum ellenállása és a  $C_5$  a vakuólumot körülvevő membrán kapacitása.

A fenti modellekben az egyes szöveti alkotórészek ohmos ellenállása, illetve kapacitása felel meg a modell egyes elemeinek. Így a modell paraméterek közvetlenül az egyes szöveti alkotórészekre jellemző értéket adja, ez lehetővé teszi a különböző szerkezeti változások követését is. A mért impedancia spektrumok általában nem csak a szövet spektrumát tartalmazzák, hanem az elektródok illetve az elektródok között a sérült szövetrészek impedanciáját is, mivel a méréshez használt elektródok általában tű- vagy síkelektrodok, amelyek a szövetbe szúrva a sejtek felszakadását okozzák (ZHANG és WILLISON, 1991, 1992). Az elektródok impedanciája általában az 1000 Hz-nél alacsonyabb frekvencia tartományban jelenik meg. Az elektród impedanciát számítással is figyelembe lehet venni (ZHANG és WILLISON, 1991, 1992).

### 2.3.3 Váltakozó áramú impedancia spektroszkópia alkalmazása növényi szövetekben

#### 2.3.3.1 Gyökér növekedés becslés és terményminőség vizsgálat

A gyökér növekedés jellemzésének alaphipotézise az volt, hogy a gyökér/talaj rendszer kapacitása nő a gyökér felület növekedésével, így mérhetővé válik a gyökér fejlődése (CAO *et al.*, 2011). A gyökér növekedés *in situ* analízise sok metodológiai nehézséget vet fel, ezért fontos

egy egyszerű, roncsolásmentes mérési módszer kidolgozása. Rajkai *et al.* (2005) 30 Hz - 1 MHz frekvencia tartományban mérték az impedanciát a talajban, illetve a gyökér és a szár találkozási között, olyan elektródákkal, amelyek vezető gél és egy csipesz segítségével érintkeztek a növényi szövettel. Megállapították, hogy a kapacitás-változás összefüggött a gyökér tömegével és hosszúságával. Ezen módszer hiányossága, hogy az elektróda nem érintkezik közvetlenül a szállítószöveti folyadékkal, ezért REPO *et al.* (2005) inkább vízkultúrák kísérleti beállítást alkalmaztak és megállapították, hogy az osztott paraméterű modellben az ellenállások összege csökkent a gyökér tömegének növekedésével (REPO *et al.*, 2005).

Az impedancia paraméterek alkalmasak a gyümölcserés folyamatának követésére is. HARKER és MAINDONALD (1994), EIS segítségével jellemezték a nektarin (*Prunus persica* L. Batsch cv. Fantasia) érése során bekövetkező sejten belüli és sejten kívüli ellenállás változásokat és jelentős sejtfal ellenállás csökkenést (7181-ről 3342 Ohm-ra) állapítottak meg, ami összefüggésben állt a gyümölcs sejtfalában található mobilis ionok mennyiségi növekedésével, a sejtfal degradációval és az elektromos töltés kiáramlással. VOZÁRY *et al.*, (1999) alma érését és tárolást vizsgálták és megállapították, hogy a szimplazmás ellenállás nem változik a sejtmembrán degradációból adódó sejten kívüli ellenállás jelentősen csökken. Nektarin (HARKER és MAINDONALD, 1994) és királydinnye (SUGIYAMA *et al.*, 1989) érése során is csökkent a sejtek közötti állomány ellenállása, valószínűleg a sejtmembrán fluiditásának növekedése miatt. LIN *et al.*, (2012) kidolgoztak egy gyors, hordozható impedancia mérésre alkalmas rendszert, amit sárgarépa gyökerre alkalmaztak. A spektrum jellege megegyezett korábbi mérések eredményeivel (ZHANG és WILLISON, 1992). PARK *et al.*, (2013) zöldségek (sárgarépa, burgonya és retek) nyomás hatására előidézett szerkezeti változását detektálták elektromos vezetőképesség mérésekkel. FILGUEIRAS *et al.*, (2002) megállapították, hogy az egy adott ion-összetételű közegre specifikus lineáris kapcsolat írja le az ionösszetétel és az elektromos vezetőképesség közötti összefüggést. Mindezen információk alapján DOMINGUES *et al.*, (2012) kifejlesztettek egy tápanyag-ellátottságot figyelő rendszert vízkultúrán nevelt salátára.

### **2.3.3.2 Az EIS alkalmazásai a növényi stresszvizsgálatokban-abiotikus és biotikus stressz detektálás**

A növényt érő stresszhatások és azok következményeinek vizsgálata már néhány évtizede a növényélettan egyik fontos kérdésköre. A növényélettan kutatói számára számos eszköz áll rendelkezésre a környezeti stresszhatások detektálására. A klasszikus növényi stressz kutatás igen pontos módszerekkel dolgozik a növény egészségi állapotának felderítése során. Ezek legtöbbször a növényi szövet roncsolásával, illetve valamilyen szintű preparálásával jár, úgymint:

klorofill tartalom mérése (ARNON, 1949), fehérje koncentráció mérése, stressz-indukált enzimaktivitás változása mérése (JÓCSÁK *et al.*, 2009).

Az összes eddig felsorolt módszer a növény roncsolásával jár így nem lehet ugyanazon az egyedén elvégzett több méréssel nyomon követni a stresszhatások evolúciójának fázisait, úgymint a választ, a tolerancia fázisát és végül vagy a letális, vagy a regenerációs időszakot (TUBA, 1996). Ez a tény hibaforrásokat visz be a kísérleti rendszerbe. Emellett fontos növényélettani vizsgálati kritérium, hogy a mérés lehetőleg roncsolásmentes legyen, szintén a hibalehetőségek csökkentése végett. A roncsolásmentes növényi stressz detektálási módszerek jórészt a fotoszintetikus apparátus változásainak méréséhez kötődnek, úgymint klorofill-tartalom mérés, SPAD indexszel, fotoszintetikus aktivitás mérése, sztóma konduktancia, transpiráció mérés, klorofill fluoreszcencia-indukció mérés. Ez utóbbi mérés például használható információt szolgáltat a növény általános állapotáról, de egyes hátrányos tulajdonságai fölött nem lehet szemet hunyni: csupán egyes levél pontok állapotát jellemzi (TUBA, 1996), ami kérdésessé teszi az egész növényre vonatkoztatott megállapításokat. Ezt a hátrányt később a fluoreszcenciás képalkotás (TUBA *et al.*, 2000) kiküszöbölte, de továbbra is nagy szükség van új, főként *in situ* vizsgálatokat lehetővé tevő mérési protokollok kidolgozása, különös tekintettel a korai fejlettségi stádiumú csíranövényekre. Ahhoz, hogy impedancia mérésekkel a növényi szövetekben különböző környezeti hatásokra létrejövő szerkezeti és működési változásokat követni tudjuk, ismerni kell normális viszonyok mellett ezeket a spektrumokat, illetve a közelítő modell paramétereit. HAYDEN *et al.* (1968), ZHANG és WILLISON (1992) és TOYODA és TSENKOVA (1998) burgonya és sárgarépa impedancia jellemzőit határozták meg normál körülmények között. A káposztalevél impedancia paramétereit szintén ZHANG és WILLISON (1993) mérték ki egy speciális hengerszimmetrikus elektród elrendezéssel.

Az impedancia méréseket először a hőstressz esetében alkalmazták, mivel az élelmiszeripar minőségjelző vizsgálatokat igényelt zöldségek és gyümölcsök tárolása során. Megfigyelték, hogy burgonya és alma hűvetárolása során a hőmérséklet csökkenésével, azaz a hűtés hatására a sejtek közötti állomány és a sejteken belüli állomány ellenállása megnövekszik mind a burgonyagumó (HAYDEN *et al.*, 1968), mind az alma átermés szöveiben (TOYODA és TSENKOVA, 1998). Az impedancia méréseket sikeresen alkalmazzák a tartósítási folyamatok vizsgálatánál is, pl. almaszeletek fagyasztásánál (TOYODA és TSENKOVA, 1998).

Szárítási folyamatokban a hőmérséklet emelésének hatására mind a sejtek közötti állomány, mind a sejteken belüli állomány ellenállása lecsökken (TOYODA *et al.*, 1994). Korábbi mérések során megfigyelték, hogy az almaszeletek szárításánál a sejten belüli állomány ellenállása alig változik, amíg a minta nedvességtartalma 30 % fölött van, és elkezd növekedni, amikor a nedvességtartalom ezen érték alá csökken. A sejtek közötti állomány ellenállása viszont kicsit

növekszik, amíg a minta nedvességtartalma 30 %-ra nem csökken, majd jelentősen csökken a nedvességtartalom további csökkenésével. Mindkét ellenállás értéke nagyságrendekkel megnő, amikor a nedvességtartalom 5-10 %-ra csökken (VOZÁRY *et al.*, 1999).

A fagyűrés egy komplex folyamat, amely fiziológiai, fizikokémiai és kémiai változások által teszi lehetővé a növény számára a faggyal szembeni toleranciát. Hidegben megnő a telítetlen zsírsavak aránya, amely folyamat lehetővé teszi a membrán átjárhatóságát, permeabilitást még alacsony hőmérsékleten is. A fagyűrés másik fontos feltétele a poláros lipidek, azaz a foszfolipidek mennyiségi növekedése, valamint a citoplazma állapotának változása (HIETALA *et al.*, 1998). A váltakozó áramú impedancia mérések alkalmasak a fagyűrés vizsgálatára (REPO *et al.*, 1994; HIETALA *et al.*, 1998) különböző növényfajokon úgymint, pl. kosárfűz (*Salix viminalis*) (REPO *et al.*, 1997), erdei fenyő (*Pinus sylvestris* L.) (REPO *et al.*, 1994), és nyírfa (*Betula pendula*) (LUORANEN *et al.*, 2004). WU *et al.*, (2008) megállapították, hogy padlizsán esetén a fagyasztás és felengedés után a mért impedancia spektrumok teljesen elveszítették eredeti (a friss zöldségre jellemző) jellegüket és a mérőfrekvenciától függetlenné váltak. Ez arra utal, hogy sejtmembránok súlyosan károsodtak a fagyasztás során, és a sejt közötti állomány keveredett a sejten belüli állománnyal. REPO *et al.* (1994) kimutatták, hogy a sejten belüli ellenállás korrelációban áll a fűz (*Salix viminalis*), lucerna (*Medicago sativa* L.) és szarvaskerep (*Lotus corniculatus* L.) fagyűrési képességeivel, különösen az alkalmazkodás kezdeti fázisában. Ez a korreláció a szövetek víztartalmának csökkenésén alapul (SUTINEN *et al.*, 1992), amely csökkenti az ion mobilitást. VÄINÖLÄ és REPO, (2000) két azálea fajt vizsgált: az első egy kisebb levelű vékonyabb kutikulájú, több szivacsos paerenchima szövetet és apoplazmikus teret tartalmazó faj, illetve egy nagyobb levelű vastagabb kutikulájú és több paliszád parenchimat tartalmazó faj. Mindezen szöveti szerkezeti különbségeket az elektromos impedancia mérésekkel is detektálni tudták, bár a hidegtűrési képesség csak a kislevelű fajoknál mutatott korrelációt az impedancia paraméterekkel (VÄINÖLÄ és REPO, 2000). A "Kettős héj modell" alapján végzett számítások szerint a 6 hétig hidegben tartott növényekben a sejtek közötti állomány ellenállása megnő és a sejtmembrán kapacitása lecsökken (ZHANG *et al.*, 1993). Váltakozó áramú impedancia paraméterek alkalmasak a növények tápanyagellátottságának becslésére is: foszforhiány esetén az ellenállások értéke jobban növekszik, mint kalciumhiánynál (GREENHAM *et al.*, 1972). Erősebb radioaktív besugárzást követő sérülés is kimutatható az impedancia paraméterek segítségével. FELFÖLDI *et al.*, (1993) megfigyelték, hogy az 50 kHz-nél és az 5 kHz-nél mért impedanciák nagyságának aránya növekszik a besugárzási dózis emelkedésével.

Váltakozó áramú impedancia méréssel kimutathatók és nyomon követhetők mikorrhizás fertőzés és hidegkezelés által kiváltott, a gyökérrendszerben bekövetkezett olyan változások is, amelyek

más nem-invazív technikával nem lennének kimutathatók, például a gyökér-talaj kapcsolat mértéke mikorrhizás kezelést követően (REPO *et al.*, 2014).

BAZIHIZINA *et al* (2015) egy nikkelt akkumuláló faj, a *Psidium guajava* L., fiziológiai reakcióit tanulmányozták magas nikkell koncentráció mellett. Impedancia méréseket végeztek, majd Ra és Rs értékeket határoztak meg. Eredményeikben a sejten belüli ellenállás értékek nem szignifikánsan ugyan, de növekedtek a nikkellel kezelt növényekben. A diszkusszió nem tartalmazta a tapasztalt ellenállás változások fiziológiai hátterének értelmezését, az apoplazmás változásokat a sejtközötti állomány iontartalom növekedésének tulajdonították.

A biotikus stresszhatásokat egyedül vírusfertőzések esetén vizsgálták impedanciával. GREENHAM *et al.*, (1978) a paradicsom mozaik vírus lokális nekrotikus hatásait vizsgálta *Nicotiana glutinosa* L. növényeken. A vírusfertőzések által okozott élettani változások nyomon követhetők voltak a váltakozó áramú impedancia méréssel.

### **2.3.3.3 Növényi vízállapot jellemzése váltakozó áramú impedancia méréssel**

Az alacsony frekvencia tartományban az áram nem jut be a sejtekbe, hanem a sejtközötti állományon fut keresztül, így a mért értékek a növény vízállapotának szolgáltatnak információt (ZHENG *et al.*, 2014). GIL *et al.*, (2008) avokádó növény vizsgálata során megállapították, hogy a környezet vízállapotának változására a növény gyorsabban reagál sztómaválasszal, mint ahogy az, az abszcizinsav transzport alapján várható lenne. A gyökér és a hajtás sejtközötti állomány feszültség különbségeit mérték a szár alapi része és a levélnyel között és megállapították, hogy a feszültség változások összefüggésben állnak a sztómakonduktancia változásokkal, így valószínűsítették, hogy ennek része lehet a gyökér-hajtás kommunikációban.

## **2.4 Célkitűzés**

Az általam tanulmányozott kutatások eredményeiből kitűnik, hogy számos munka született a kadmium és a nikkell hatásainak vizsgálatára, azonban nem találtam olyan tanulmányt, amelyben ezen két nehézfém hatásait vizsgálták volna egymással összehasonlítva a stressz hatás kialakulásának korai szakaszában, szerves savak bevonásával és mindezt a gyökéren és a levélen is, mivel általában a vizsgálatok egy növényi szervre korlátozódnak.

Ezért munkám során célul tűztem ki a kadmium és nikkell - mint nem eszenciális és eszenciális nehézfémek - a metabolizmusra és egyes, a stressz elleni védelmet szolgáló mechanizmusok kialakulására gyakorolt hatásának tanulmányozását a stresszélettanban általánosan használatos paraméterek meghatározásával. Mindezt árpa csíranövényeken, ami a növényélettani kutatások gyakori tesztnövénye, illetve mezőgazdaságilag is jelentős termesztett faj. A vizsgálatok során célszerűen a növényi stresszélettan kutatásban általánosan elfogadott módszerek használatával

kívántam élni, úgymint szerves sav tartalom és két olyan antioxidatív enzim aktivitásának mérése - GPX, APX -, amelyek, sejten belüli lokalizációjukból adódóan, a teljes sejt állapotáról szolgáltatnak információt. Emellett kiegészítő, illetve a fémterhelés meglétét alátámasztó mérésekként elemtartalom, SPAD index és fluoreszcencia indukciós méréseket is végeztem. Az alábbi konkrét kérdésekre kerestem a válaszokat:

1. Öt szerves sav (oxálcetsav, citromsav, almasav, borostyánkősav és fumársav) konstitutív mennyiségének meghatározása árpa csíranövényekben.
2. Változik-e a fenti szerves savak mennyisége kadmium és nikkell hatására a stressz kialakulásának kezdeti (0-24 óra) és későbbi (0-7 nap) szakaszában.
3. GPX és APX enzimaktivitások meghatározása kadmium és nikkell hatására a stressz kialakulásának kezdeti (0-24 óra) és későbbi (0-7 nap) szakaszában.
4. A két fém hatására bekövetkező szerves sav mennyiség és antioxidatív enzimaktivitás változásainak összevetése, amennyiben vannak, a különbségek megállapítása és a legérzékenyebben reagáló szerves sav, vagy enzim megnevezése. a stressz kialakulásának kezdeti (0-24 óra) és későbbi (0-7 nap) szakaszában.

Mindezek mellett, összehasonlítva egyes konzervatív módszerekkel (elemtartalom meghatározás, morfológiai- és szövettani vizsgálatok), a növényi stresszélettanban új módszerként, a váltakozó áramú impedancia mérés elvégzését is elhatároztam, mivel az irodalomban fellelhető eredmények azt mutatják, hogy a váltakozó áramú impedancia mérés alkalmas a növényi szövet állapotának jellemzésére, de nem találtam olyan munkát, amely kadmium stressz hatásaival összefüggésben alkalmazta volna ezt a mérési módszert. A kutatási eredmények alapján gyors, könnyen elvégezhető és értékelhető módszerről van szó, amely alkalmas *in vivo* mérésekre is, így vélhetően sikerrel vonható be a kadmium stressz hatásainak detektálásába is. A mérés során használt tüelektródákat a hengeres főgyökérbe és a hajtásba lehet biztonságosan behelyezni, ami kétszikű faj használatát tette szükségessé. Ezért a váltakozó áramú impedancia mérések során kísérleti növényként a zöldborsót választottam, mint egy, a mezőgazdaságban és a növényélettani kutatásokban széles körben elterjedt kétszikű fajt. Az impedancia méréssel összefüggésben az alábbi kérdésekre kerestem a válaszokat:

1. Kadmium kezelés hatásainak jellemzése zöldborsó csíranövényeken különböző nevelési körülmények (levegőztetett és nem levegőztetett vízkultúrás és perlites nevelés) között impedancia méréssel, illetve a legideálisabb nevelési mód kiválasztása.
2. Hatással van-e kis koncentrációban egy nem mérgező fémion a váltakozó áramú impedancia mérés paramétereire?
3. Alkalmas-e a váltakozó áramú impedancia mérés nehézfém stressz detektálásra?



### 3. ANYAG ÉS MÓDSZER

#### 3.1 Kísérleti növények és nevelési körülmények

##### 3.1.1. Árpa növények nevelése

Az árpa (*Hordeum vulgare* L. 'Triangel') magvakat beáztattam 3 %-os nátrium hipokloritba, fertőtlenítettem 3 percig, majd, sorozatos és erőteljes öblítést követően desztillált vízben 3 órán keresztül áztattam azokat. A magvakat ezután 1,2 l-es konténerekbe helyeztem, amelyek peremére csíráztatótálakat tettem. A beáztatott magvak a csíráztató tálakon ültek úgy, hogy a magvak alsó szélé érintkezzen a desztillált víz felületével. A csíráztató tálakat folpack fóliával takartam le, a magvak kiszáradását elkerülendő. A csíranövényeket fejlettségüktől függően három-öt napos korukig Conviron S10 fitotronkarmában (20 °C; 120  $\mu\text{M m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  fényintenzitás; 12-12 h fény/sötét periódus) neveltem, majd feles Hoagland tápoldatra helyeztem (HEGEDŰS *et al.*, 2001). A tápoldatra helyezést követően a csíranövények a feles töménységű Hoagland tápoldaton még további öt-hét napon keresztül fejlődtek. Az árpa nevelésénél a kétféle nehézfém használata és a több alkalmazott koncentráció miatt, nagy számú növénynevelő edénnyel dolgoztam egy időben és nem állt rendelkezésemre elegendő számú akvárium pumpa. Az elárasztás okozta anoxia elkerülése végett a feles töménységű Hoagland tápoldatot kétnaponta frissre cseréltem.

##### 3.1.2 A Hoagland tápoldat összetétele

A feles töménységű Hoagland tápoldat összetevői és azok koncentrációja: [g/l]

Makroelemek: kalcium:	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$	49,35
kálium:	$\text{KNO}_3$	34,65
foszfor:	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	14,28
magnézium:	$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	27,30
Mikroelemek: bór:	$\text{H}_3\text{BO}_3$	4,285
mangán:	$\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	2,067
cink:	$\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	0,331
molibdén:	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$	0,036
réz:	$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	0,120
Na-Fe EDTA (Selecton B2):		7,45
vas:	$\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	5,57

### **3.1.3 Zöldborsó növények nevelése**

Kísérleteim során az impedancia mérésekhez a borsót (*Pisum sativum* L. cv. 'Debrecei világos') választottam, mivel bármely évszakban gyorsan és jól csírázik és vízkultúrák nevelése is könnyen megvalósítható. A magokat 3 %-os nátrium hipokloritban áztatással 5 percig sterilizáltam, majd többszöri folyóvízes öblítés után 6 órán keresztül desztillált vízben áztattam tovább. A duzzadt magvakat előzőleg autoklávban nedvesen sterilizált nedves perlitbe vettem. A nevelő dobozt átluggatott folpack fóliával lefedtem és 48 órán át szoba hőmérsékleten, sötét szekrényben csíráztattam. A csíráztatás során desztillált vízzel másnaponként öntöztem. A csíranövényeket fitotronba, Conviron S10 típusú kamrába helyeztem és ott neveltem 22-23 °C-on, napi 16 órás  $120 \mu\text{M m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  fényintenzitású megvilágítással, 58 % relatív páratartalom mellett. A 8 órás sötétperiódus alatt a kamra hőmérséklete 20 °C volt. A három napos növényeket a perlitről feles hígítású Hoagland tápoldatra helyeztem (TERRY, 2000). A Hoagland tápoldatos nevelés egyrészt az elárasztást szimulálta, másrészt a nehézfém kezelés is pontosan és könnyen kivitelezhető benne.

### **3.1.4 Árpa csíranövények nehézfém (kadmium, nikkell) kezelése**

A csíranövényeket tíz napos korukban kezeltem  $\text{CdCl}_2$ -dal és  $\text{NiCl}_2$ -dal (kadmium: 10  $\mu\text{M}$ , 50  $\mu\text{M}$ , 100  $\mu\text{M}$ , 300  $\mu\text{M}$ ; nikkell: 100  $\mu\text{M}$ , 500  $\mu\text{M}$ , 1000  $\mu\text{M}$ ), majd a mintavételezésre a kezelést követő 0, 1, 4, 7. napon került sor.

### **3.1.5 Zöldborsó csíranövények kadmium kezelése és elárasztása**

A három napos borsó csíranövényeket feles-Hoagland tápoldatot tartalmazó vízkultúrában neveltem tovább és 0; 100; 200  $\mu\text{M}$  koncentrációjú kadmium-kloriddal kezeltem. A kezelt növények felét Maxima típusú (Hagen- Németország D-25488 Holm) akváriumpumpával levegőztettem. Ebben a kísérleti beállításban azután még további hét napig neveltem a növényeket és a kezelés napján, valamint azt követően az első, negyedik és a hetedik napon vettem mintákat kadmium tartalom, morfológiai elemzés és impedancia mérés elvégzése céljából.

A kísérletet háromszor ismételtam.

### **3.1.6 Zöldborsó csíranövények magnézium kezelése**

A három napos borsó csíranövényeket feles-Hoagland tápoldatot tartalmazó vízkultúrában neveltem tovább és 0; 100; 200  $\mu\text{M}$  koncentrációjú magnéziummal ( $\text{MgCl}_2$ ) kezeltem abból a célból, hogy megvizsgáljam egy ugyancsak kétértékű, ám nem mérgező ion jelenlétének hatását az impedancia paraméterekre. A kezelt növények felét Maxima típusú (Hagen- Németország D-

25488 Holm) akváriumpumpával levegőztettem. Ebben a kísérleti beállításban azután még további hét napig neveltem a növényeket és a kezelés napján, valamint azt követően az első, negyedik és hetedik napon vettem mintákat impedancia mérés elvégzése céljából.

A kísérleteket három ismétlésben végeztem.

### **3.2 Zöldborsó csíranövények gyökér- és hajtáshosszúság mérése**

Az impedancia mérések végett beállított kísérlet során a kadmiumos kezelést követő első, negyedik és hetedik napon a csíranövényeken gyökér- és hajtáshosszúság mérést végeztem. Minden mérési napon kezelésként 10 növényen végeztem a méréseket a gyökéren és a hajtáson egyaránt.

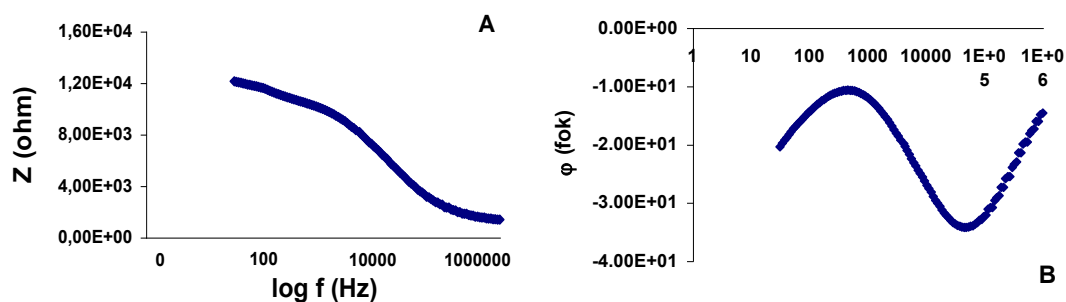
### **3.3 Morfológiai és fénymikroszkópos vizsgálatok**

A kadmiummal kezelt növények esetén az impedancia mérésekkel párhuzamosan a morfológiai és fénymikroszkópos vizsgálatokra is sor került. A magnéziummal kezelt növények esetében nem végeztem morfológiai és szövettani vizsgálatokat, mivel a magnézium kezelés nem eredményezett látható különbségeket a morfológiai paraméterekben, illetve az impedancia spektrumokban sem. A fénymikroszkópos vizsgálatokhoz a csíranövények epikotiljából és az elsődleges gyökerek felső harmadából vettem mintákat. A fénymikroszkópos képeket az Eötvös Loránd Tudományegyetem Növény szerzettani Tanszékén készítették. A mintákat először 0,1 M-os pH 7,2 - es foszfát pufferoldatban lévő 4 %-os formaldehidben fixálták. Ezt követte etanol oldat sorozattal elvégzett dehidratáció, majd a paraffin beágyazás. Egy Leitz Wetzlar mikrotómmal ezután a fixált mintákból 10 mikron vastagságú metszeteket készítettek, melyeket tárgylemezre tettek. A tárgylemezek fedőlemezeit tojás albuminnal borították. Kezelésként 5 növény gyökerét és epikotilját vettem mintaként, melyekből egyenként négy tárgylemez készült, tárgylemezenként 25 metszettel. A metszeteket Bismarck barnával és malachitzölddel festették. A mikrográfós vizsgálatokat egy Opton III: fénymikroszkópon végeztem az Eötvös Loránd Tudományegyetem Növény szerzettani Tanszékén.

### 3.4 Impedancia spektrumok meghatározása

A mérések előtt a növényt csapvízzel leöblítettük és leitattuk szűrőpapírral. Minden alkalommal a növény gyökerébe és szárába tengely irányban elektródokat szúrtunk 2 mm távolságban. Az arannyal bevont rézelektrodok átmérője 0,35 mm és hossza 5 mm volt.

Az impedancia spektrumokat egy HP 4284A típusú precíziós váltakozó áramú mérővel (Hewlett Packard Ltd., USA) határoztuk meg 800 Hz -1MHz frekvencia tartományban 100 különböző frekvencia értéknél. A szinusz jel bemeneti feszültsége 1 V volt. Minden minta gyökerén és hajtásán a 2 mm távolságnál mértük a váltakozó áramú impedancia nagyságát ( $Z$ -t) és fázisszögét ( $\phi$ -t). A mért spektrumokat a második ábrán mutatom be.

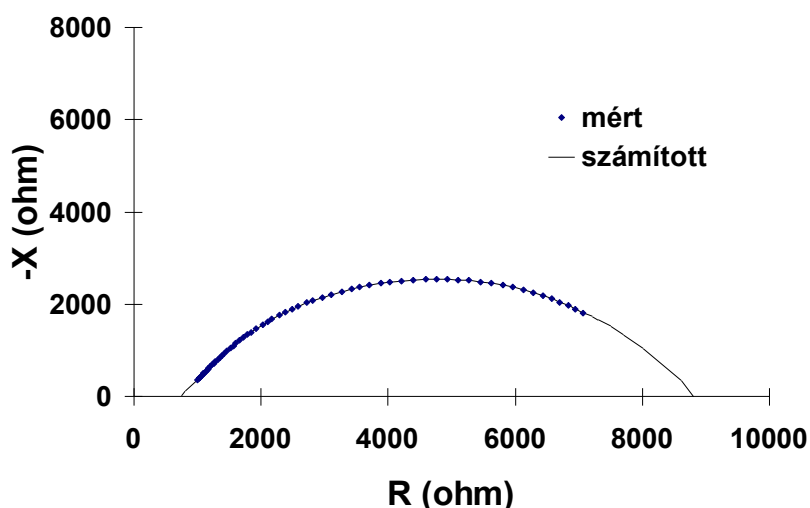


2. ábra. Tipikus impedancia nagysága,  $Z$  (A) és az impedancia fázisszöge,  $\phi$  (B) kontroll növény gyökerén mérve.

Az impedancia méréseket a Budapesti Corvinus Egyetem Fizika- és Automatika Tanszékén végeztem.

### 3.5 Az impedancia spektrumok értékelése

Minden egyes növénynél akár a gyökéren, akár a száron a 2 mm távolságnál mért impedancia spektrumból meghatároztuk az  $R = |Z| \cdot \cos\phi$ , valós részt és  $X = |Z| \cdot \sin\phi$ , képzetes részt minden mérő frekvenciánál. Az  $R$  és az  $X$  értékekből meghatároztuk a lókuszt görbét (Argand diagramot, 3. ábra), azaz az impedancia pontjait a komplex számsíkon, amelyet a módosított Hayden-modellel (Toyoda *et al.*, 1994) közelítettünk, és meghatároztuk (3. ábra) a sejten belüli állomány ellenállását ( $R_s$ ), a sejt közötti állomány ellenállását ( $R_a$ ), valamint a plazma membrán kapacitását ( $C_m$ ).



3. ábra. Az impedancia lókuszt görbe.

A módosított Hayden modell impedancia kifejezése

$$Z = \frac{1}{1/R_a + 1/(R_s + Z_m)},$$

ahol  $Z_m = (\cos \varphi + j \sin \varphi) / C_m \omega$

$Z_m$  = sejtmembrán impedanciája

$C_m$  = sejtmembrán kapacitása

$\varphi$  = fáziszög

$\omega$  =

Ha a mérő frekvencia kicsi, illetve tart a 0-hoz ( $f \rightarrow 0$ , a nagy R és X értékeknél), akkor a sejtmembrán kapacitásának megfelelő impedancia megnő, tehát az áram „nem tud bejutni” a sejtekbe és főként a sejtek között halad, tehát a mért impedancia értékek ebben az esetben tulajdonképpen megegyeznek a sejtek közötti állomány ellenállásával,  $R_a$ -val.

Ha a mérő frekvencia nagy, illetve a végtelenhez tart ( $f \rightarrow \infty$ , kicsi R és X értékek), akkor a sejtmembrán kapacitásának megfelelő impedancia értéke lecsökken és a nullához tart. Ekkor az áram mind a sejtek között, illetve a sejten belül folyik és így a mért impedancia érték lényegében, megegyezik a sejten kívüli és a sejten belüli állomány párhuzamos eredőjével. Ezen párhuzamos eredőből számítható a sejten belüli állomány ellenállása.

A körív a valós tengelyt két pontban metszi, a kis frekvenciáknál közvetlenül az  $R_a$  értéket kapjuk és a magas frekvenciáknál, pedig az  $R_a R_s / (R_a + R_s)$  értéket (az  $R_a$  és  $R_s$  párhuzamos eredőjét). Minden egyes mérési sorozatnál megrajzoltuk a lókuszt görbét és annak tengelymetszetéből határoztuk meg az  $R_a$ ,  $R_s$  értékeket (3. ábra).

A  $C_m$  értékeket a lókuszt görbe szélsőértékénél határoztuk meg. A Z egy komplex szám, amelynek valós és képzetes része (a mért értékből számolva) megegyezik rendre az x egyenlet

jobb oldalának valós és képzetes részével, ami két egyenletet jelent. Mivel az  $R_a$  és  $R_s$  ellenállásokat a lókusztörvény két metszés pontjából határoztuk meg, így a két egyenletben csak a  $\varphi$  és a  $C_m$  marad ismeretlenként, amelyek a két egyenlet megoldásával meghatározhatóak. A kísérletek értékelésénél csak a  $C_m$ -t használtuk fel, mivel ennek van szemléletes jelentése.

### 3.6 Fluoreszcencia indukció mérés

A klorofill tartalom meghatározása mellett a növényélettani és a molekuláris növénybiológiai vizsgálatok során igen elterjedt stresszdetektálási módszer a klorofill fluoreszcencia indukció vizsgálata is. A fluoreszcencia indukciós paraméterek közül a legelterjedtebb növényi vitalitást jelző index az  $F_v/F_m$  érték, mely számos stresszdetektálási munkában megjelent/megjelenik (WIEDEMUTH *et al.*, 2005, PAPAZOGLU *et al.*, 2007; LI *et al.*, 2006; ARAUS *et al.*, 1998; VASSILEV és MANOLOV, 1999). A hagyományos fluoreszcencia indukciós méréseket sötétadaptált növény megvilágításával végzik. Az alábbiakban következnek a leggyakrabban mért és alkalmazott paraméterek:

- $F_0$ : kezdeti, vagy minimális fluoreszcencia, amely a fénygyűjtő komplex stabilitásáról szolgáltat információt,
- $F_m$ : maximális fluoreszcencia,
- $F_v$ : változó/variábilis fluoreszcencia  $F_m - F_0$ ,
- $F_v/F_0$ : segítségével megbecsülhető a PSII maximális elsődleges fotokémiai kapacitását,
- $F_v/F_m$ : a PSII maximális kvantumhatékonyságát adja meg (LI *et al.*, 2006; MAXWELL és JOHNSON, 2000; VASSILEV és MANOLOV, 1999).

A mérés előtt 30 perccel a leveleket sötétadaptáltam, majd kezelésenként 10-10 növény fluoreszcencia indukcióját mértem 1s időtartamig,  $3000 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  fényintenzitáson, Plant Efficiency Analyser (PEA) hordozható fluoreszcencia mérő műszerrel (Hansatech, King's Lynn, UK), amelynek a fényforrása három, 650 nm-es fényt kibocsátó dióda volt (YUSUF *et al.*, 2010). Gyors fluoreszcencia kinetikát ( $F_0 \rightarrow F_m$ ) mértem, amely mérés lehetőséget ad a növények fotoszintetikus működésének gyors jellemzésére az  $F_v/F_m$  paraméter által, ami a változó ( $F_v = F_m - F_0$ ) és a maximális ( $F_m$ ) fluoreszcencia hányadosát mutatja meg és a PSII maximális kvantumhatékonyságát jelzi:

$$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$$

Az  $F_0$  a növény biokémiai folyamatoktól független alapfluoreszcenciája.

Az Fv/Fm paraméter egészséges fotoszintézisű növénynél 0,8-0,85 között van (BOLHÁR-NORDENKAMPF és ÖQUIST, 1993). Amennyiben ez az érték 0,8 - nál alacsonyabb, akkor az a fotoszintetikus kapacitás jelentős csökkenését jelzi.

### **3.7 SPAD index mérés (növények klorofill tartalmának becslése)**

A SPAD – Soil Plant Analysis Development (WIEDEMUTH *et al.*, 2005) készülék alkalmas eszközköz a növényi klorofill tartalom becslésére. A mérés során a műszer 650 és 940 nm hullámhosszon méri az intakt levél transzmisszióját 6 mm<sup>2</sup>-es felületen (HUMBECK és KRUPINSKA, 2003). A kalibráció azt mutatja, hogy a SPAD index értéke széles tartományban lineárisan változik a levél aktuális klorofilltartalmától függően (WIEDEMUTH *et al.*, 2005).

Kezelésenként 10-10 növény levelét mértem a SPAD mérővel (SPAD-502; Konica Minolta Sensing Inc, Japán).

### **3.8 Szerves sav mérés**

0,5 g árpa levelet és gyökeret dörzsöltem el folyékony nitrogénben, majd kvarc homokkal és 1 ml desztillált vízzel homogenizáltam. A homogenizátumot ezután 15 percig 12000 g fordulattal centrifugáltam. A felülúszót 45 µm átmérőjű fecskendőszűrőn (MILLEX-HV-PVDF- 0,45 µm; 13 mm) átnyomtam (BOOMINATHAN és DORAN, 2003). A szűrt felülúszókat használtam fel szerves sav tartalmuk meghatározására fordított fázisú HPLC (Waters) segítségével (UV detektor). A HPLC méréseket a Budapesti Corvinus Egyetem Gyümölcsstermő Növények Tanszékén végeztem. Vizsgálataim során öt szerves sav mennyiségét határoztuk meg: oxálcetsav, citromsav, almasav, borostyánkősav és fumársav. A savak minőségi és mennyiségi meghatározásához sztenderdeket használtunk (Merck).

### **3.9 Nehézfém tartalom meghatározás**

A kémiai analízishez a kiszárított növényi mintákból 0,1 g porított gyökeret vagy levelet roncsoltam el tömény hidrogénperoxid és salétromsav 1:1 arányú elegyében. A teljes feltárást teflon bombában végeztem el úgy, hogy először 12-16 órán át szobahőmérsékleten reagáltattam, majd 120 °C-on autoklávozással roncsoltam. A roncsolmányt S3-as szűrőpapíron szűrtük és feltöltöttük desztillált vízzel 10 ml-re (HORVÁTH *et al.*, 1996). A nehézfém tartalom meghatározása ICAP-61E típusú plazma emissziós spektrométerrel történt a Budapesti Corvinus Egyetem Alkalmazott Kémia Tanszékén.

### 3.10 Növényi szövetkivonat készítése enzimaktivitás mérésekhez

A levágott növényi részekből (gyökér, hajtás) 0,5g-ot jéghideg dörzsmozsárban 1,5 ml izoláló pufferben homogenitásig dörzsöltünk, majd a kapott szuszpenziót 20 percig centrifugáltam, 10000 g-vel. A felülúszót eppendorf csövekben alikvotáltam, majd enzimaktivitás mérésekre használtam azokat.

Izoláló puffer összetétele:

0,1 M K-foszfát puffer (pH 7,8)

1 mM fenilmetilszulfonilfluorid (PMSF)

2 mM Dietiléntriamin pentaecetsav (DTPA)

1 mM ditiotreitól (DTT)

5 mM aszkorbát

### 3.11 Enzimaktivitások meghatározása

Az enzimaktivitások meghatározása a növényi szövetek sejtmentes extraktumából (10000 g, felülúszó) történt, méréséhez SHIMIDAZU UV-160A spektrofotométert használtunk. Az aktivitási értékeket három párhuzamos mérés átlagából határoztuk meg.

#### Gvajakol peroxidáz (E.C.1.11.1.7.)

Reakció:  $4 \text{ gvajakol} + 4 \text{ H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{tetragvajakol} + 8 \text{ H}_2\text{O}$

Oldatok: foszfát puffer (pH 6,0), 0,015 M  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 0,02 M gvajakol

REAKCIÓELEGY	Vak	Minta	Végkoncentráció
0,5 M K-P puffer pH 6,0	0,8 ml	0,8 ml	100mM
0,015 M $\text{H}_2\text{O}_2$			1,0mM
0,02 M gvajakol	0,5 ml	0,5 ml	3,33 mM
desztillált víz	1,7 ml	1,6 ml	-
enzimkivonat	-	0,1ml	-
végtérfogat	3 ml	3 ml	

Az abszorpciómeghatározást a vakkal szemben 1 cm-es üvegvettában végeztem 470 nm ( $\epsilon = 26,6 \text{ mmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) hullámhossznál 60 másodpercen át egy SHIMIDAZU UV-160A spektrofotométeren (HEGEDŰS *et al.*, 2001).

Aktivitás számítása:  $(3/0,1) \cdot (1/26,6) \cdot (\text{DA}_{1\text{min}}/60) \cdot (1,5/0,5) \times 4$

mértékegység:  $\mu\text{kat/g fr. t}$



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

Reakció:  $2 \text{ aszkorbinsav} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{ monodehidroaszkorbinsav} + 2 \text{ H}_2\text{O}$

Oldatok: 0,1 M K-foszfát-puffer (pH 7,0)

3 mM Aszkorbinsav

0,015 M  $\text{H}_2\text{O}_2$

REAKCIÓELEGY	Vak	Minta	Végkoncentráció
0,1 M K-foszfát-puffer pH 7,0	1,5 ml	1,5	0,05 M
3 mM aszkorbinsav	0,5 ml	0,5 ml	0,5 mM
0,015 M $\text{H}_2\text{O}_2$	0,05 ml	0,05 ml	0,25 mM
desztillált víz	0,95	0,85	-
enzimkivonat	-	0,1 ml	-
végtérfogat	3,0 ml	3,0 ml	

Az aszkorbinsav oxidációjából származó abszorpciósökkenést a vakkal szemben kvarcküvetében végeztem, 290 nm ( $\epsilon_{290} = 2,8 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) hullámhossznál 60 másodpercen át, 25 °C-on egy egy SHIMIDAZU UV-160A spektrofotométeren (Nakano és Asada 1981).

Aktivitás számítása:  $(3/0,1) \times (1/2,8) \times (\text{DA}_{1\text{min}}/60) \times (1,5/0,5)$

mértékegység:  $\mu\text{kat/g fr. t}$

### 3.12 Statisztikai elemzés

Az ábrázolt értékek három független kísérlet eredményének átlagolásából ( $\pm\text{S.D}$ ) keletkeztek. A kezelések szignifikancia szintjeit ANOVA ( $p > 0,05$ ) elemzéssel, Duncan teszttel, SPSS 7.0 programmal állapítottam meg.



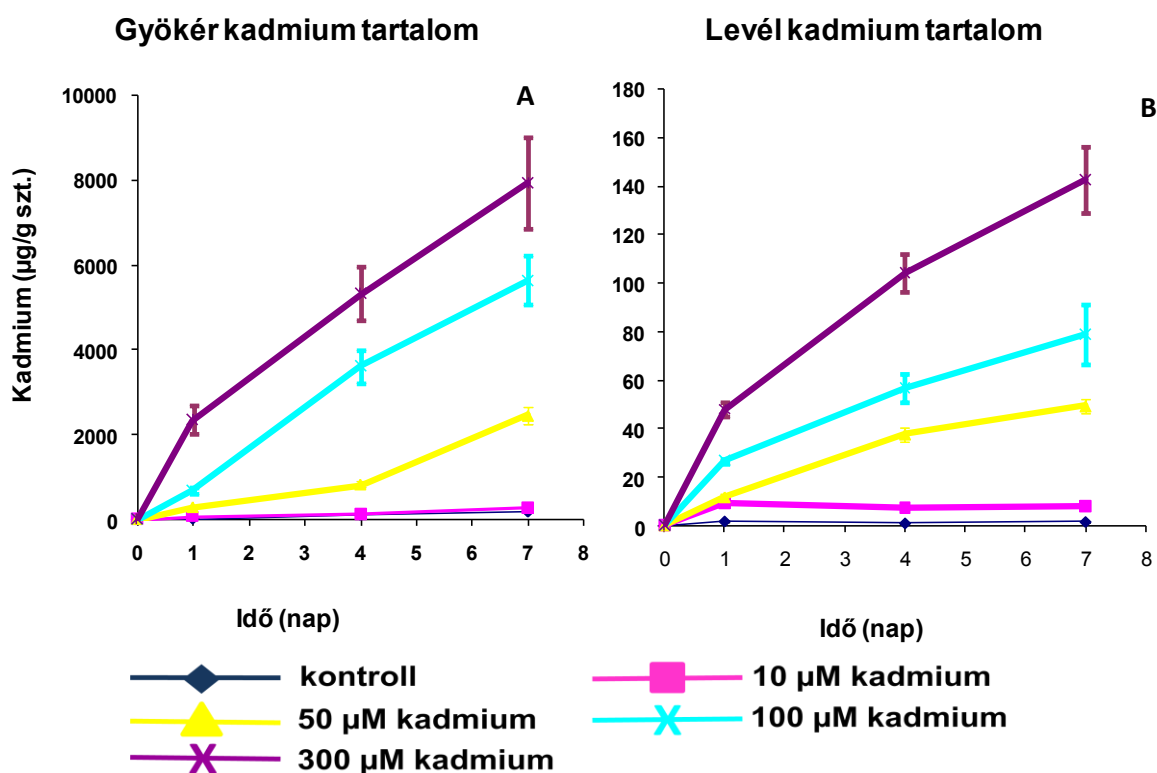
## 4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

### 4.1 Egy napos és egy hetes kadmium és nikkel kezelés hatásának vizsgálata a stressz kialakulásának korai szakaszában

#### 4.1.1 Kadmium és nikkel felhalmozódás árpa (*Hordeum vulgare* L.) csíranövényekben

Kísérleti eredményeimből elsőként az elemfelhalmozódás dinamikáját mutatom be, mivel alapvető a nehézfémek növénybe jutásának kimutatása. Az árpa csíranövények gyökér és levél kadmium, illetve nikkel tartalmát az alább látható 4-dik és 5-dik ábrák szemléltetik. A kadmium és a nikkel felhalmozódásáról általánosságban megállapítottam, hogy folyamatos volt a kísérlet teljes időtartamában és koncentrációfüggést mutatott (MURADOGLU *et al.*, 2015) nehézfém típustól és vizsgált növényi szervtől függetlenül (4. ábra., 5. ábra).

A gyökér egy nagyságrenddel több kadmiumot halmozott fel, mint a levél, de a felhalmozódás jellege azonos volt: folyamatosan növekvő és koncentrációfüggő volt.

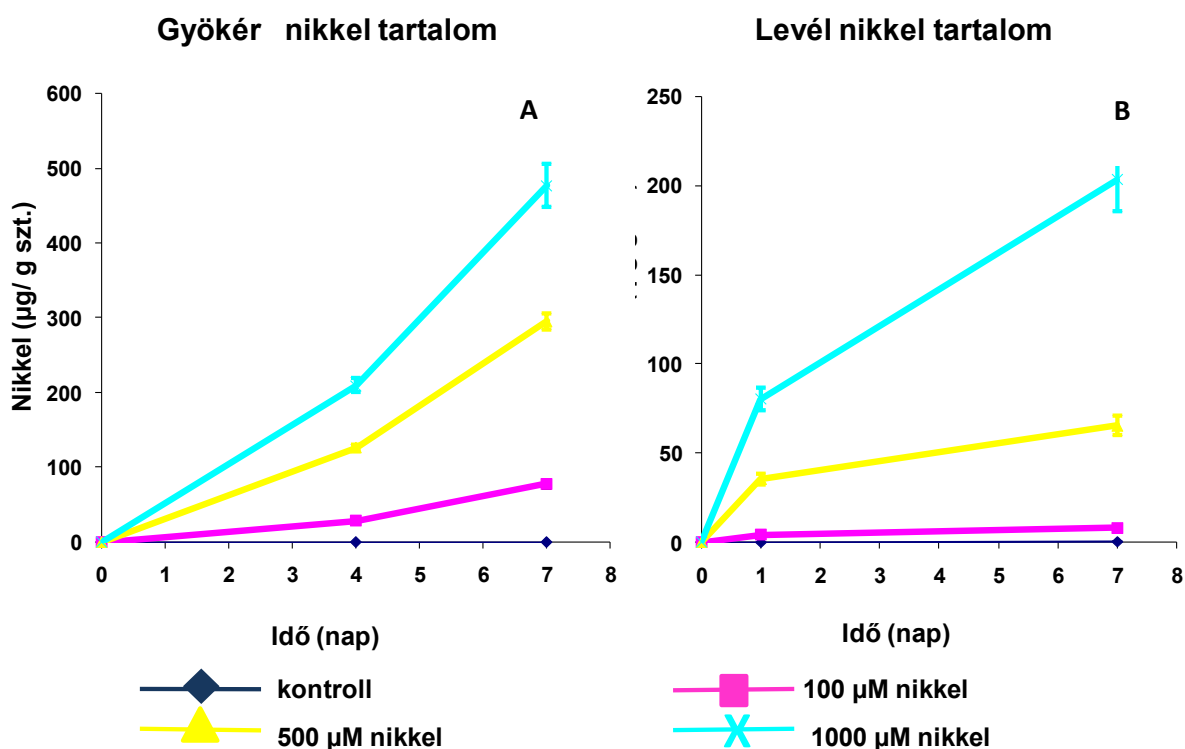


4. ábra. Árpa csíranövények gyökér (A) és levél (B) kadmium tartalma 10 µM, 50 µM, 100 µM és 300 µM kadmium kezelés hatására.

Kezdetben 0,48 µg/g sz.t volt a kezelések előtti kontroll kadmium tartalom. Ez az érték a kísérlet utolsó napjára drasztikusan megnőtt: 300 µM kadmiummal kezelt árpa csíranövények

gyökér kadmium tartalma elérte a  $7948,11 \pm 1069,97 \mu\text{g/g}$  szt értéket (4. A ábra). A levél kadmium felhalmozása jellegében megegyezik a gyökérével, de egy nagyságrenddel kisebb mértékű volt: a hetedik napos a  $300 \mu\text{M}$ -os kadmium kezelés  $142,7253 \pm 13,75 \mu\text{g/g}$  száraz tömeg kadmium felhalmozódást eredményezett (4.B. ábra).

A gyökérben és a levélben a kadmium felhalmozódás dinamikája egyik alkalmazott koncentráció esetén sem eredményezett telítési görbét, így megállapíthatom, hogy a kísérlet időtartama alatt a kadmium felvétele folytonos volt, valamint az egyes kezelések statisztikailag szignifikánsan elkülönültek egymástól (2. melléklet, 1. táblázat) minden alkalmazott koncentrációban és mindkét növényi szervben (4. A-B ábra).



5. ábra. Árpa csíranövények gyökér (A) és levél (B) nikkeltartalma  $100 \mu\text{M}$ ,  $500 \mu\text{M}$  és  $1000 \mu\text{M}$  nikkeltartalom hatására.

Az 5. ábrán látható a nikkelfelhalmozódása a gyökérben és a levélben. A két növényi rész nikkelfelhalmozása kiegyenlítettebb volt annál, mint amit a kadmium esetében tapasztaltam.

A kísérlet során a fémfelhalmozódás folyamatosan növekedett és koncentrációfüggést mutatott. Telítési görbe egyik alkalmazott koncentrációnál sem jelentkezett, ami azt jelenti, hogy a vizsgált változások folyamatosan növekvő fémtartalom mellett zajlottak.

A gyökérben a kísérlet végére az  $1000 \mu\text{M}$ -os nikkeltartalom hatására  $476,25 \pm 38,43 \mu\text{g/g}$  száraz tömeg nikkeltartalmat eredményezett, ami közel ötszázszoros emelkedést jelent a kontrollhoz képest

(5. A ábra). A levél a gyökérhez képest megközelítőleg fele annyi nikkelt halmozott fel. Az utolsó mintavételi időpontban, a hetedik napon, a levél nikkel tartalma  $203,34 \pm 19,56 \mu\text{g/g}$  száraz tömeg érték volt, ami a kontrollhoz képest kétszáz szoros növekedést jelent (5. B ábra). Ez jellegét tekintve egyenletesebb eloszlást mutatott, mint a kadmium felhalmozódás. A nikkel felhalmozódás egyik alkalmazott koncentráció esetén sem eredményezett telítési görbét, felvétele szintén folyamatos volt. A különböző koncentrációk szignifikánsan elkülönültek (2. melléklet, 1. táblázat).

#### **4.1.2 A kadmium- és nikkelfelhalmozódás eredményeinek értékelése**

A kétféle nehézfém különböző típusa egyértelműen megmutatkozott a fémfelhalmozódásban is, mivel a kadmium főként a gyökérben marad és kis része jut a levélbe, ezzel szemben a nikkel a növényben egyenletes eloszlású nehézfémek közé tartozik (PRASAD, 2004), azaz a föld alatti és föld feletti részek fémfelhalmozása, még ha eltérő mértékű is ugyan, de ugyanolyan nagyságrendű. Eredményeim összhangban állnak RUBIO *et al.*, (1994) rizsen (*Oryza sativa* L.) végzett vizsgálataival, miszerint a kadmium nagyobb mértékben halmozódott fel a gyökérben, mint a hajtásban, míg a nikkel eloszlása kiegyenlített volt a két növényi rész között.

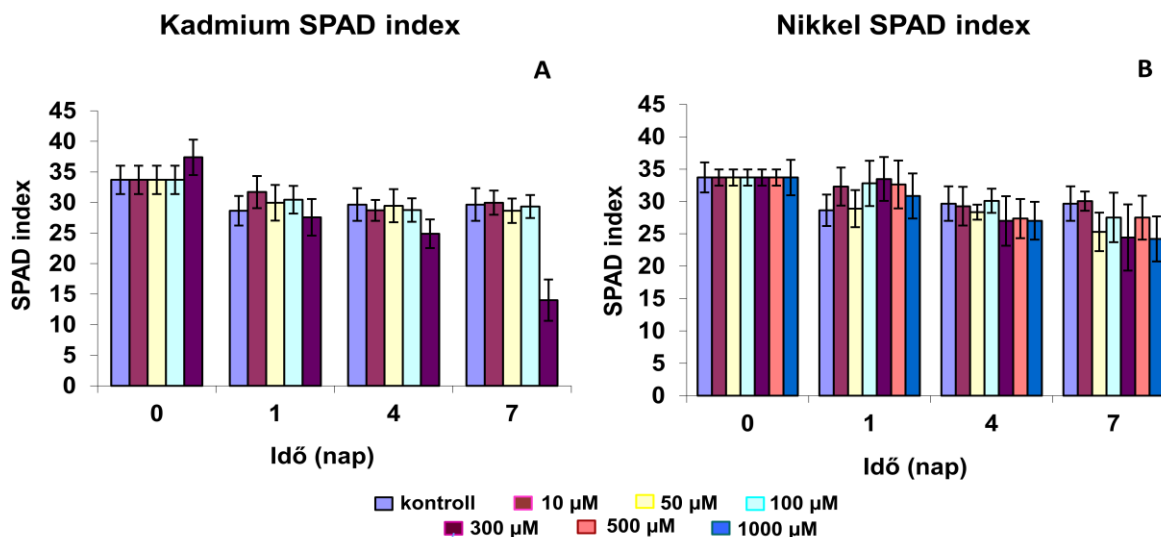
Ez a különbözőség az eltérő detoxifikációs mechanizmusokból adódik. A kadmium mérgezés semlegesítésének egyik kulcsmomentuma a gyökérben indukált detoxifikáció, ahova az eszenciális tápelemek (cink, kalcium, kálium, magnézium, mangán, nikkel, réz és vas) felvételét szolgáló ioncsatornákon keresztül könnyen bejut (CLARKSON és LÜTTGE, 1989, RIVETTA *et al.*, 1997), majd nagy része a negatív töltésű sejtfalalkotókhoz kapcsolódik, pl. a poligalakturonsav negatív töltésű karboxilcsoportjához (PRASAD, 2004). Ezért a felvett kadmium nagy része a gyökérben marad a sejtfalhoz kötötten (DEGENHARDT és GIMMLER, 2000), illetve a gyökér sejtejében detoxifikálva, és kisebbik része a föld feletti szervekben jelenik meg (CATALDO *et al.*, 1983). Ezen kívül a levélszövet kutikuláján és a levél sztómain át is be tud jutni a kadmium a növényekbe (FISMES *et al.*, 2005). A fentiek mutatják, hogy a kadmium toxicitásának okait már egészen kis alkalmazott koncentrációnál is (CHAKRAVARTY és SRIVASTAVA, 1992).

Ezzel szemben a nikkel, felvételét követően a transpirációs áram segítségével, a xilémen át jut a levélbe, majd az osztódó, fiatal szöveti részekbe (NEUMENN és CHAMMEL, 1986; WELCH 1995; FISMES *et al.*, 2005; PAGE *et al.*, 2006), és detoxifikációja jellemzően szerves savak segítségével, valósul meg a vakuólumban (KERSTEN *et al.*, 1980; BROOKS *et al.*, 1981; TATÁR *et al.*, 2000; CHEN *et al.*, 2003; MONTARGÈS-PELLETIER *et al.*, 2008).

Összefoglalva megállapítottam, hogy a kadmium és a nikkelt egyaránt mobilis nehézfémek (NEUMENN és CHAMMEL, 1986) és gyorsan bejutottak az árpába és felhalmozódtak ott. Mivel az összes alkalmazott kezelés meghaladja a természetben előforduló és a növény által felvehető mennyiségeket, ezért valószínűsíthetően a kísérlet további méréseinél tapasztalt változások a nehézfém tolerancia, vagy mérgezés által indukált detoxifikációs mechanizmusok következményei voltak.

#### 4.1.3 Egy hetes kadmium és nikkelt kezelés hatása a SPAD indexre

A SPAD index és a 4.1.4 alfejezetben bemutatásra kerülő klorofill fluoreszcencia indukciós mérések egyaránt elterjedt stresszdetektálási módszerek már önmagukban is, de más fiziológiai paraméter mérés mellé kiegészítő/megerősítő méréseként is gyakran használják azokat (WIEDEMUTH *et al.*, 2005; SHAO *et al.*, 2007; ALI *et al.*, 2008), ezért fontosnak tartottam doktori munkám során is követni ezt a gyakorlatot. A SPAD index és a fluoreszcencia indukció mérést csupán egy hetes kísérleti beállításban végeztem (6-10. ábra), mivel a kezeléseket követő első napon elvégzett mérések eredményei vagy nem mutattak változást ld.:  $F_v/F_m$  értékek, vagy csupán kis mértékű, statisztikailag nem szignifikáns változásokat eredményeztek, így okafogyottá vált az egy napon belüli kísérleti beállítás alkalmazása (3. melléklet, 1. táblázat).



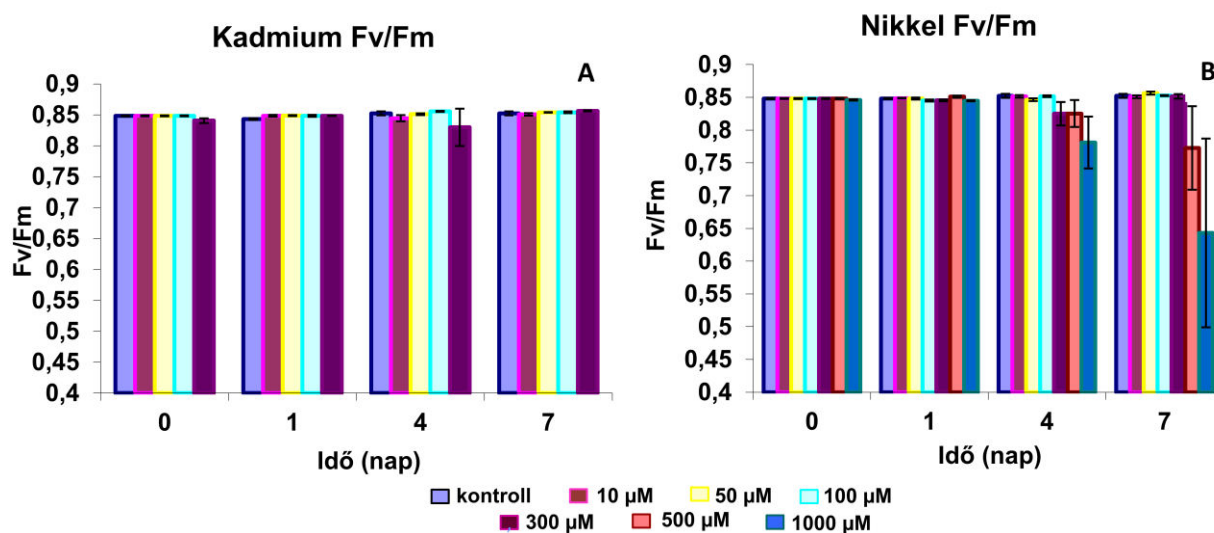
6. ábra. Egy hetes kadmium (A) és nikkelt (B) kezelés hatása a SPAD indexre.

A SPAD index az első napon (6. ábra) a kadmiummal kezeltéknél ingadozásokat mutatott, de klorózisra utaló koncentrációval arányos SPAD index csökkenés csupán a negyedik naptól volt szignifikáns, ami a hetedik napon is folytatódott (6A. ábra), valamint csupán a kontroll és a legnagyobb koncentrációjú kezelés között volt szignifikáns. A köztes koncentrációk hatásait nem

lehetett kimutatni ezzel a módszerrel (3. melléklet, 1. táblázat). A nikkellel kezelt árpa esetén is megfigyelhető volt SPAD index csökkenés a negyedik naptól, de szignifikáns különbségeket nem tudtam kimutatni (6B. ábra).

#### 4.1.4 Egy hetes kadmium és nikkellel kezelés hatása a fluoreszcencia indukció mérés paramétereire

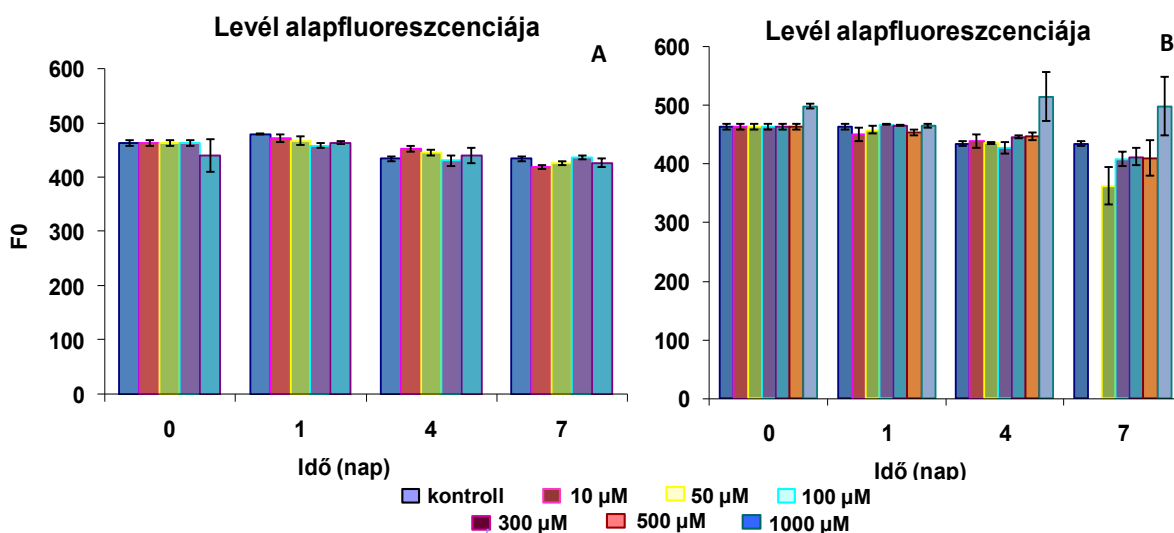
A fluoreszcencia indukciós paraméterek közül elsőként a PSII maximális kvantumhatékonyságát megadó (LI *et al.*, 2006) és legelterjedtebben használt  $F_v/F_m$  értéket mutatom be. A 7A. ábrán látható, hogy a kadmiummal kezelt növények  $F_v/F_m$  értékei nem változtak a negyedik napig, az egy hetes kísérlet alatt csupán az utolsó napon a 300  $\mu\text{M}$ -os koncentrációnál tapasztaltam szignifikáns  $F_v/F_m$  érték csökkenést (7A. ábra).



7. ábra. Egy hetes kadmium (A) és nikkellel (B) kezelés hatása a fluoreszcencia indukció mérés  $F_v/F_m$  értékére.

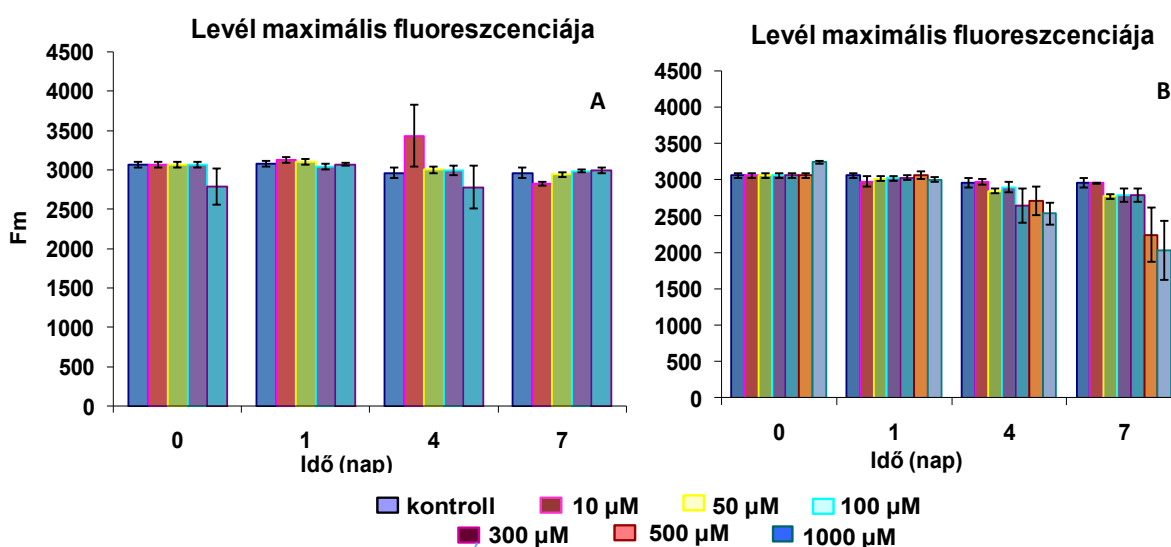
A nikkellel kezelés  $F_v/F_m$  értéke a negyedik napon a 300, az 500 és az 1000  $\mu\text{M}$ -os kezelésnél csökkent és a legmagasabb koncentrációnál szignifikáns is volt, illetve a hetedik napon tovább csökkent a két legnagyobb koncentráció esetén (7B. ábra). Ekkor, különösen az 1000  $\mu\text{M}$ -os kezelésnél nagy szórás értékek voltak, ami abból adódott, hogy voltak mérési pontok, amelyek normális fluoreszcencia indukciós kinetikát mutattak és voltak olyanok, amelyek a fotoszintetikus apparátus károsodását jelezték. Ennek az oka abban keresendő, hogy ezzel a mérési módszerrel egy egy pontot lehet mérni a levélen és a teljesség kedvéért nemcsak a klorotikus területeket mértem, hanem a látszólag egészséges helyeket is. Mivel az  $F_v/F_m$  paraméter összességében nem bizonyult elég érzékenynek, az alábbiakban bemutatom a fluoreszcencia indukció mérés  $F_0$ ,  $F_m$  és az  $F_v$  paramétereit is.

Az  $F_0$  paraméter a gerjesztett antenna klorofill-a pigmentek emisszióját mutatja meg, még mielőtt a gerjesztési energia a reakció centrumok felé vándorolna. Ez a paraméter független a fotokémiai reakcióktól és változásait strukturális módosulásoknak tulajdonítják: VASILEV *et al.* (1995) a klorofill-a kadmium hatására bekövetkező degradációját jelölik meg az  $F_0$  értékek csökkenésének hátterében.



8. ábra. Kadmiummal (A) és nikkellel (B) kezelt három napos árpa csíranövények fluoreszcencia indukciós mérése során kapott  $F_0$  paraméterének változásai egy hetes kezelés alatt.

Kísérleteim során a kadmium kezelés nem okozott jelentős változást az  $F_0$  paraméterben, ellenben a nikkellel kezelt legnagyobb koncentrációja (1000 µM) (8B. ábra) szignifikáns  $F_0$  növekedést okozott, ami strukturális változásokra utal (3. melléklet, 1. táblázat, 5. táblázat).

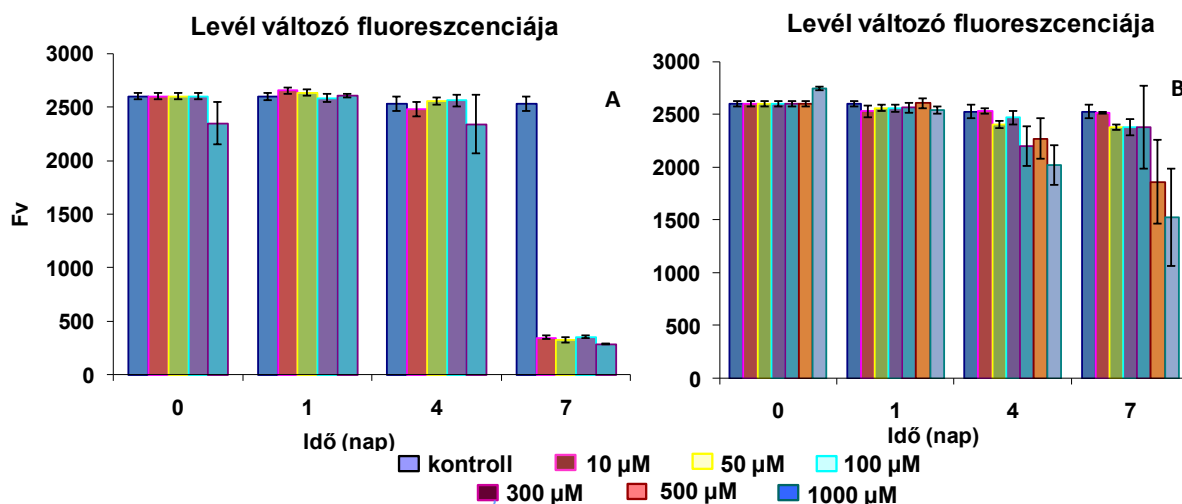


9. ábra. Kadmiummal (A) és nikkellel (B) kezelt három napos árpa csíranövények fluoreszcencia indukciós mérése során kapott  $F_m$  paraméterének változásai egy hetes kezelés alatt.

A fluoreszcencia mérés többi,  $F_m$ ,  $F_v$  és  $F_v/F_m$  paraméterei nem elsősorban strukturális változásokról, hanem – természetesen azokkal összefüggésben álló – funkcionális állapotát



tükrözi a sötétadaptált leveleknek. E paraméter összetevőit a 9. és a 10. ábrán mutatom be. A korábbiakkal összhangban, az  $F_m$  paraméter itt is a nikkellel kezelt növények esetében mutatott tendenciózus csökkenést (9B. ábra), a kadmiummal kezelteknél nem. Csökkenő tendencia volt a 300  $\mu\text{M}$ , az 500  $\mu\text{M}$  és az 1000  $\mu\text{M}$ -os kezeléseknél negyedik naptól és ezen tendenciák a hetedik napon szignifikáns különbségekként mutatkoztak meg (9B. ábra, 3. melléklet, 3. táblázat, 6. táblázat).



10. ábra. Kadmiummal (A) és nikkellel (B) kezelt három napos árpa csíranövények fluoreszcencia indukciós mérése során kapott  $F_v$  paraméterének változásai egy hetes kezelés alatt.

Az  $F_v$  értékek változásai alapján a kadmium és a nikkellel is csökkenti a változó fluoreszcenciát, de eltérő módon (10A., 10B. ábra). A kadmium kezeléseknél a hetedik napon egyötödére csökkent a változó fluoreszcencia értéke (10A. ábra), illetve a nikkelnél nem volt ugyan ilyen mértékű a csökkenés, azonban ennél a fémnél már a kísérlet negyedik napján szignifikáns csökkenést lehetett észlelni (3. melléklet, 4. táblázat, 7. táblázat).

#### 4.1.5 A SPAD index és a fluoreszcencia indukció mérés paraméter változásainak értékelése

A SPAD index és a klorofill fluoreszcencia indukció méréseket kiegészítő mérésekként szántam a szerves sav és az antioxidatív enzimaktivitás mérések mellett. Mivel a kapott eredmények értelmezése összefüggésben van egymással, ezért azok azok értékelését is összevonva mutatom be. A SPAD index mérések egyszerűségük és gyorsaságuknak köszönhetően igen elterjedtek a növénytudományok alkalmazott és elméleti ágaiban is (ARAUS *et al.*, 1998; GARDEA-TORRESDEY *et al.*, 2004; WIEDEMUTH *et al.*, 2005; LI *et al.*, 2006; PAPA ZOGLOU *et al.*, 2007; SHAO *et al.*, 2007; ALI *et al.*, 2008). A SPAD méréseket elsősorban a növény tápanyag-ellátottságának becslésére fejlesztették ki, és leginkább ezen a területen használják, ez a műszer alkalmas a különböző stresszhatások – így a nehézfémstressz - nyomonkövetésére is. ALI és munkatársai (2008) a brasszinoszteroidok stresszmérséklő hatását támasztották alá SPAD index

mérésekkel alumíniummal kezelt mungóbabon (*Phaseolus mungo* L.). WIEDEMUTH *et al.* (2005) árpa öregedési folyamatait követték nyomon, melynek keretében szintén folyamatosan mérték a klorofill tartalmat, annak fokozatos csökkenését. Az irodalmi adatok alapján stresszdetektálásra alkalmas gyors mérési módszerként a SPAD index mérést kísérleteim során kiegészítő mérésekként elvégeztem.

A SPAD index értékei a kadmium és a nikkel kezelés esetében csökkenést mutattak. Ez az eredmény összhangban áll korábbi megfigyelésekkel, amelyek szerint a kadmium gátolja a klorofill szintézist (PADMAJA *et al.*, 1990). HORVÁTH *et al.* (1996) kimutatták, hogy kadmium jelenlétében a klorofill képtelen normális pigment komplexet kialakítani, ezáltal a PS II működése gátlődik. Másrészt peroxidatív körülmények előidézésével, a kloroplasztisz membrán-lipid-fehérje komponensei lebomlanak (DROPPA és HORVÁTH, 1990), így inaktívvá válnak.

A SPAD index kontroll értéke már a negyedik naptól szignifikánsan elkülönült a kadmiummal kezeltéktől, amelyek SPAD index csökkenést eredményeztek, ami arra utal, hogy a levélbe jutott kadmium már fotoszintetikus pigmentek kialakulását gátolta, illetve a meglévőket károsította.

Nikkel esetében is ismert tény, hogy fotoszintetikus aktivitás csökkenést (VELIKOVA *et al.*, 2011) okoz, illetve ezzel összefüggésben levél klorózist (KHALID *et al.*, 1980; PICCINI és MALAVOLTA, 1992, ZORNOZA *et al.*, 1999) eredményez.

A kadmium kezelésnél megfigyelhető, hogy az  $F_v/F_m$  értékek változatlanok maradtak még viszonylag magas koncentrációk mellett is. Összevetve a SPAD index változásaival azt a látszólag ellentmondásos eredményt kaptam, miszerint a pigmenttartalom csökkent ugyan, de a fotoszintetikus apparátus hatékonyság nem. Ennek magyarázata a két módszer eltérő jellegében keresendő. A SPAD mérés egy statikus paramétert - a pigmenttartalmat - jelez, míg a fluoreszcencia indukció a fotoszintetikus apparátus működéséről szolgáltat információt. Tehát a kadmium hatására a pigment szintézisben zavarok keletkeznek ugyan, de a megmaradt pigmentek még hatékonyan működnek.

A mérés technika fejlődésével ma már több olyan fluoreszcencia indukciós paraméter és értékelési rendszer létezik, amelyek a mérgezés korai stádiumában is kimutatnak változásokat (STRASSER és STRASSER, 1995). Kísérletemben azért a fenti méréseket választottam, mert a növényi stresszélettan mérés technikai gyakorlatában széles körben elterjedtek és azonnali eredményt adnak (WIEDEMUTH *et al.*, 2005, SHAO *et al.*, 2007, ALI *et al.*, 2008).

Az  $F_v/F_m$  paraméter alkotói a maximális fluoreszcencia és a változó fluoreszcencia ( $F_v = F_m - F_0$ ) a sötétadaptált levelek második fotokémiai rendszerének funkcionális állapotát jellemzi, ezzel együtt az elsődleges fotokémiai reakciók során a PSII hatékonyságát (BUTTLER, 1977). A kapott eredmények az  $F_v/F_m$  értékek változatlanságát mutatják még viszonylag magas

koncentrációk mellett is. Az eredményeim összhangban állnak korábbi munkák eredményeivel, amelyek során árpa  $F_v/F_m$  paraméter változását mérték kadmium kezelést követően (VASILEV és MANOLOV, 1999). Mivel az  $F_v/F_m$  értékek változásaival a kadmiumnál, nem lehetett kimutatni változást, nikkelnél is csupán a magas koncentrációknál (nikkel: 300, 500, 1000  $\mu\text{M}$ ). Így ez a paraméter nem bizonyult elég érzékenynek a kisebb mértékű nehézfém stressz hatásainak detektálására és nyomon követésére. Ez az eredmény arra ösztönzött, hogy a fluoreszcencia indukció többi paraméterét is bemutassam. Az alapfluoreszcencia ( $F_0$ ) független a fotokémiai reakcióktól és strukturális változásokat jelez. Kísérleteim csupán a nikkellezés okozott jelentősebb  $F_0$  növekedést (magasabb pigment emissziót) az 1000  $\mu\text{M}$ -os kezelésnél, ami strukturális változásokra utal (8. A-B ábra). Ennek lehetséges oka-más munkák tanulsága szerint is-, hogy az árpa jobban ellenáll a kadmium toxikus hatásának, mint más növényfajok, pl. a zöldborsó, vagy a paradicsom (BASZYNSKI *et al.*, 1980; SHEORAN *et al.*, 1991). Eredményeim egybevágóak VASSILEV és munkatársai (1995) megfigyeléseivel, amelyek szerint az  $F_v/F_m$  paraméter változatlansága mellett az  $F_m$  és  $F_v$  paraméterekben jelentős csökkenést tapasztaltak, amelynek oka a nehézfémek okozta kloroplasztisz ultrastruktúráváltás lehet (VASSILEV *et al.*, 1995), ami hasonló az öregedési folyamatok során tapasztaltaknál (SKORZYNSKA *et al.*, 1998).

Összességében SPAD index használata jól elkülöníthető különbségeket csupán a magas koncentrációknál okozott, a kísérlet végén. A fluoreszcencia indukciós mérések eredményeiből azt a következtetést tudom levonni, hogy nem a leginkább elterjedt  $F_v/F_m$  paramétert érdemes használni, mivel a stressz hatás kialakulásának első hetében nem változik, ellenben az  $F_v$  paraméter sokkal intenzívebb változást mutat, így informatívabb mutatója lehet a fluoreszcencia indukciós méréseknek.

Összességében megállapíthatom, hogy a kadmium és a nikkellezés stressz kialakulás kezdeti szakaszának pontos jellemzésére egyik fenti módszer sem bizonyult igazán megfelelőnek, illetőleg csupán a stressz jelenlétének megerősítése céljából érdemes alkalmazni azokat.

#### **4.1.6 A szerves savak konstitutív mennyiségének meghatározása a gyökérben és a levélben**

A nehézfém mérgezéssel összefüggésben lévő szerves sav detoxifikációt feltáró irodalomban nem találtam elegendő adatot az árpa csíranövények konstitutív szerves savak mennyiségére, azaz, arra vonatkozólag, hogy a növényben természetes állapotában milyen mennyiségben vannak jelen az egyes szerves savak. Több árpán elvégzett munka is született, de ezek vagy csak gyökéren (JACKSON és TAYLOR, 1970), vagy csupán a leggyakoribb savakra, mint pl. a citromsavra és az almasavra vonatkoztak (TATÁR *et al.*, 2000), de az oxálcetsav,

borostyánkősav és a fumársav konstitutív mennyiségéről, illetve a szerven közötti mennyiségek egymáshoz való viszonyáról kevés adat áll rendelkezésre. Emellett a növényi nehézfém stressz vizsgálatok kapcsán a szerves sav detoxifikációt főként alumíniummal és nikkellel összefüggésben tárgyalták, ezért a nehézfém hatás vizsgálata mellett fontos eredmény a szerves savak kvantifikálása kontroll körülmények között.

A kétféle időtartamú kísérlet eredményeinek interpretálása szempontjából alapvető fontosságú volt a kiindulási értékek összevethetősége. A szerves sav mérések során azt tapasztaltam, hogy az egy napos kísérlet utolsó mintavételi időpontján (24. óra) vett minták és az egy hetes kísérlet második mintavételi időpontjának (24. óra) mintáiból a feldolgozás során kivont szerves sav mennyiségek a levélben nagyságrendileg és abszolút értékben is megfeleltethetők voltak egymásnak, ezért a két kísérlet időben folytonosnak tekinthető és összefüggésében értékelhető. Ez azonban a gyökérből vett mintákról már nem volt elmondható, itt ugyanis kadmium kezeltéknél az oxálecetsav és az almasav, a nikkellel kezelték esetében az oxálecetsav, a citromsav és az almasav értékei nagyságrendileg megegyeztek ugyan, de abszolút értékük különbözött, ami valószínűsíthetően a gyökér mintáinak nehezebb feldolgozhatóságából adódott, hiszen ugyanez a jelenség a levél minták eredményeiben nem fordult elő. Egy hetes kadmiumos kezelésénél az oxálecetsav és az almasav mérés jelentett kivételt, ahol a kiinduló értékek magasabbak voltak, három ismétlésből kettőben, amelynek oka a minták hígíthatatlansága lehetett. Az eredmények azt mutatják, hogy az árpa gyökér és a levél szerves sav tartalma eltér, de szervenként jellemző és nagyságrendileg azonos képet mutat a különböző kísérleti beállításokban (egy napos és egy hetes időtartam, kadmium és nikkellel kezelés) (4. melléklet). Általánosságban megállapítható, hogy - a fumársav kivételével - a levél szerves sav tartalma minden esetben magasabb volt a gyökér szerves sav tartalmánál és az oxálecetsav, a citromsav és az almasav esetén egy nagyságrenddel haladta meg a gyökérben mért értékeket.

#### **4.1.7 Kadmium kezelés hatása árpa (*Hordeum vulgare* L.) csíranövények szerves sav tartalmára**

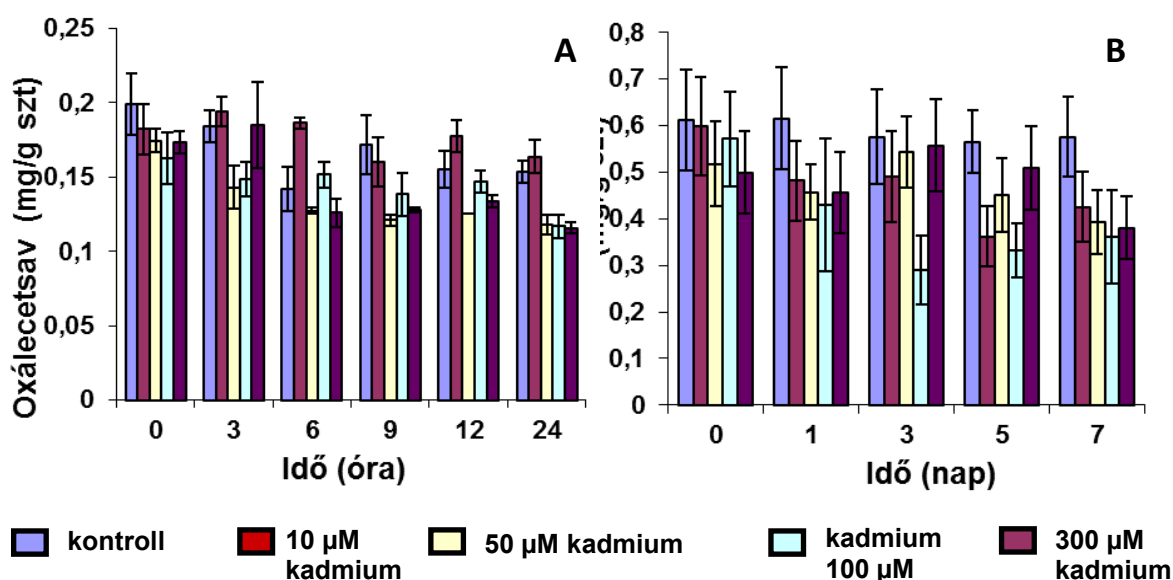
##### **4.1.7.1 Egy napos és egy hetes kadmium kezelés hatása árpa (*Hordeum vulgare* L.) csíranövények gyökér szerves sav tartalmára**

Az alábbiakban egy napos és egy hetes kadmium (10, 50, 100 és 300  $\mu\text{M}$ -os) kezelés hatását mutatom be árpa csíranövények szerves sav tartalmának (oxálecetsav, citromsav, almasav, borostyánkősav és fumársav) változásain keresztül, elsőként a gyökéren. Összességében a gyökérben a szerves sav mérések eredményei a nagy szórások miatt a legtöbb esetben

statisztikailag nem szignifikánsak. Ezért csak azon savakat tárgyalom külön, amelyeknél vagy szignifikáns változás állt fenn, vagy az eredmények tendenciájukban egyértelműek.

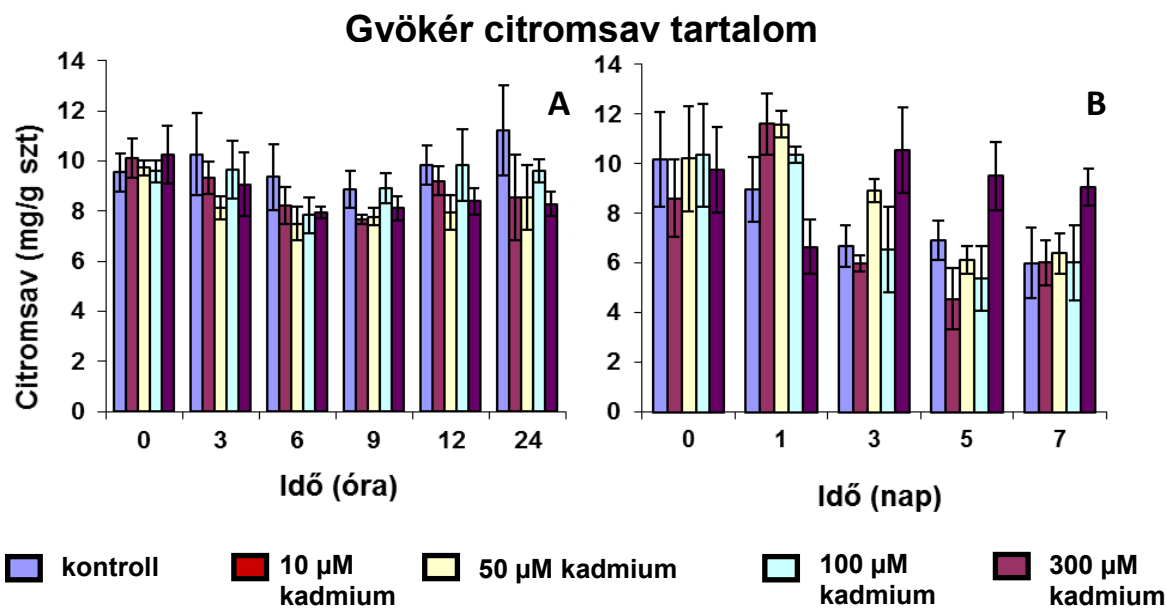
Az egy hetes kadmium kezelés során a gyökérben a kontroll sav értékek viszonylagos állandóságot mutattak és az alkalmazott kadmium koncentrációk a legnagyobb - 300  $\mu\text{M}$ -os kivételével -, nem okoztak változást (11-15 B ábrák). A 300  $\mu\text{M}$ -os kezelés, a citromsav kivételével, már az első naptól csökkenést idézett elő a szerves sav tartalomban, a kontrollhoz képest (11. ábra). A gyökérben a szerves sav mennyiségeiről azt a megállapítást tehetem, hogy, a borostyánkősav kivételével - ahol nem tapasztaltam tendenciózus változást - a szerves sav mennyiségek csökkentek és ez a csökkenés az oxálecetsav (11. A ábra), a citromsav (12. A ábra) és a fumársav (15. A ábra) esetén tendenciájában koncentrációfüggő volt, illetve a kontroll és a 300  $\mu\text{M}$ -os kadmium kezelés statisztikailag szignifikáns különbségeket mutatott (4. melléklet, 1-5 táblázat).

### Gyökér oxálecetsav tartalom

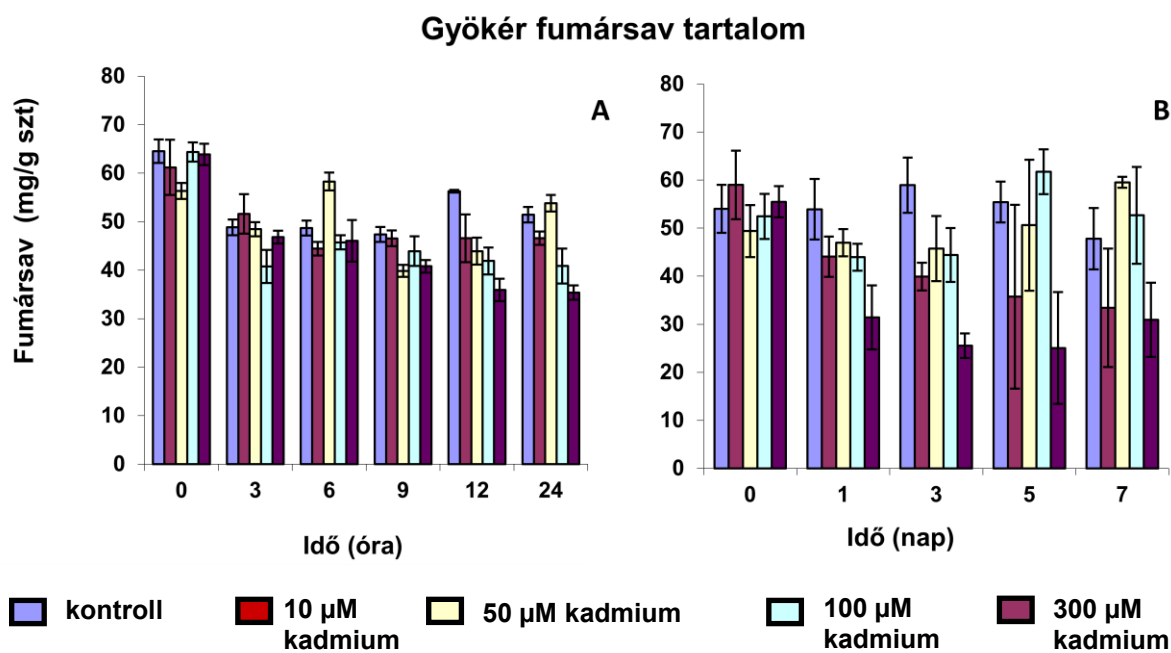


11. ábra. Árpacsíranövények gyökér oxálecetsav tartalmának változása egy napos (A) és egy hetes (B) kadmium kezelés során.

Az egy hetes kezelés második mintavételi alkalmával, ami a kezelés után 24 órával történt, az egy napos kísérlet eredményeihez hasonló változásokat tapasztaltam. A csökkenő tendencia itt azonban az összes szerves sav esetében fennállt (11-13. ábra) és statisztikailag szignifikáns volt a citromsav, az almasav és a fumársav esetében (4. melléklet, 12, 13, 15. táblázat).



12. ábra. Árpa csíranövények gyökér citromsav tartalmának változása egy napos (A) és egy hetes (B) kadmium kezelés során.

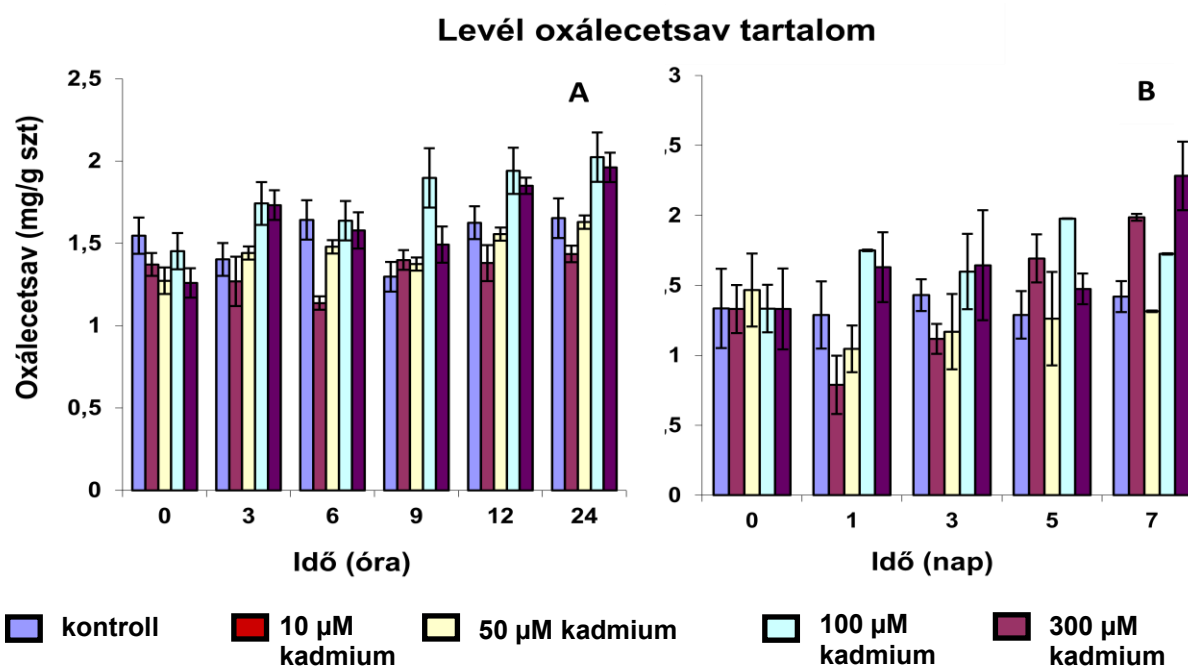


13. ábra. Árpa csíranövények gyökér fumársav tartalmának változása egy napos (A) és egy hetes (B) kadmium.

#### 4.1.7.2 Egy napos és egy hetes kadmium kezelés hatása árpa (*Hordeum vulgare* L.) csíranövények levél szerves sav tartalmára

A levélben az egy napos kísérlet során mért szerves sav mennyiségekből megállapítható, hogy a kezelést követő első három órában nem változtak (14-18 A. ábra), illetve a harmadik, hatodik és a kilencedik órában tapasztalt változások nem voltak számottevőek, illetve statisztikailag nem voltak igazolhatóak (4. melléklet, 6-10. táblázat).

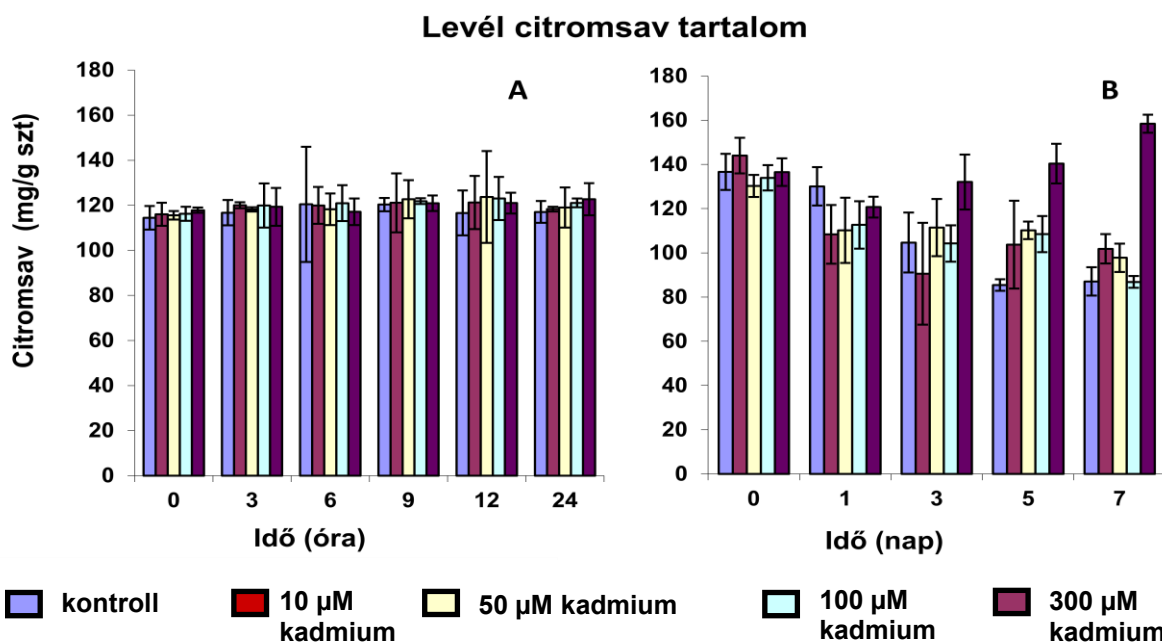
A tizenkettedik órában az összes vizsgált szerves sav tendenciájában koncentrációt követő, statisztikailag elkülönülő növekedést mutatott, az *oxálecetsav*, a *citromsav*, az *almasav* és a *borostyánkősav* esetében (4. melléklet, 6, 7, 8, 9. táblázat).



14. ábra. Árpa csíranövények levél oxálecetsav tartalmának változása egy napos (A) és egy hetes (B) kadmium kezelés során.

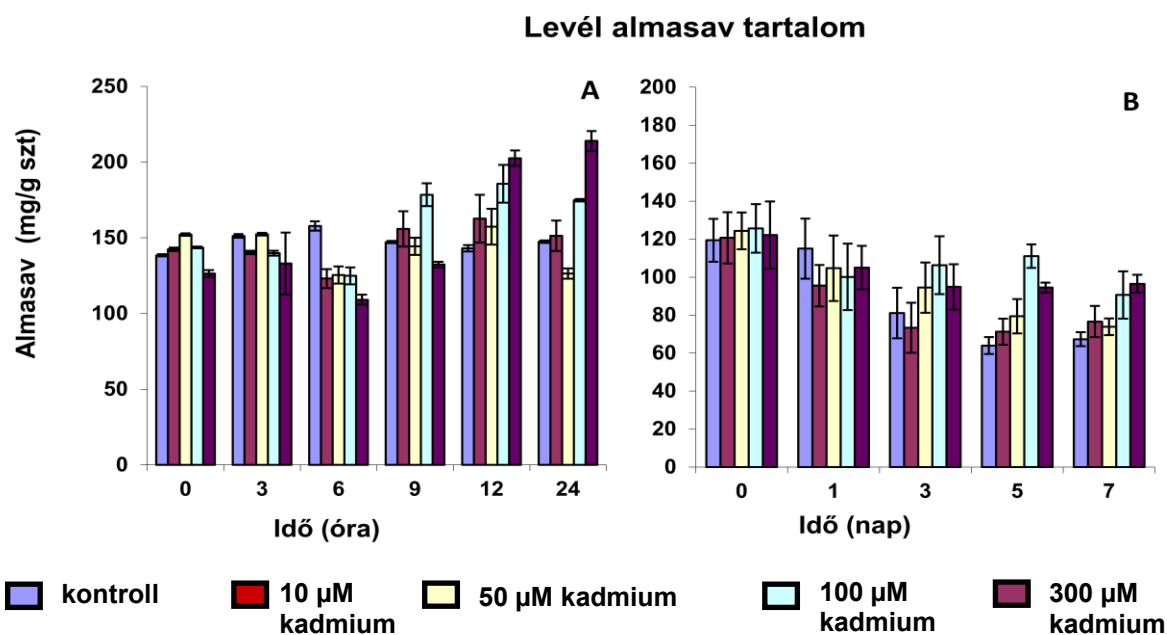
A huszonnegyedik órában a *citromsav* (15. A ábra), *almasav* (16. A ábra), *borostyánkősav* (17. A ábra) és a *fumársav* (18. ábra) esetén mutattam ki statisztikailag szignifikáns növekedést (4. melléklet, 7, 8, 9, 10. táblázat).

Az egy hetes kísérletre vonatkozólag a levél *oxálecetsav* tartalmában a kezelést követő első napon növekedést tapasztaltam (14B. ábra). A kísérlet hetedik napján ez a növekedés statisztikailag is szignifikáns volt (4. melléklet, 16. táblázat).



15. ábra. Árpa csíranövények levél citromsav tartalmának változása egy napos (A) és egy hetes (B) kadmium kezelés során.

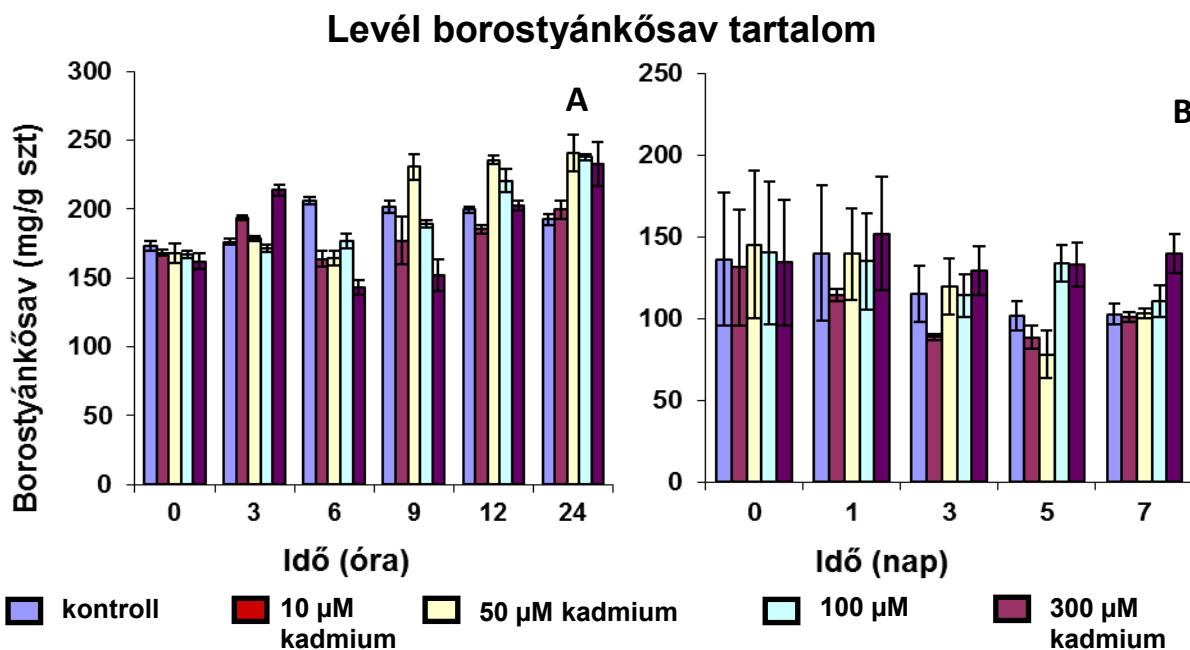
*Citromsav* esetén (15B. ábra) a 300 µM kadmium kezelés okozott növekedést a kísérlet harmadik napjától és az ötödik, illetve a hetedik napon már statisztikailag is szignifikáns volt (4. melléklet, 17. táblázat).



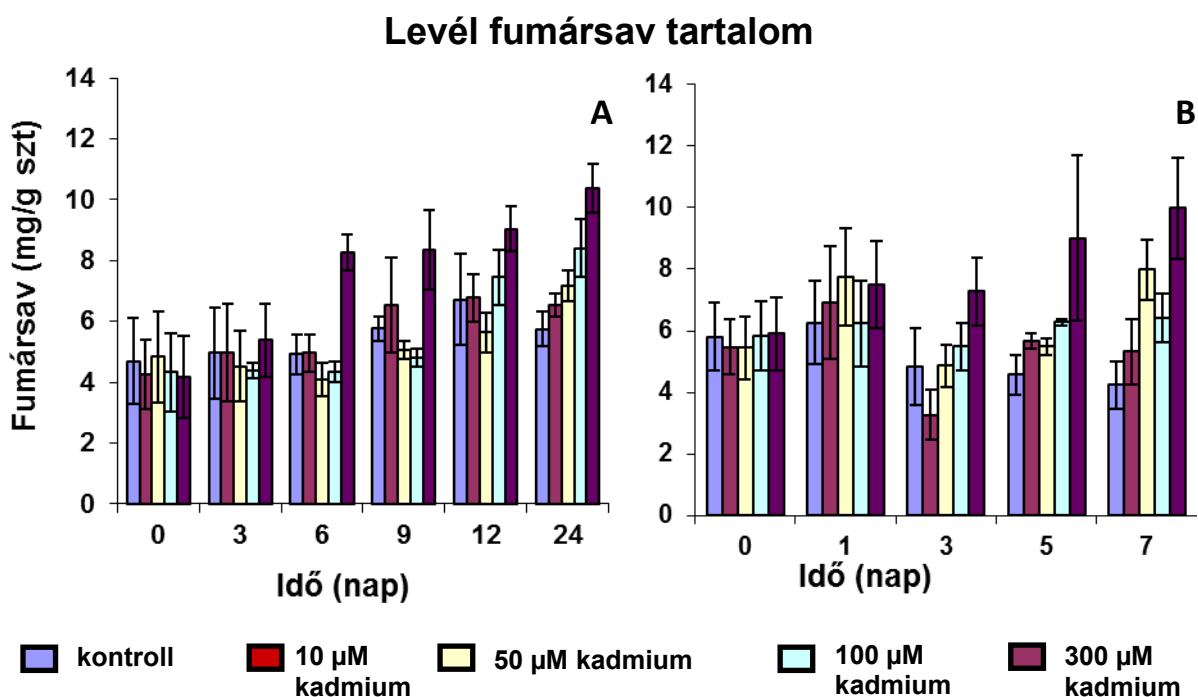
16. ábra. Árpa csíranövények levél almasav tartalmának változása egy napos (A) és egy hetes (B) kadmium kezelés során.

*Almasav* esetén a kísérlet időtartamában csökkenés tapasztalható a kontroll mennyiségében, viszont a harmadik naptól a kezelések almasav tartalom növekedést eredményeztek (16B. ábra). Ez a növekedés - a citromsavhoz hasonlóan - az ötödik naptól szignifikáns a kontroll és a 300 µM kadmiummal kezelt növények között (4. melléklet, 18. táblázat).





17. ábra. Árpa csíranövények levél borostyánkősav tartalmának változása egy napos (A) és egy hetes (B) kadmium kezelés során.



18. ábra. Árpa csíranövények levél fumársav tartalmának változása egy napos (A) és egy hetes (B) kadmium kezelés során.

A *borostyánkősav* tartalom is csökkenő tendenciát mutatott a kísérlet első három napján, viszont az ötödik naptól a 100 és a 300 µM kezelések eredményeztek növekedést, ami a hetedik napon csupán a 300 µM- os kezelésnél maradt meg és szignifikáns volt (17B. ábra, 4. melléklet, 19. táblázat).

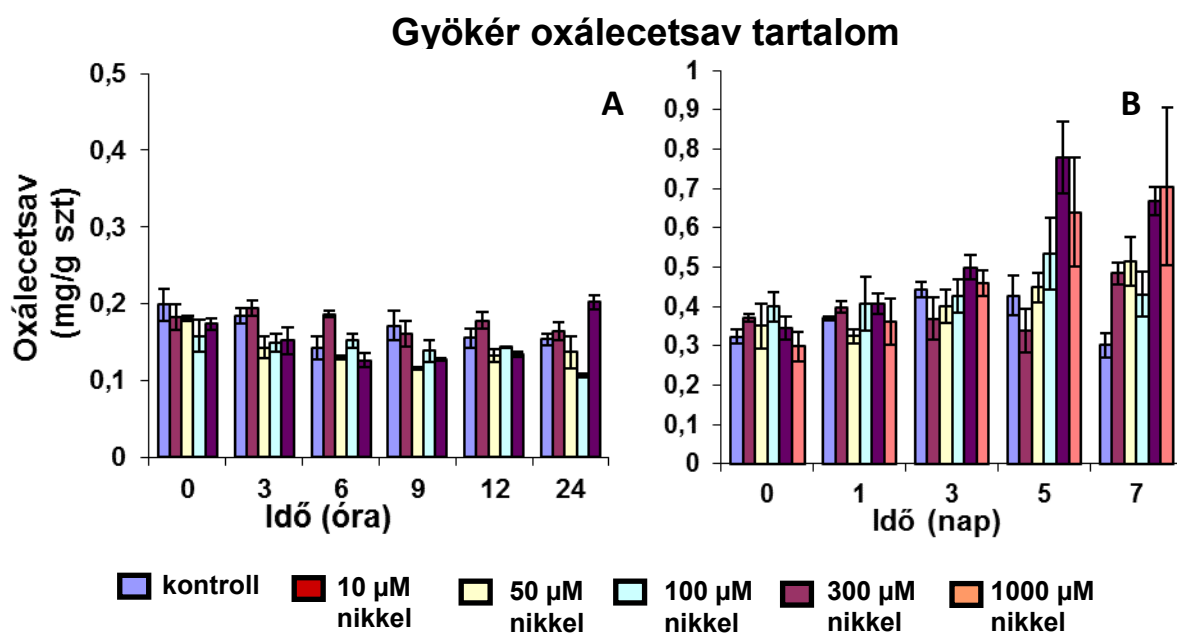
A *fumársav* tartalom kontroll értéke is csökkenő tendenciát mutatott a kísérlet harmadik napjától egészen a végéig, viszont a 300  $\mu\text{M}$  kadmiumos kezelés a harmadik naptól a kontrollhoz képest, nem szignifikánsan, de növekedést eredményezett (18B. ábra, 4. melléklet, 20. táblázat).

#### 4.1.8 Nikkel kezelés hatása árpa (*Hordeum vulgare* L.) csíranövények szerves sav tartalmára

##### 4.1.8.1 Egy napos és egy hetes nikkkel kezelés hatása árpa (*Hordeum vulgare* L.) csíranövények gyökér szerves sav tartalmára

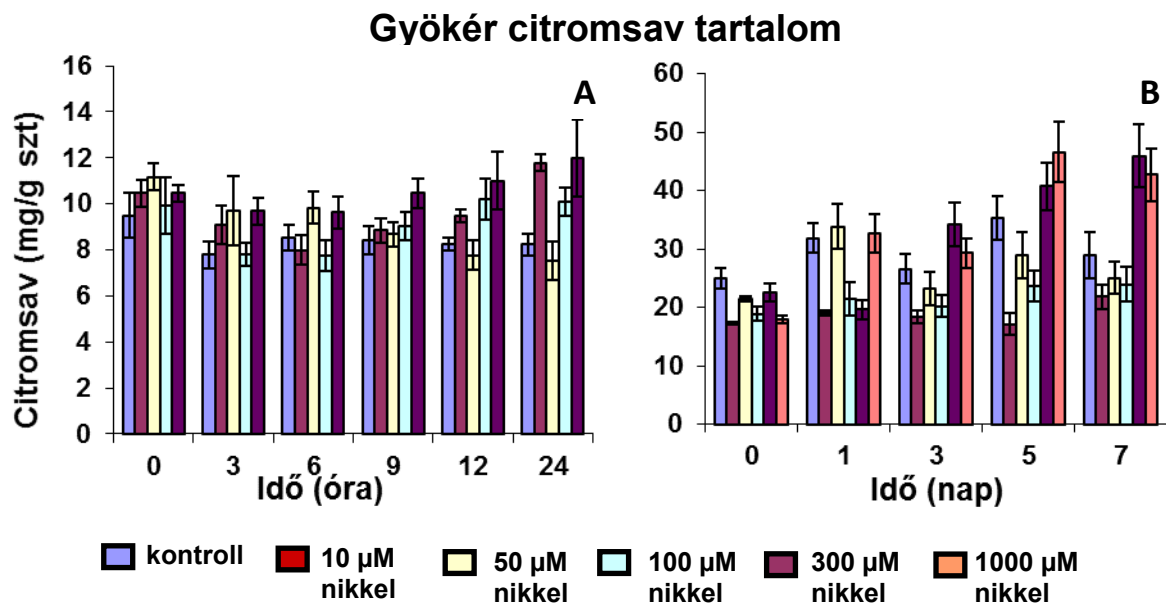
A következőkben mutatom be a nikkkel kezelés árpa csíranövények szerves sav mennyiségeire gyakorolt hatását.

Általánosságban megfigyelhető, hogy a gyökér szerves sav tartalma a kontroll növények esetén az egy napos nikkkel kezelés során az almasav (21. ábra) kivételével savtípusonként viszonylag állandó volt.



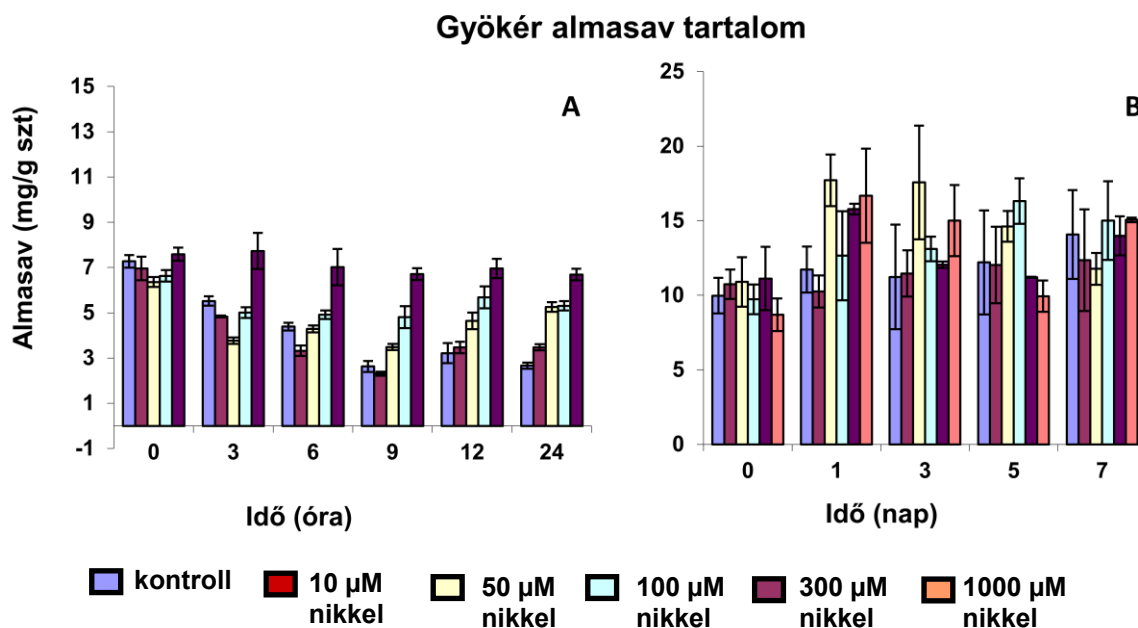
19. ábra. Árpa csíranövények gyökér oxálecetsav tartalmának változása egy napos (A) és egy hetes (B) nikkkel kezelés során.

Az oxálecetsav tartalomban (19A. ábra, 4. melléklet, 21. táblázat) a kísérlet 5. napjától koncentrációfüggő tendenciózus növekedést tapasztaltam a kontrollhoz képest az összes alkalmazott koncentrációra nézve és ez a tendencia a kísérlet utolsó mintavételi napján szignifikáns volt (19B. ábra).



20. ábra. Árpa csíranövények gyökér citromsav tartalmának változása egy napos (A) és egy hetes (B) nikkellel kezelés során.

A citromsav tartalom az 1000 μM-os nikkellel koncentráció esetén a 12. és a 24. órai mintavétel során szignifikánsan megnőtt a kontroll értékeihez képest (20A. ábra, 4. melléklet, 22. táblázat).



21. ábra. Árpa csíranövények gyökér almasav tartalmának változása egy napos (A) és egy hetes (B) nikkellel kezelés során.

A kísérlet 5. napjától a citromsav esetén is - hasonlóan az oxálcetsavhoz - koncentráció függő növekedést tapasztaltam (20B. ábra). A fentebb említett egységes kontroll savmennyiségek alól kivétel az *almasav*, amelynek kontroll értékei a kísérlet során csökkentek, ezzel szemben a nikkellel kezeléseket a kontrollhoz képest- jelentős almasav tartalom növekedésben nyilvánultak meg. A kísérlet kezdetétől számított harmadik órától szignifikánsan elkülönül a kontroll és a 300

$\mu\text{M}$  nikkell kezelés almasav tartalomra gyakorolt hatása (21A. ábra), illetve a 24. órában már az összes kezelés szignifikáns különbségeket eredményezett (4. melléklet, 23. táblázat).

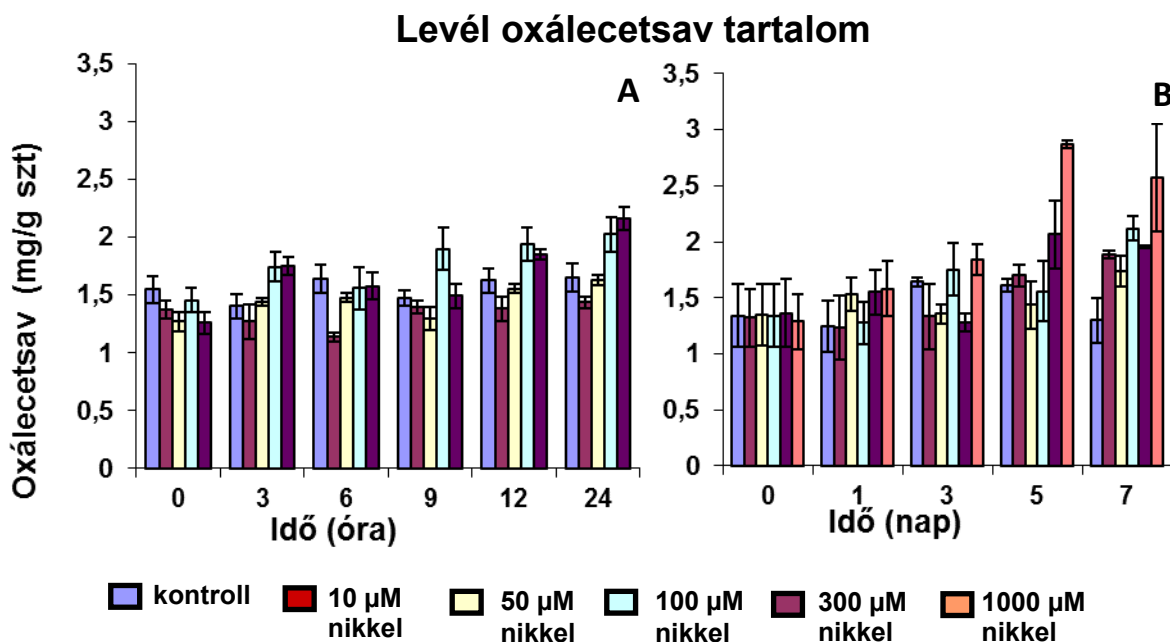
Az egy hetes kísérleti beállításban az almasav és a borostyánkősav értékek növekedtek a kezelés napjai során, ám szignifikáns különbséget nem állapítottam meg. A kezeléseknél tulajdonítható viszonylagos növekedést a statisztikai elemzés nem támasztja alá (4. melléklet, 33, 34. táblázat).

A *borostyánkősav* tartalomban (4. melléklet), a nem tendenciózus 24. órás mintavétel kivételével a kísérlet végére nem voltak szignifikáns különbségek a kezeléseknél (4. melléklet, 33, 34. táblázat).

A *fumársav* tartalomban a kísérlet 3. napjától általános savmennyiség csökkenés tapasztalható, de a nikkellel kezelt savtartalma a kontrollhoz képest kevésbé csökkent (4. melléklet, 25. táblázat). Az egy hetes kísérlet során a fumársav értékei ellentétesek voltak és kifejezett csökkenést mutattak a kiindulási értékekhez képest.

#### 4.1.8.2 Egy napos és egy hetes nikkell kezelés hatása árpa (*Hordeum vulgare* L.) csíranövények levél szerves sav tartalmára

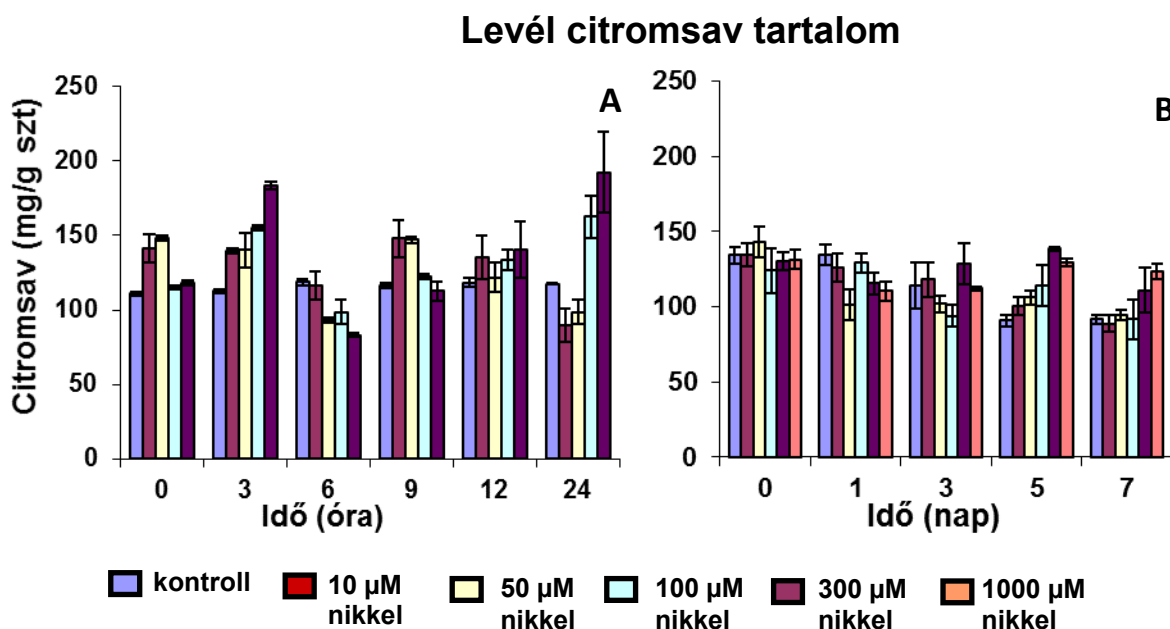
Levél esetén a nikkell hatása a korábbiaknál jóval kifejezettebb és tendenciózusabb. A levél szerves sav tartalmát egy általános és a nikkell kezeléssel összefüggésbe hozható növekedés jellemezte az egynapos kísérlet során (22-26 ábra).



22. ábra. Árpa csíranövények levél oxálecetsav tartalmának változása egy napos (A) és egy hetes (B) nikkell kezelés során.

*Oxálecetsav* (22A. ábra) esetén már a kezelést követő 3. órában különbségek mutatkoztak az egyes kezelések között, de koncentráció függő, statisztikailag szignifikáns különbséget a 24. órai

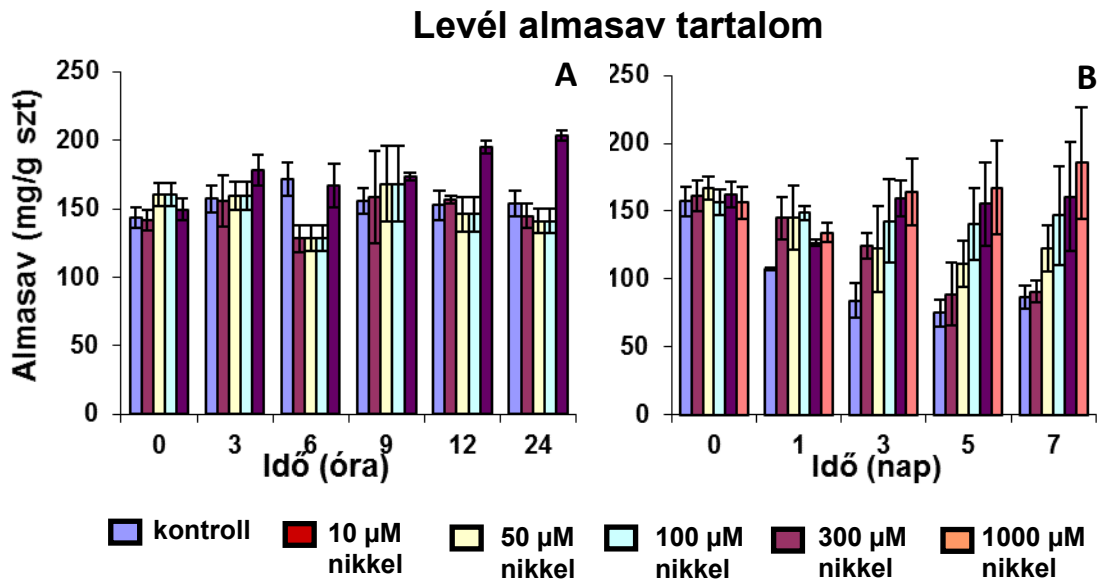
mintavétel során tapasztaltam, amikor a 100 és a 200  $\mu\text{M}$  nikkellel kezelték szignifikánsan elkülönültek a többi kezeléstől (4. melléklet, 26. táblázat). Az egy hetes kísérletben az 5. és a 7. napon a 300 és az 1000  $\mu\text{M}$ -os kezeléseknél szignifikánsan magasabb volt a kontrollhoz képest (22B. ábra, 23B. ábra).



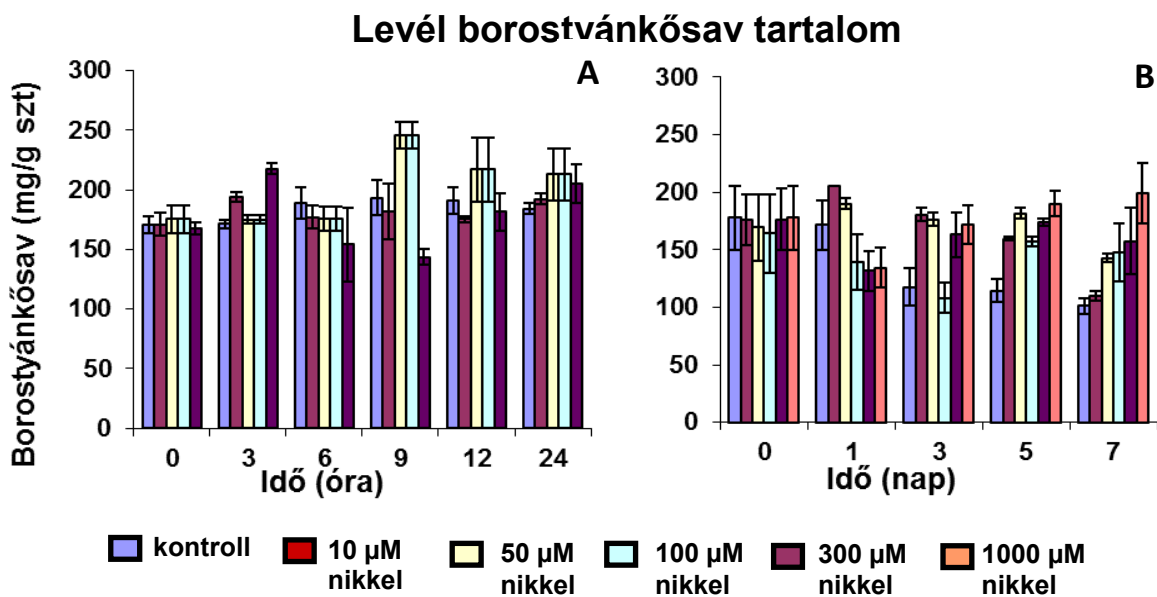
23. ábra. Árpa csíranövények levél citromsav tartalmának változása egy napos (A) és egy hetes (B) nikkellelkezelés során.

A citromsav (23. ábra) tartalmában is ugyanez a tendencia jelenik meg a 24. órában, de ott a sav tartalom értékei jelentősen magasabbak voltak. Az *almasav* tartalom a levélben állandónak tekinthető, egyedül a 300  $\mu\text{M}$ -os kezelés eredményezett szignifikánsan nagyobb *almasav* tartalmat a 12. és a 24. órákban (23A. ábra, 4. melléklet, 28. táblázat).

Az *almasav* tartalom az egy hetes kísérletben már az első naptól növekedést mutat a kontrollhoz képest az összes alkalmazott koncentrációban, de az adatok szórása csupán tendenciák megállapítását teszi lehetővé, szignifikáns különbségeket nem jelez (24. ábra), (4. melléklet, 4. melléklet, 28. táblázat).



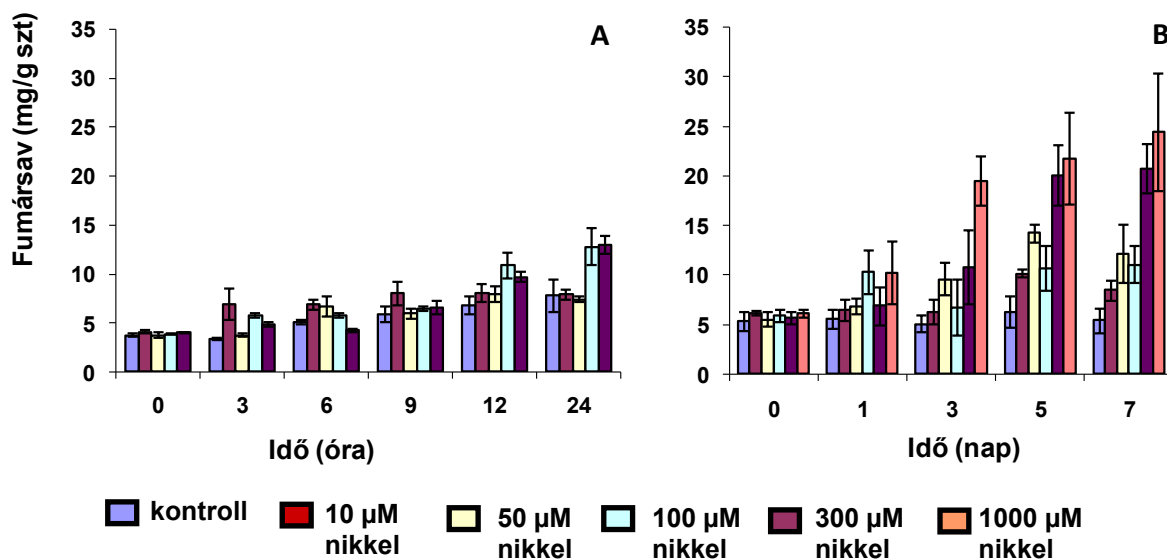
24. ábra. Árpa csíranövények levél almasav tartalmának változása egy napos (A) és egy hetes (B) nikkél kezelés során.



25. ábra. Árpa csíranövények levél borostyánkősav tartalmának változása egy napos (A) és egy hetes (B) nikkél kezelés során.

A *borostyánkősav* (25A. ábra) tartalmában a nikkél kezelés nem idézett elő tendenciózus és szignifikáns változásokat, az első nap során néhány kiugró értéktől eltekintve. A borostyánkősav tartalom (25B. ábra) a kísérlet 3., 5. és 7. napján már minden alkalmazott koncentrációban különbséget mutatott, de az utolsó napon a négy magasabb koncentráció is elkülönült a legalacsonyabbtól és a kontrolltól is.

## Levél fumársav tartalom



26. ábra. Árpacsíranövények levél fumársav tartalmának változása egy napos (A) és egy hetes (B) nikkell kezelés során.

*Fumársav* tartalomban azonban a nikkell kezelés jelentős és szingifikáns változásokat okozott (26. ábra, 4. melléklet, 30, 40. táblázat). A kontroll értékek is a duplájukra nőttek az egy napos kezelés során és ehhez képest a 12. és a 24. órában a két legnagyobb nikkell koncentráció szingifikánsan is nagyobb fumársav tartalmat eredményezett a levélben 24. óra (26A. ábra). A harmadik naptól pedig az 1000 µM-os kezelés szingifikánsan elkülönült a többitől, az 5. napon a kontroll, a 10 µM-os kezelés egyértelműen különbözött a többitől és a legnagyobb koncentráció több mint háromszoros növekedést mutatott a kontrollhoz képest. A kísérlet végére ez a különbség megközelítőleg ötszörös lett (26B. ábra).

### 4.1.9 A szerves sav tartalom változásainak értékelése

A kísérlet során vizsgált szerves savak részét képezik a citrát körnek, ezért nyilvánvaló volt, hogy mindkét növényi szervben kimutatható lesz az összes vizsgálni kívánt szerves sav. A kísérletekből azonban megállapíthatom, hogy a gyökérben és a levélben eltérő a szerves savak konstitutív, eredendően jelen lévő, mennyisége, illetve a mennyiségek a sav típusától függően is változtak.

A szerves sav mennyiségek annak ellenére változtak, hogy a kísérlet beállítása, illetve a mintavételi és minta feldolgozási körülmények azonosak voltak. Ez a tény az ismétlések alkalmával megnövelte a szórás értékét. BOOMINATHAN és DORAN (2003) *Thlaspi caerulescens* J.Presl & C.Presl növények gyökértenyészetén végzett kadmium és nikkell kezeléseket, majd almasav, malonsav és citromsav mennyiségi meghatározásokat. Eredményeikben hasonlóan az árpán végzett kísérleteimhez a szerves savak konstitutív

mennyiségi ingadozását tapasztalták, amit a szerves savak diurnális mennyiségének változása okozhatott (ANDERSEN *et al.*, 1993). Másrészt, mivel szövetkivonat mindkét esetben ugyanolyan eljárással készült, előfordulhat, hogy maga a kivonat instabil lehet (BOOMINATHAN és DORAN, 2003). Egy-egy mintavétel során 10 növény gyökeréből és leveléből készítettem a szövetkivonatot, így az önkényes mintavételből adódó hiba lehetőségét kizárhatjuk.

A levélben a nagy konstitutív mennyiségű szerves savak (almasav, citromsav, bborostyánkősav) kontroll értékei az egy hetes kadmium kezelés során csökkentek, ami a normális növekedési folyamatok következménye lehet, hiszen a csíranövény kialakulása intenzív szintetikus folyamatokat, így intenzív anyagcserét igényel, különösen a föld feletti részekben. A gyökérnél, amelynek a növekedése a levélhez képest kevésbé intenzív, ez a csökkenés nem volt általános, csupán a fumársav esetében volt megfigyelhető.

A kísérlet tervezésénél fontos szempont volt annak meghatározása is, hogy a kezelést követően melyik az a legkorábbi időpont, amikor a nehézfém stressz által indukált anyagcsere változások kimutathatóak.

A kadmios kezelés a gyökérben általánosságban szerves sav csökkenést okozott, de tendenciózus, koncentráció követő csökkenés legkorábban a kezelést követő 12. órában volt kimutatható a fumársav esetén, majd ez a csökkenés tovább folytatódott a 24. órában, illetve ekkor már a fumársav mellett a citromsav, az almasav és az oxálecetsav is szignifikánsan csökkent a legnagyobb koncentrációban. A tapasztalt csökkenés oka valószínűleg a gyökér exudátum kibocsátás. A növényi nehézfém stressztolerancia egyik formája a fém által indukált gyökér exudátumok kibocsátása a rhizoszférába. Ezáltal, a talajban felvehető állapotban rendelkezésre álló nehézfémet komplexálja és a gyökér már a fiziológiailag inaktív formájú komplexet veszi fel és továbbítja a vakuólumba, ezáltal kivonja az anyagcseréből. Mivel a szerves sav mennyiség csökkenést éppen a kelatálásban leggyakrabban részt vevő savaknál tapasztaltam, valószínűsíthető, hogy ez a jelenség a kadmium kezelés által előidézett stresszválasz volt. Emellett a kadmium jobb kompetitora az ioncsatornáknak, mint a tápelemek pl. a  $K^+$ , vagy a  $Ca^{2+}$  (LINDBERG *et al.*, 2004). Ezt az indirekt tápelem hiányt kompenzálhatja a növény a talaj pH-jának csökkentésével, amit szerves sav exudátum kibocsátásával ér el.

A gyökérben az első nap során tapasztalt csökkenés után a citromsav tartalom a harmadik naptól szignifikáns növekedést mutatott, ami arra utal, hogy ez a sav már a belső komplexálási folyamatokban is részt vehet, kadmium-citrát komplexet alkotva (BRYNHILDSSEN és ROSSWALL, 1989), ezt azonban mennyiség mérésekkel kell bizonyítani.

A levélben a kadmium kezelésnek tulajdonítható szerves sav tartalom változás a kezelést követő első három órában nem történt, utána viszont általános növekedés történt, ami azonban csak a



kezelést követő 12. órától volt szignifikáns és csak a legnagyobb koncentrációnál. A kisebb kadmium koncentrációknak nem volt kimutatható hatása a szerves sav tartalomra sem a gyökérben, sem a levélben.

A szerves sav mennyiség-növekedés nagy valószínűséggel a kadmium mérgezés másodlagos hatásának az eredménye, amikor a növényt érő általános stressz következtében megnő az energiaigény. Ahhoz, hogy a növény képes legyen a fémet kiszorítani a citoplazmából, az ATP felhasználás 10 - 30 % - kal is megnőhet, ami intenzívebb légzést igényel, így a citromsav ciklus szerves savainak szintézise általánosságban is intenzívebb lesz (LAMOREAUX és CHANEY, 1978).

A kadmium *in vitro* komplexet képez az almasavval (UENO *et al.*, 2005), és mivel a levélben az almasav volt az egyedüli szabad szerves sav, ami csökkent a kadmium kezelést követően, így nagy a valószínűsége annak, hogy az almasav megköti a kadmiumot.

A nikkkel kezelés szerves sav mennyiségekre gyakorolt hatása tendenciáiban eltérő volt a kadmium kezeléseknél tapasztaltaktól. Jelen esetben általános volt a szerves savak mennyiségi növekedése mindkét vizsgált növényi szervben és már alacsonyabb koncentrációk alkalmazásánál is.

A gyökér esetén a leggyorsabban az almasav mennyiségi változása reagált a nikkkel kezelésre, mivel már a harmadik órától megnőtt a mennyisége, de ez a növekedés csupán a 24. órára lett szignifikáns. A citromsav, borostyánkősav és a fűmársav a 12. órától növekedést mutatott. Leglassabban az oxálecetsav mennyiség reagált a nikkkel kezelésre, itt csupán a 24. órától volt növekedés.

A levelek vizsgálata esetén azt tapasztaltam, hogy az oxálecetsav tartalom már a kezelést követő 3. órától növekedésnek indult, de szignifikánsan nagyobb értékeket, csupán egy nap elteltével mértem. Az almasav és a fűmársav a 12. órától indult növekedésnek, míg a citromsav mennyisége csupán a 24. órára változott meg szignifikánsan. Az egy hetes nikkkel kezelésnél jónak láttam egy, a korábbiaknál nagyobb koncentráció (1000  $\mu\text{M}$ ) használatát, annak érdekében, hogy a hatásokat jobban el tudjam különíteni. Egy hetes nikkkel kezelés hatására a gyökérben az ötödik naptól volt jelentősebb szerves sav mennyiség növekedés, míg a levélben a fűmársav mennyiség már az első naptól megnőtt, ezt követte a harmadik napon az almasav, borostyánkősav, majd az ötödik naptól az oxálecetsav és a citromsav mennyiségek indultak növekedésnek. TATÁR *et al.*, (2000) szerint az uborka xilém nedv vizsgálatánál a citromsav, az almasav és a fűmársav jelenléte arra utal, hogy ezen három sav szerepet játszik a nikkkel szállításában. A kísérleteimben az oxálecetsav és a borostyánkősav mennyisége is megnőtt, ami a malát dehidrogenáz és a szukcinil KoA szintetáz aktivitásának növekedését feltételezi. Ezt azonban mérési eredményekkel kell alátámasztani, mert az irodalomban kadmium kezelés

hatására éppen malát dehidrogenáz enzim aktivitás csökkenést tapasztaltak (BANSAL és SHARMA, 2002). Eredendően a citromsav és az almasav van a legnagyobb mennyiségben, az árpa levélben, amelyek úgy ismertek, mint a nikkelt a vakuólumba szállító vegyületek (TATÁR *et al.*, 2000; BROOKS *et al.*, 1981). Ez a tény azonban még nem zárja ki más szerves savak szerepét a vakuólumban történő megkötésben. A citromsav és az almasav mennyiségének növelése érdekében, először a citromsav ciklus más intermedierjeinek (oxálecetsav és fumársav) intenzívebb szintézisére van szükség, másrészt a nehézfém hatás mitokondriális elektron kiáramlást is okoz, ami oxigén szabad gyökök keletkezését generálja, amelyeknek a lehetséges helye a LHCI és a citokróm b régió (LUND *et al.*, 1991). Az elektron transzport lánc változása is okozhatja az oxálecetsav és a fumársav mennyiségének gyors növekedését.

Kísérleteim eredményeként megállapítható, hogy mindkét nehézfém hatással van az árpa szerves savainak mennyiségére és ez a hatás már a stressz kialakulásának korai szakaszában mérhető kisebb koncentrációk esetén is. Kadmium esetében a gyökérben legkorábban a kezelést követő 12. óra elteltével, a szerves savak közül elsőként, a fumársav csökkenését tapasztaltam. A levélben a 3. naptól tapasztaltam almasav növekedést a kontrollhoz képest. Ezzel szemben a nikkellezésre sokkal gyorsabban reagált a növény a szerves savak mennyiségi változásával: a gyökérben az almasav-, a levélben az oxálecetsav a kontrollhoz képest már a kezelést követő 3. órában megnőtt.

Eredményeim informatívak lehetnek a korai stressz hatások detektálásában, hiszen MONTARGÈS-PELLETIER *et al.* (2008) például azt tapasztalták, hogy röntgen abszorpciós spektroszkópiai vizsgálatokkal számos hasznos információt lehet szerezni a nikkelt kelatációról, azonban a gyökér alacsony nikkelt koncentrációja miatt nem tudtak értékelhető jelet fogni. A szerves sav mérések segítségével azonban a gyökérben is kimutatható a nikkeltstressz megléte. Emellett a kadmium és a nikkelt eltérő fiziológiás hatása is megnyilvánult a szerves sav mennyiségi változásokban.

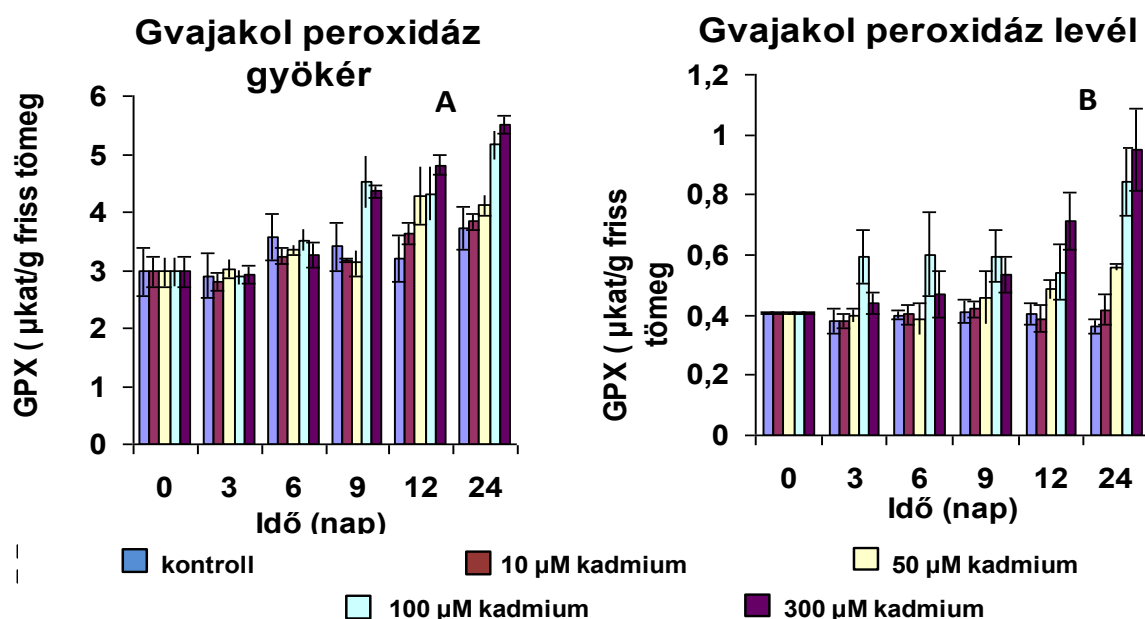
Összességében a szerves savak mennyiségváltozásának mérése alkalmas a nehézfém felhalmozódás dinamikájának nyomon követésére, így a stressz korai detektálására, akkor, amikor a klasszikus stresszdetektálási módszerek még nem szolgáltatnak információt a növény állapotáról.

#### 4.1.10 Kadmium és nikkell hatása árpa (*Hordeum vulgare* L.) csíranövények antioxidatív enzimaktivitására

##### 4.1.10.1 Egy napos és egy hetes kadmium kezelés hatása a GPX és az APX enzimek aktivitására

Elsőként a gvajakol peroxidáz aktivitásának változását mutatom be egy napos kadmium kezelés hatására. Az enzimaktivitás a gyökérben összességében hétszer olyan intenzív volt, mint a levélben.

A gyökér GPX aktivitása nem változott a kezelés első hat órájában, majd a kilencedik órától elindult az aktivitás növekedés (27A. ábra). Elsőként a két legnagyobb koncentráció, a 100 és a 300  $\mu\text{M}$  kadmiummal kezelt növények GPX aktivitása nőtt meg és ekkor már oly mértékben, hogy statisztikailag is szignifikáns volt (5. melléklet, 1. táblázat). A tizenkettedik és a huszonnegyedik órában tovább folytatódott a GPX aktivitás növekedés, ami szintén szignifikáns volt és a tizenkettedik órától már a két alacsonyabb koncentráció is enzimaktivitás növekedést eredményezett (27A. ábra).



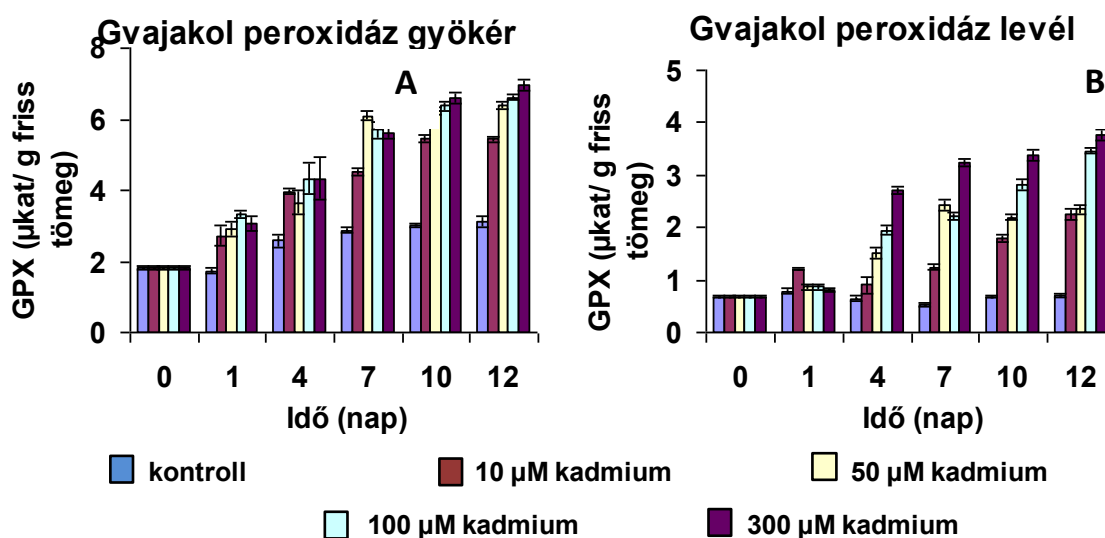
27. ábra. Egy napos kadmium kezelés hatása árpa csíranövények gyökér (A) és a levél (B) gvajakol peroxidáz aktivitására.

A levél egy napos kadmium kezelése során (27B. ábra) a kezelést követő harmadik órában már szignifikáns GPX aktivitás növekedést figyeltem meg a 100  $\mu\text{M}$ -os kezelésnél (5. melléklet, 1. táblázat).

A kezelési koncentrációkat arányosan követő GPX aktivitás növekedés egészen a kísérlet utolsó mintavételi időpontjáig fennállt. Ekkorra a 300  $\mu\text{M}$  kadmiumos kezelés megközelítőleg

háromszorosára növelte a GPX aktivitást (5. melléklet) és a két legnagyobb koncentráció esetén szignifikáns növekedést eredményezett.

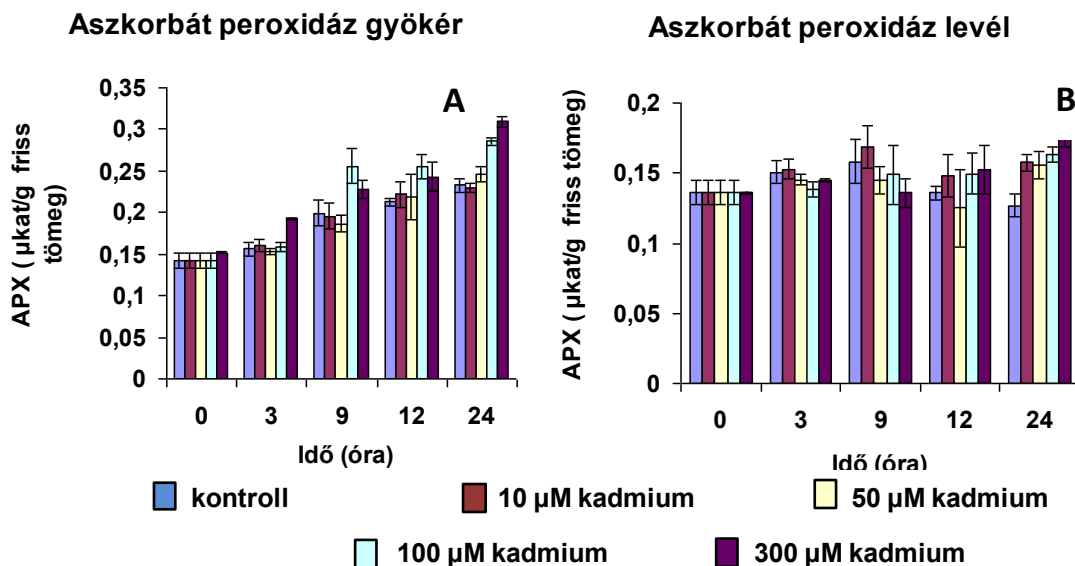
A gyökér egy hetes kadmium kezelése jelentős GPX aktivitást eredményezett. Folytatva az egynapos kísérlet tendenciáit, a GPX aktivitások növekedése tovább folytatódott és az első naptól minden alkalmazott koncentráció szignifikánsan elkülönült a kontrolltól (5. melléklet, 3. táblázat). A hetedik naptól a legalacsonyabb (10  $\mu\text{M}$ ) koncentráció is szignifikánsan elkülönült a magasabb kadmium koncentráció által előidézett aktivitásnövekedésektől (28A. ábra).



28. ábra. Tizenkét napos kadmium kezelés hatása árpa csíranövények gyökér (A) és a levél (B) gvajakol peroxidáz aktivitására.

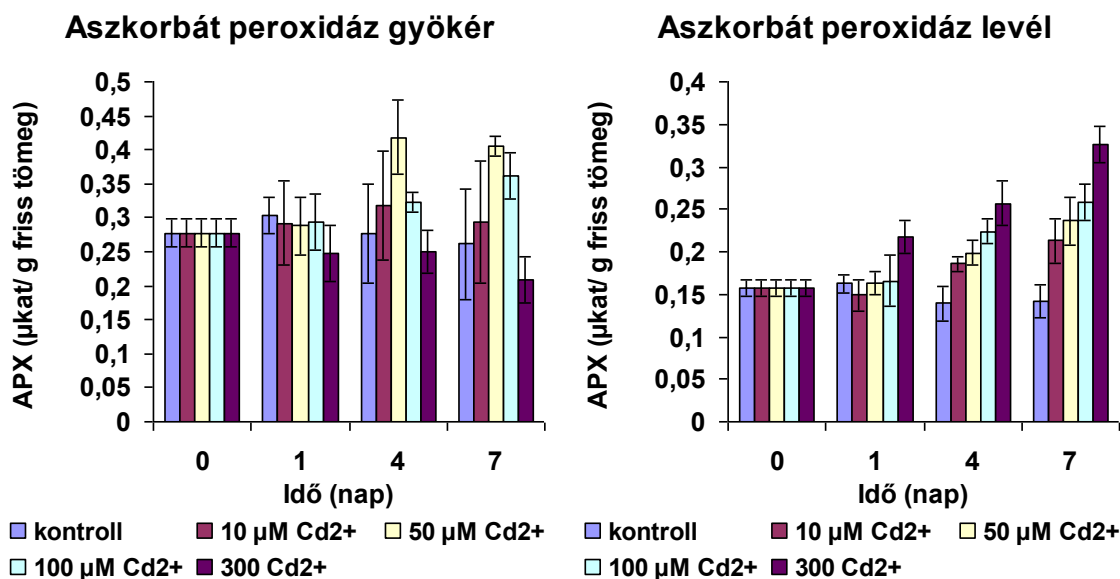
A tizenkettedik napon a kezelések hatásaként a GPX aktivitás a kiinduló érték közel 3 - 3,5-szeresére nőtt (28A. ábra). A tizenkettedik napon a 300  $\mu\text{M}$  kadmium kezelés a kontrollhoz képest hatszorosára növelte a GPX aktivitást (28A. ábra).

A levél GPX aktivitásában a negyedik naptól a legalacsonyabb koncentráció kivételével az összes kezelés szignifikánsan elkülönült a többitől és a szignifikáns különbségek a kísérlet teljes időtartamában fennmaradtak (28 B. ábra).



29. ábra. Egy napos kadmium kezelés hatása árpa csíranövények gyökér (A) és a levél (B) aszkorbát peroxidáz aktivitására.

Az APX enzim aktivitási értékei konstitutív mennyiségüket tekintve a gyökérben és a levélben megközelítőleg azonosak voltak (29. ábra). Az enzim aktivitása a gyökérben a kísérlet 9. órájától a két legnagyobb koncentrációnál növekedésnek indult és a 300 µM-os kadmium kezelésnél szignifikánsan megnőtt. Ez a növekedés a kísérlet teljes időtartamában tovább folytatódott és a 24. órára elérte a 0,0391 µkat/g fr.t. –es szignifikáns maximumot (5. melléklet, 2. táblázat). A levél APX aktivitás változása az gyökérhez képest alacsony volt és csupán a 24. órára lett szignifikáns (5. melléklet, 2. táblázat).



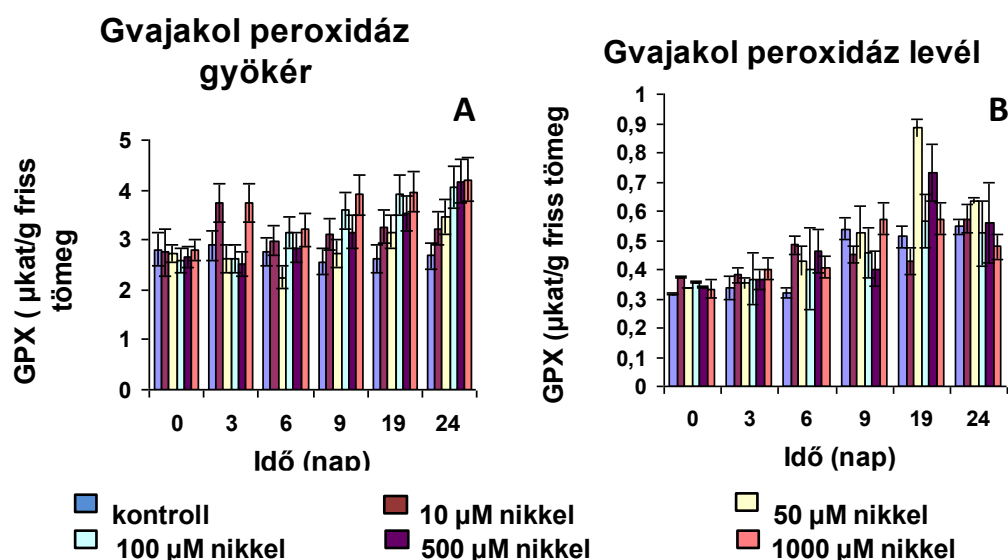
30. ábra. Egy hetes kadmium kezelés hatása árpa csíranövények gyökér (A) és a levél (B) aszkorbát peroxidáz aktivitására.

A gyökér (30A. ábra) APX aktivitása az egy hetes kísérlet során az alacsonyabb koncentrációnál növekedett, de a 4. naptól a 100 és a 300  $\mu\text{M}$ -os kezelés esetén csökkenést mutatott és a csökkenés a 7. napon is folytatódott.

A levélben (30B.. ábra) azonban a kísérlet első napjától a hetedikig minden alkalmazott koncentráció esetén folyamatos és a második mintavételi naptól statisztikailag szignifikáns növekedést tapasztaltam (5. melléklet, 4. táblázat).

#### 4.1.10.2 Egy napos és egy hetes nikkkel kezelés hatása a GPX és az APX enzimek aktivitására

A nikkkel kezelésnél a korábbiaknál több kezelési koncentrációt alkalmaztam, mivel a nikkkel toxicitása kisebb mértékű, mint a kadmiumé (TAMÁS *et al.*, 2008), így annak érdekében, hogy a kezelések különbségei a kísérlet időtartamában lehetőség szerint megmutatkozzanak, különösen, a rövid időtartamú egy napos kísérlet során - szükségesnek tartottam a nagyobb, 500 és 1000  $\mu\text{M}$ -os nikkkel kezelést is.

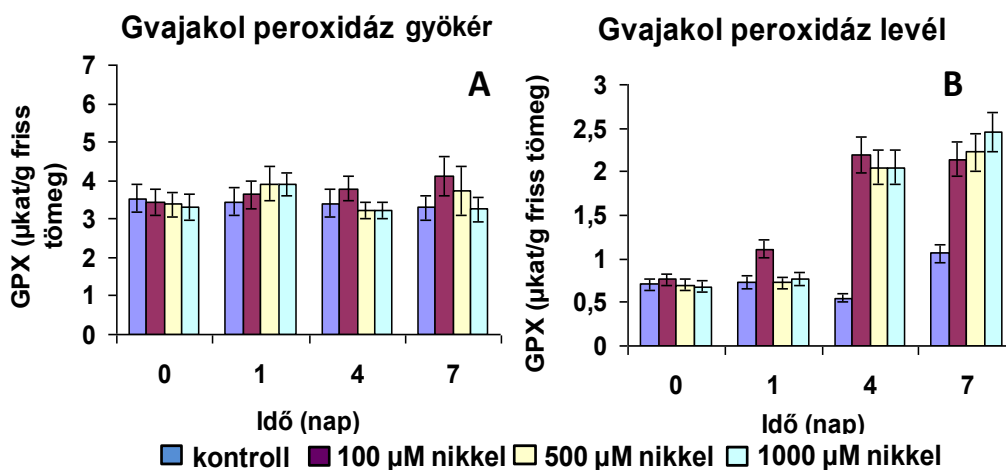


31. ábra. Egy napos nikkkel kezelés hatása árpa csíranövények gyökér (A) és a levél (B) gvajakol peroxidáz aktivitására.

A nikkkel kezelés a gyökér GPX aktivitását már a kísérlet 9. órájától szignifikánsan megnövelte és a 24. óráig megmaradt az aktivitás koncentrációt követő növekedése. A 10  $\mu\text{M}$ -os kezelésnél a 3. órában tapasztalt kiugró értéket az értékelésnél nem vettem figyelembe, csakúgy, mint a levél 50  $\mu\text{M}$ -os kezelését a 19. óránál (31.A.. ábra). A gyökér GPX aktivitás változása statisztikailag nem volt kimutatható (5. melléklet, 5. táblázat).

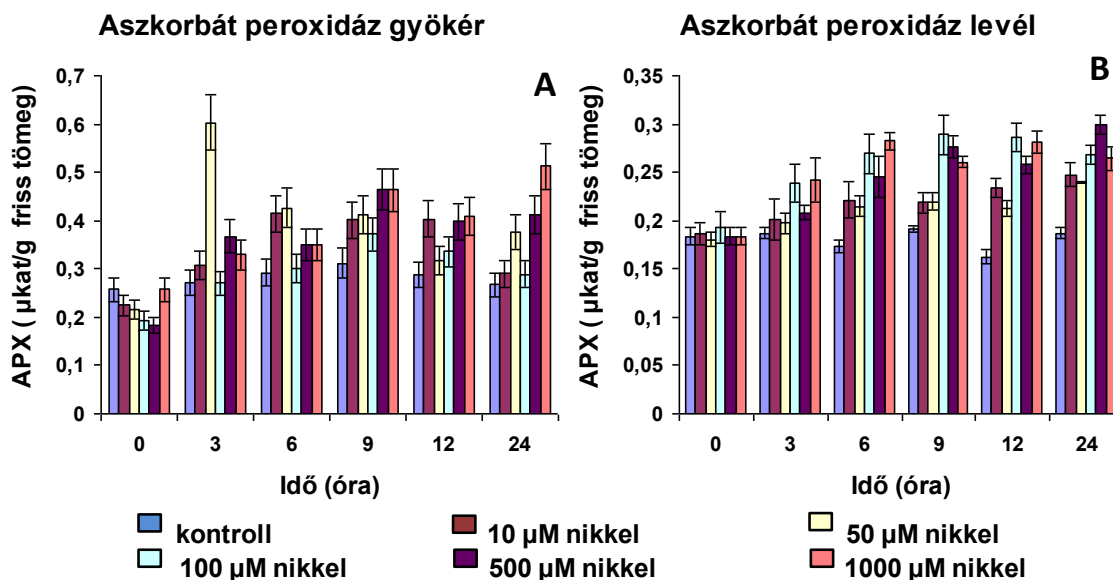
A levélnél az GPX aktivitás már a 3. órától növekedésnek indult (35B. ábra) és a 6. órától szignifikáns volt (5. melléklet, 5. táblázat). A 19. órától az 50, 100, 500 és 1000  $\mu\text{M}$ -os

kezelésnél GPX aktivitás csökkenést tapasztaltam, ami azonban nem volt szignifikáns, illetve az egy hetes kezelés eredményei (32B. ábra) nem erősítették meg. A levélben a 4. naptól minden alkalmazott koncentráció statisztikailag szignifikáns növekedést idézett elő (5. melléklet, 7. táblázat) és a GPX aktivitása közel duplájára nőtt a 4. és a 7. napon (32B. ábra).



32. ábra. Egy hetes nikkel kezelés hatása árpa csíranövények gyökér (A) és a levél (B) gvajakol peroxidáz aktivitására.

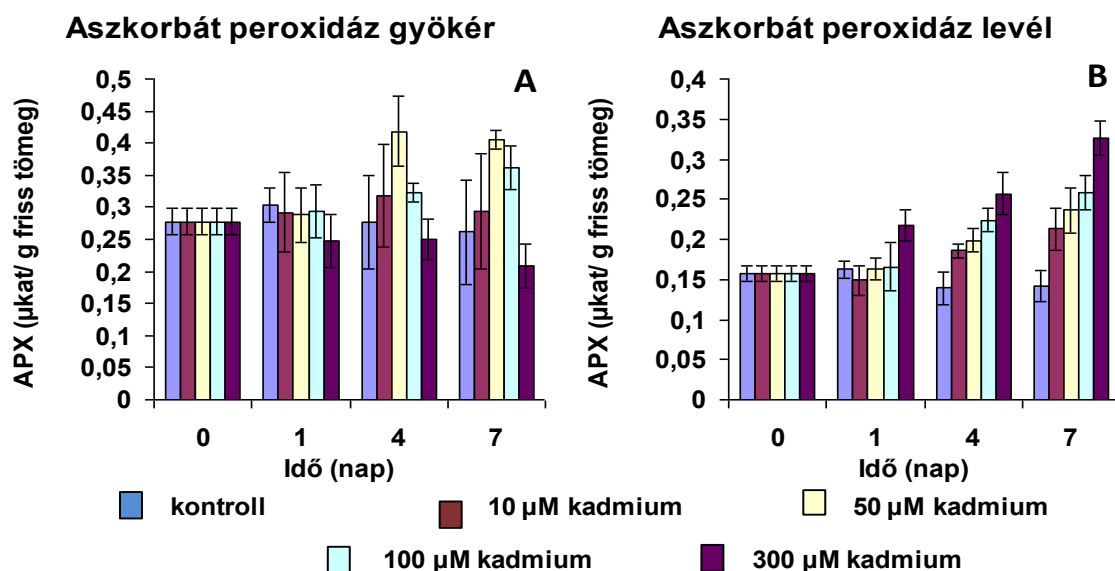
A nikkel kezelés hatásait az APX enzim aktivitására az alábbi két ábrán mutatom be (33-34. ábra).



33. ábra. Egy napos nikkel kezelés hatása árpa csíranövények gyökér (A) és a levél (B) aszkorbát peroxidáz aktivitására.

A gyökér APX aktivitása (33A. ábra) a 3. órától megnőtt (az 50  $\mu\text{M}$ -os kiugró értéket nem vettem figyelembe) és ez a növekedés minden alkalmazott koncentráció esetén a kísérlet teljes időtartamában fennállt. A 24. órában a két legnagyobb koncentráció szignifikánsan is elkülönült

a többitől és duplájára emelkedett (33A.. ábra, 5. melléklet, 6. táblázat). Az egy hetes kísérletben a gyökérben (34. ábra) a kísérlet kezdetén nem volt számottevő változás, majd a 4. naptól a nikkellel kezelt APX aktivitása csökkenni kezdett és a kontrollhoz képest szignifikáns APX aktivitás csökkenést figyeltem meg (34. A ábra). A 300  $\mu\text{M}$ -os kezelés eredményezte a legdrasztikusabb csökkenést.



34. ábra. Egy hetes nikkellel kezelt árpa csíranövények gyökér (A) és a levél (B) aszkorbát peroxidáz aktivitására.

Levél esetén (33B. ábra, 34B. ábra) a koncentrációt követő APX aktivitás növekedés a hatodik órától a kontrollhoz képest statisztikailag szignifikáns volt a növekedés, ami a magasabb koncentrációk esetén megközelítette a kontroll érték dupláját (37B. ábra). A levélben (38B. ábra) az APX aktivitás a negyedik naptól szignifikánsan nőtt a legnagyobb koncentrációjú kezelés esetén (5. melléklet, 8. táblázat).

#### 4.1.11 A gvajakol peroxidáz (EC 1.11.1.7.) és az aszkorbát peroxidáz (EC 1.11.1.11.) aktivitás változásainak értékelése

Az antioxidatív enzimek aktivitás mérését hosszú ideje alkalmazzák a növényélettani kutatásokban, mint stresszindikátort (HEGEDŰS *et al.*, 2001), mivel a legtöbb biotikus és abiotikus stressz zavart okoz a sejtek metabolikus egyensúlyában, így reaktív oxigén formák kialakulását idézi elő. Kísérleteim során ezért két antioxidatív enzim, az aszkorbát peroxidáz (EC 1.11.1.11.) és a gvajakol peroxidáz (EC 1.11.1.7.) aktivitását mértem mindkét nehézfém kezelést követően. A kísérleteket egy napos és egy hetes intervallumban végeztem, illetve, a teljesebb kép érdekében, a legnagyobb mennyiségben előforduló GPX-nél, tizenkét napos kezelést is beiktattam. Ennél az enzimmél az egy hetes kísérleti intervallum során várhatóan nem következik



be aktivitásgátlás és ilyen módon reméltem, hogy több információhoz jutok majd a stresszhatás kialakulásának időbeli dinamikájáról.

Általánosságban megállapíthatom, hogy az általam mért enzimaktivitás értékek összhangban álltak korábbi munkák (HEGEDŰS *et al.*, 2001; HORVÁTH *et al.*, 1996) eredményeivel, mind nagyságrendjükben, mind pedig abszolút értékükben. A kétféle időtartamú kísérlet eredményeinek interpretálása szempontjából jelen esetben is alapvető fontosságú volt a kiindulási értékek összevethetősége. Az enzimaktivitás mérések során azt tapasztaltam, hogy az egy napos kísérlet utolsó mintavételi időpontján (24. óra) vett minták és az egy hetes kísérlet második mintavételi időpontjának (24. óra) mintáiból a feldolgozás során kivont GPX (44. ábra, 45. ábra) és APX enzimek (46. ábra, 47. ábra) aktivitásai kis mértékű különbségektől eltekintve megfeleltethetők voltak egymásnak, ezért a két kísérlet időben folytonosnak tekinthető és összefüggésében értékelhető.

A két enzim változásai arról informáltak, hogy a kadmium és a nikkelt milyen mértékben és a növényen belül hol fejtették ki hatásukat a stresszhatás kialakulásának korai fázisában.

A kadmium szabadgyök képző hatása az irodalomban jól feltárt, ezzel szemben a nikkelt szabadgyökképző hatásáról a teljes növényre vonatkozólag viszonylag kevés adat áll rendelkezésre (HEGEDŰS *et al.*, 2001, GAJEWSKA és SKLODOWSKA 2007, BOOMINATHAN és DORAN, 2002, HAO *et al.*, 2006). Ezen munkák legtöbbje csupán egy növényi szövet vizsgál: a gyökeret (BOOMINATHAN és DORAN 2002, HAO *et al.*, 2006) vagy a föld feletti részeket (GAJEWSKA és SKLODOWSKA 2007). Eredményeim alapján a teljes növényről kaphatunk képet.

Az antioxidatív enzimaktivitások mérésénél annak érdekében, hogy a feltételezett károsító hatások markánsabban megjelenjenek, a nikkelt esetén két magasabb (500, 1000  $\mu\text{M}$   $\text{NiCl}_2$ ) koncentrációt is bevezettem. Ugyanezt az eljárást alkalmazták Tamás *et al.* (2008), akik kadmium, nikkelt és higany hatására árpa csíranövények gyökerében mértek antioxidatív enzimaktivitás változásokat. Megállapították, hogy ugyanahhoz a gyökernövekedés gátláshoz eltérő koncentrációban kellett a fémeket alkalmazni. (1 mM  $\text{CdCl}_2$ ; 3 mM  $\text{NiCl}_2$  és 0,5 mM  $\text{HgCl}_2$ ).

A fentiekkel összhangban azt tapasztaltam, hogy a kadmium és a nikkelt eltérő lokalizációjuk (YANTIANG és MARSCHNER 1995) és eltérő detoxifikációs jellegükből adódóan az enzimaktivitások változásait is eltérő módon indukálták. Az általam vizsgált két enzim együttesen jó jellemzést ad a növény stresszállapotáról, mivel a GPX a sejtfallban, a citoszólban, a vakuólumban és az apoplastban egyaránt megtalálható, de a mitokondriumban, illetve a kloroplastiszban nem, azonban az APX a kloroplastiszban, a mitokondriumban, a glioxiszómákban, a peroxiszómákban és a citoplazmában van jelen (ARORA *et al.*, 2002).

Megállapítottam, hogy mindkét fém hatással volt mindkét enzim aktivitására és mivel az enzimek más sejtalkotóban fejtik ki hatásukat az is kiderült, hogy a kadmium és a nikkellel egyaránt a teljes növényi sejtben szabad gyököket generáltak.

Megállapíthatom, hogy a kísérlet során mért enzimaktivitás értékek összhangban álltak korábbi munkákkal (HEGEDŰS *et al.*, 2001; HORVÁTH *et al.*, 1996) eredményeivel, mind nagyságrendjükben, mind pedig abszolút értékükben.

A GPX mindkét fém esetén a gyökérben a kilencedik órától a levélben már a harmadik órától aktivitás növekedést okozott a magasabb koncentrációban. Ennek oka, hogy a gyökér később reagált GPX aktivitás növekedéssel a nehézfém kezelésekre abban kereshető, hogy ez az enzimtípus a gyökérben eleve nagyobb konstitutív aktivitást mutat (40., 41. ábra), így nagyobb mennyiségű szabad gyököt tudott semlegesíteni, ezáltal hosszabb időnek és erőteljesebb nehézfémterhelésnek kellett kialakulnia a GPX aktivitás növekedésének előidézéséhez a gyökérben.

A kísérletek tanúsága szerint a nikkellelkezelések, annak ellenére, hogy magasabb koncentrációjúak voltak, mégsem okoztak olyan mértékű aktivitásnövekedést, mint a kadmium (36., 37., 40., 41. ábra). Ez annak tudható be, hogy a kadmium nem esszenciális, a nikkellel pedig esszenciális nehézfém, tehát a növénynek nincsenek meg az eredendő tolerancia mechanizmusai, illetve a gyökér különböző területeibe pl. sejtfal, vagy sejtmembrán (ROS *et al.*, 1992; OURITI *et al.*, 1997) beépülve, károsító folyamatokat indít be és reaktív oxigén formákat generál, így aktiválja az antioxidáns enzimrendszert (ERDEI *et al.*, 2002). Ugyanezen erőteljes aktivitásnövekedést figyeltem meg a levélben is és a nikkellel által indukált aktivitásnövekedés szintén kisebb mértékű volt.

Az APX aktivitás változásai más mintázatot mutattak, mint a GPX. A nikkellel kezelés a gyökérben és a levélben egyaránt, már a kezelést követő harmadik órától intenzív aktivitásnövekedést okozott, ezzel szemben a kadmium csak később: a gyökérben a kilencedik órától, a levélben a 24 órától. A kadmium típusát tekintve olyan nehézfém, amely nem okoz direkt oxidatív stresszt a Fenton reakción keresztül (ZHANG *et al.*, 2005), hanem később a lipid peroxidációs folyamatok során (VERMA *et al.*, 2008; GAJEWSKA és SKLODOWSKA, 2007) az elektrontranszport folyamatok megzavarásával (SMEETS *et al.*, 2005), ami magyarázata lehet a későbbi aktivitásnövekedésnek.

A különbségek oka abban is kereshető, hogy a nikkellel egyenesen oszlik el a növényben, így a kezelést követően a levélbe eljutva hamarabb aktiválhatja az antioxidatív enzimeket ellentétben a kadmiummal, ami a gyökérben van jelen nagyobb mennyiségben (PRASAD, 2004) és a levélben ehhez viszonyítva később fejtik ki hatásukat. A kadmiummal kezelt APX aktivitása az egy hetes kezelés során minden alkalmazott koncentrációban egyenesen nőtt. Ezzel szemben a nikkellel

kezelték a gyökérben négy nap után aktivitás csökkenést mutattak, mégpedig minél nagyobb volt a nikkelterhelés, annál erőteljesebb APX gátlás következett be (ITURBE-ORMAETXE *et al.*, 1998).

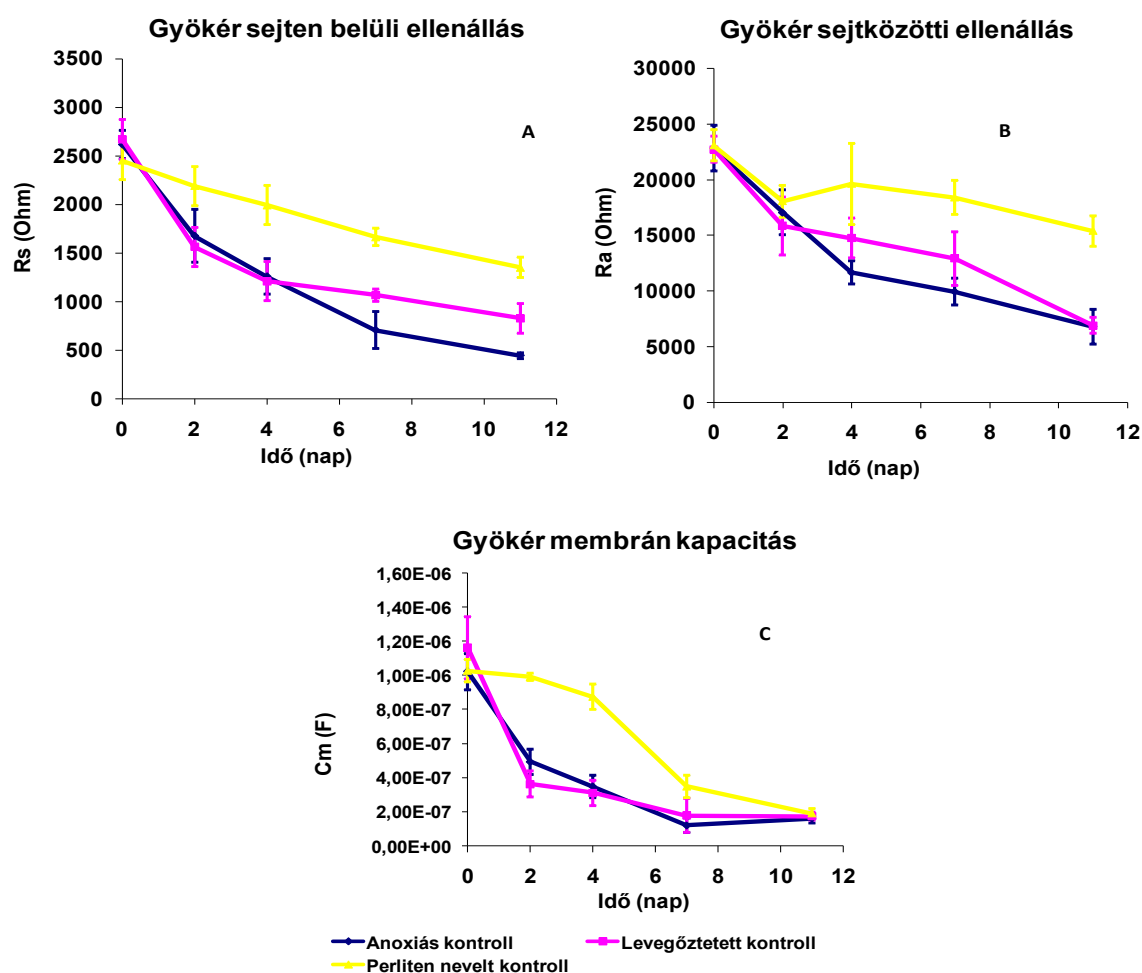
Megállapítottam, - összhangban az irodalommal (MADHAVA és SRESTY 2000, GAJEWSKA és SKLODOWSKA 2007, BOOMINATHAN és DORAN 2002, HAO *et al.*, 2005), hogy mindkét nehézfém GPX és APX enzimaktivitás növekedést okoz árpa csíranövényekben, ami reaktív oxigén formák képződésére utal a stresszhatás kialakulásának korai szakaszában. A GPX és az APX enzimek egyaránt, ám különböző mértékben játszanak szerepet a reaktív oxigén formák inaktiválásában. Emellett fontos megjegyezni, hogy bár mindkét fém detoxifikációja főként egyéb vegyülettípusokkal - szerves savak (TATÁR *et al.*, 2000), fitokelatinok (SALT *et al.*, 1993) - valósul meg, mégis a keletkezett szabad gyökök semlegesítésében nagy mértékben szerepet játszanak az antioxidatív enzimrendszer általam vizsgált elemei már a stressz hatás kialakulásának kezdeti szakaszában is.

A vizsgált enzimek közül az APX bizonyult a legalkalmasabb paraméternek a nikkell stressz korai jelzésére, mivel a már kezelést követő harmadik órától aktivitásnövekedést mutatott. A GPX, mint stresszindikátor paraméter, ezzel szemben a kadmiumos kezelésre reagált érzékenyebben (3. órától), különösen a levélben.



Ezért a levegőztetett vízkultúra és az anoxiás vízkultúrák nevelés mellett összehasonlításként még a perlites nevelési módot is alkalmaztam, mint a talajhoz leginkább hasonlító nevelési közeget. Ekkor a növényeket szintén feles töménységű Hoagland tápoldattal öntöztem, elvégeztem az impedancia méréseket, illetve a mért eredményekből  $R_a$ ,  $R_s$  és  $C_m$  paramétereket számítottam (35. ábra).

A perliten nevelt csíranövényekkel ellentétben az elárasztottak sejten belüli gyökér ellenállás értékei ( $R_s$ ) drasztikus csökkenést mutattak a vízkultúrára kerülésüket követő első két napban. A kiindulási értékek csaknem a felére csökkentek (6. melléklet). Szignifikánsan elkülönültek mind az anoxiás, mind a levegőztetett növények sejten belüli ellenállás értékeitől. Ez a szignifikáns elkülönülés azután megmaradt a kísérlet teljes időtartamában, illetve a nyolcadik naptól a két vízkultúrák nevelési mód  $R_s$  értékei is szignifikáns különbségeket mutattak (36A. ábra, 6. melléklet).



36. ábra. Zöldborsó csíranövények gyökér sejten belüli ( $R_s$ ) (A), sejt közötti ( $R_a$ ) (B), ellenállás és membrán kapacitás ( $C_m$ ) (C) változása egy hetes anoxiás vízkultúrák nevelés, levegőztetett vízkultúrák nevelés és perliten nevelés során.

A sejtközötti ellenállás értékek ( $R_a$ ) egy nagyságrenddel magasabbak voltak, mint a sejten belüli állomány ellenállásai. A kísérlet során tapasztalt ellenállás változások tendenciájukban hasonlóak a sejten belüli ellenállás változásokhoz. Az ötödik naptól a vízkultúras kezelések szignifikánsan elkülönültek a perliten nevelt  $R_a$  értékeitől (36B. ábra).

A gyökérben a membrán kapacitás ( $C_m$ ) értékei vegyesebb képet mutattak. A második napon mindhárom nevelési körülményen nevelt növénynél a membrán kapacitás értéke egymástól szignifikánsan elkülönült, majd a negyedik és a hetedik napon csak a perlites és a vízkultúras nevelési mód különült el statisztikailag is ám ez megszűnt a kísérlet 11. napjára, amikor a membrán kapacitás értékek statisztikailag azonosak lettek (36C. ábra).

#### **4.2.1.2 $R_a$ , $R_s$ és $C_m$ értékek változása a hajtásban**

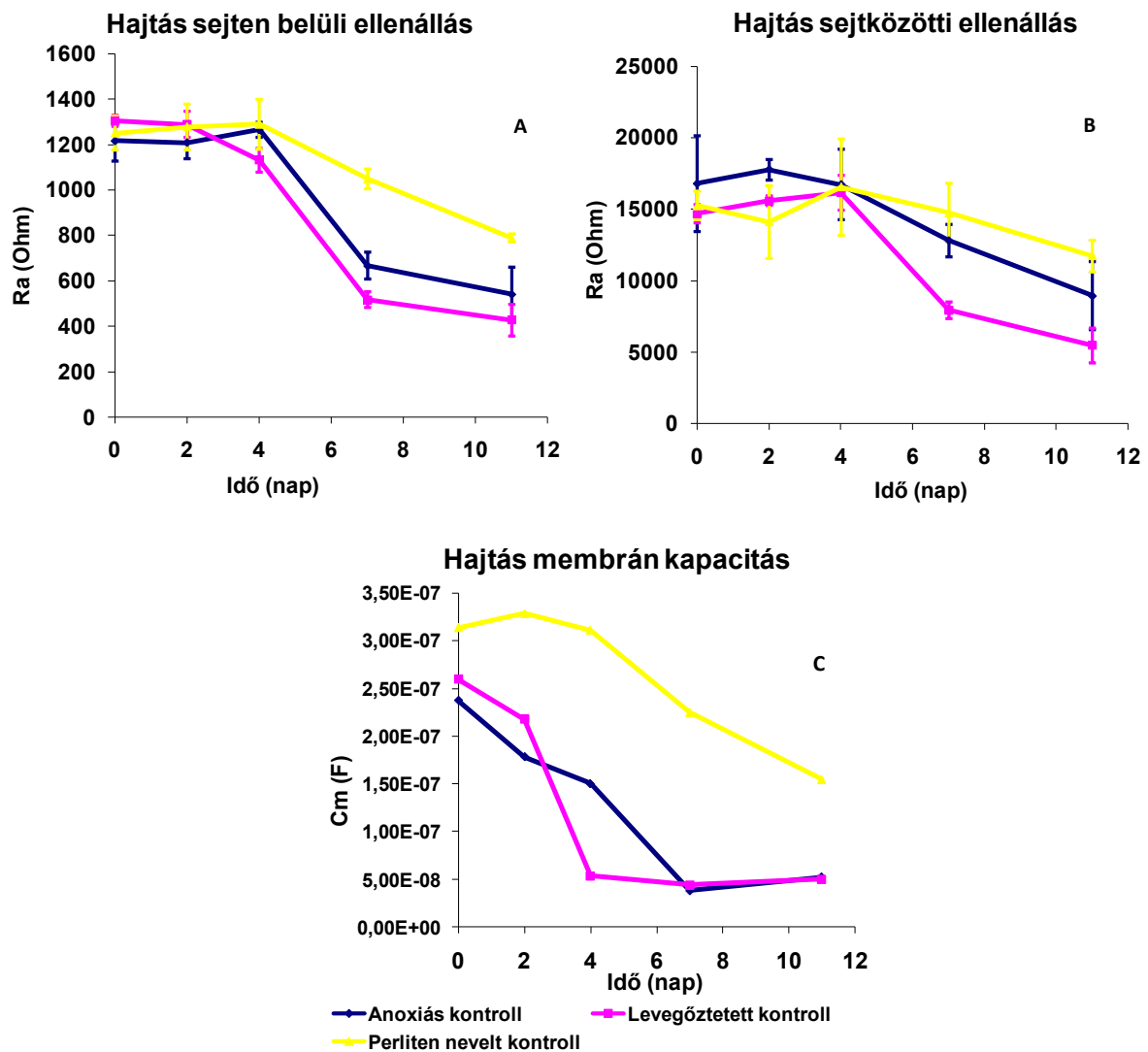
A 37. ábrán láthatók a hajtás  $R_s$ ,  $R_a$  és  $C_m$  értékei. A kísérlet első négy napján az ellenállás értékek gyakorlatilag nem változtak, majd a hetedik napon már megfigyelhető volt a gyökérnél is tapasztalt ellenállás csökkenés (37A., 37B. ábra). A kezelés utolsó napján a vízkultúras nevelési módok hatásaként az  $R_s$  értékek mintegy harmadukra csökkentek, a perliten nevelt növényeknél pedig a felükre, amely egyúttal szignifikáns különbségeket eredményezett.

A kétféle vízkultúras kezelés eredményei azonban nem különültek el egymástól szignifikánsan (6. melléklet). Az  $R_a$  értékek is hasonlóképpen csökkentek a hetedik napra a kiindulási értékekhez képest (37B. ábra).

A kísérlet utolsó napján az előzőekhez hasonlóan a vízkultúras kezelések hatására az  $R_a$  értékei szignifikánsan elkülönültek a perlites kezeléstől (6. melléklet).

A hajtás membrán kapacitásának ( $C_m$ ) változása is hasonló mintázatot mutatott: a két vízkultúras kezelés egymástól nem volt elkülöníthető, de meredeken csökkent, míg a perliten nevelték lassúbb ütemű csökkenést mutattak és a végső napon a kiindulási értékek felére csökkentek, ellentétben a vízkultúrasokkal, amelyek harmadukra (37C. ábra).

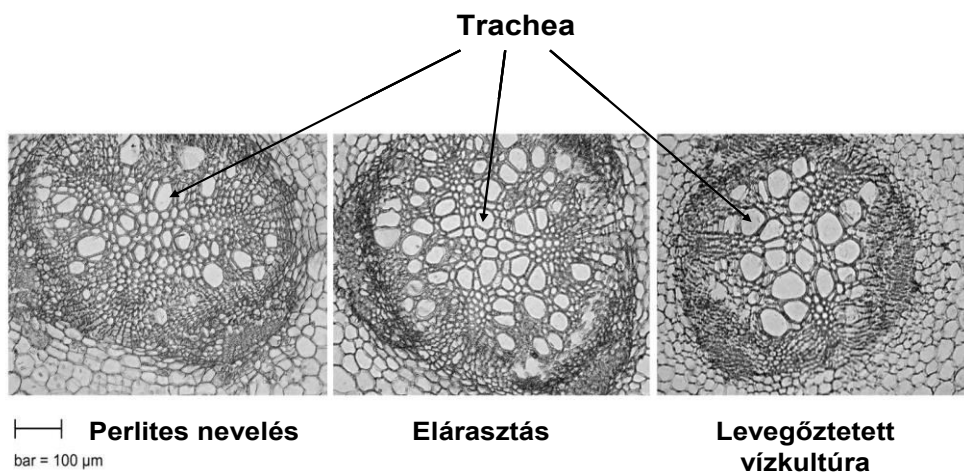
A háromféle nevelési mód során az impedancia paramétereinek meghatározása mellett mikroszkópos vizsgálatok is történtek a gyökéren, mivel ez a szerv érintkezik közvetlenül a tápközeggel.



37. ábra. Zöldborsó csíranövények hajtás sejten belüli ( $R_s$ ) (A), sejt közötti ( $R_a$ ) (B), ellenállás és membrán kapacitás ( $C_m$ ) (C) változása egy hetes anoxiás vízkultúrák nevelés, levegőztetett vízkultúrák nevelés és perlites nevelés során.

A 38. ábrán látható mikroszkópos gyökér keresztmetszet képek felfedték a központi henger változását az idő függvényében. A normális növekedési folyamatok mellett a gyökérszövetben legszembetűnőbb, a szállítószövet tracheáinak változása számban és méretben egyaránt.

Az elárasztott csíranövények gyökér keresztmetszeti képein látható, hogy a trachea elemek teljes területe nagyobb volt, mint a perliten nevelteké, illetve nem volt jelentős számú kis trachea elem a nagy és fejlett tracheák mellett. Ezek a tendenciák már két napos elárasztás után jelentkeztek. A perliten nevelteknél viszont megjelentek a kis trachea elemek is a kevesebb számú, nagyobb tracheák mellett.



**38. ábra. Zöldborsó csíranövények gyökér keresztmetszeti képei, csírázást követő 11 napos perlites nevelés, elárasztás, illetve levegőztetett vízkultúras nevelés hatására.**

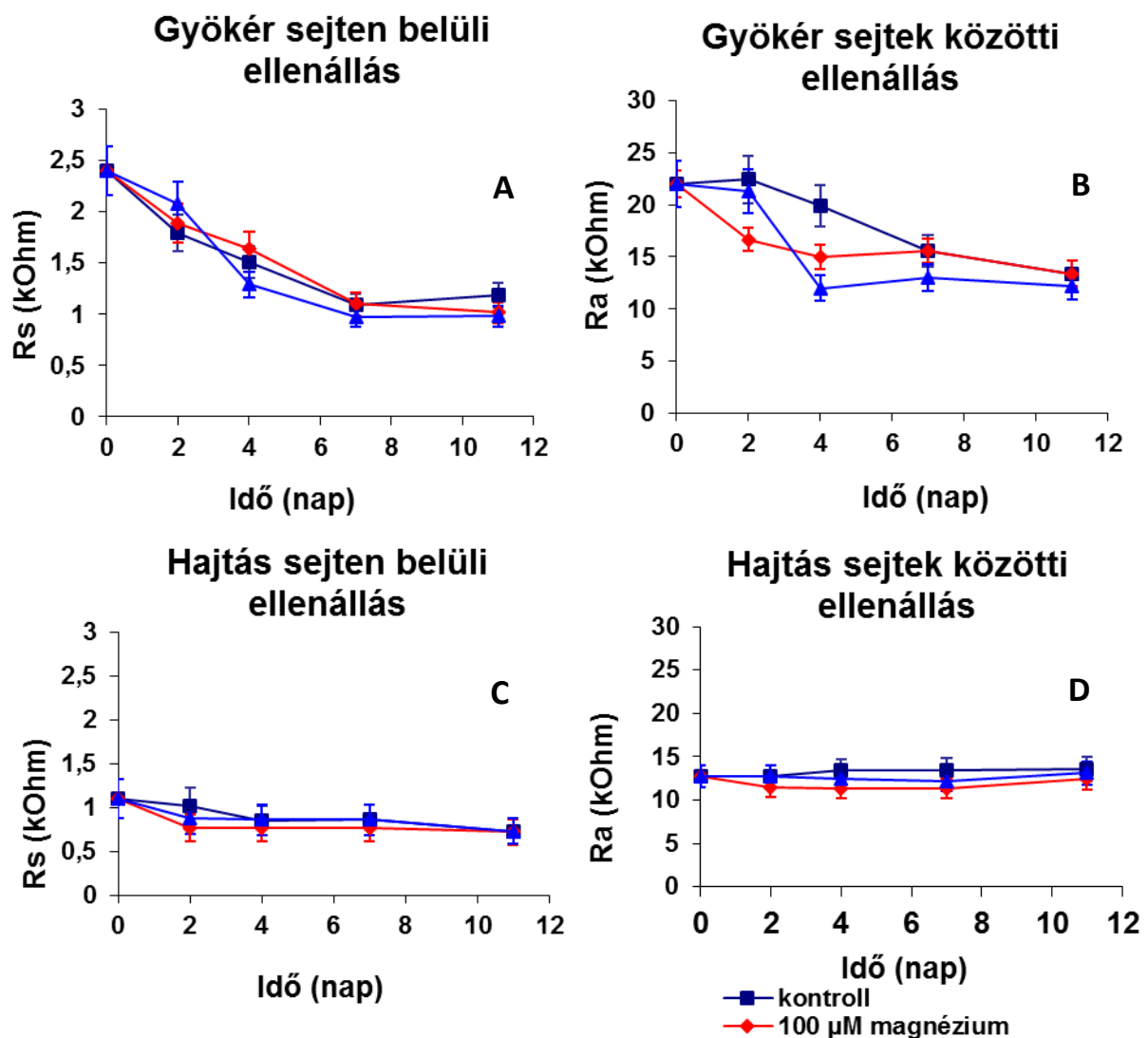
Mindez arra utal, hogy az elárasztott növények előrehaladottabb fejlettségi stádiumban voltak, mint a perliten neveltek. Aerenchima, vagy szállítószöveti üregek megjelenését a gyökérben nem tapasztaltam.

Mindezek alapján a további kísérletek nevelési közegéül a vízkultúrán nevelési módot választottam, mivel könnyebben kivitelezhető és az általam vizsgálni kívánt paraméterek változásai is egyértelműbben jelentek meg a vízkultúrában, mint a perlites nevelési módnál.

#### **4.2.1.3 A magnézium, mint nem mérgező fém ion hatása az impedancia paraméterekre**

A váltakozó áramú impedancia méréseket befolyásoló tényezők közül a leglényegesebb a vizsgált közeg iontartalma (PRIVÉ és ZHANG, 1996; REPO *et al.*, 1994; TOYODA *et al.*, 1994). Éppen ezért a kadmium, mint toxikus nehézfém kezelést megelőzően arra kerestem a választ, hogy egy önmagában nem toxikus, a kadmiumhoz hasonlóan kétértékű fém ion jelenléte milyen hatással van, vagy van-e bármilyen hatással az impedancia paraméterekre, abban az esetben, ha a toxikus nehézfémmeel megegyező koncentrációban van jelen a tápközegben.





39. ábra. Magnéziummal kezelt zöldborsó csíranövény gyökerének (A, B) és hajtásának (C, D) sejten belüli és sejt közötti ellenállása

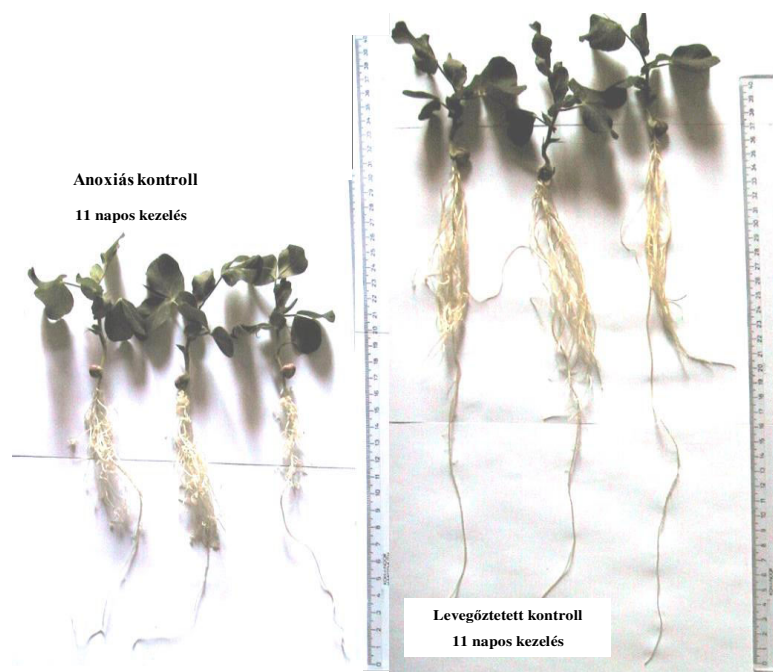
A magnézium iont választottam, mint a növényben előforduló fémiont. Az eredményekből látható, hogy a gyökér Ra és az Rs értékek (39A., 39B. ábra) a kezelés időtartamában csökkenő tendenciát mutattak ugyan, de a statisztikai elemzés alapján egyformának tekinthetők. A hajtás ellenállás értékei (39C., 39D. ábra) nem mutattak változást. Megállapíthatom, hogy csupán a kétértékű magnézium ionok jelenléte nem befolyásolja az impedancia paramétereket, tehát valószínűsíthetően, amennyiben a kadmios kezelés változásokat eredményez, azok a nehézfém toxicitásával lesznek összefüggésben.

## 4.2.2 A kadmium és az elárasztás hatása zöldborsó csíranövények egyes morfológiai, illetve elektromos paramétereire

A váltakozó áramú impedancia mérés a növényi stresszélettanban új stresszdetektálási módszer. Bevezető kísérleteit, ezért kadmiummal kezelt növényeken végeztem el, mivel a kadmium, mint nem eszenciális nehézfém várhatóan egyértelmű reakciót vált ki a növényekből, hiszen az eredményekben nem jelenik meg a növényi tolerancia spektruma, csupán a mérgezéses állapot következményei.

### 4.2.2.1 Zöldborsó csíranövények morfológiai változása

Elsőként a vízkultúrák nevelési módok és a kadmiumos kezelés során tapasztalt morfológiai változásokat mutatom be (40. ábra, 41. ábra).



40. ábra. Feles töménységű Hoagland tápoldaton nevelt levegőztetett és nem levegőztetett zöldborsó csíranövények morfológiája a kezelés utolsó, 11. napján

A 40. ábrán látható zöldborsó csíranövényeket feles Hoagland tápoldaton neveltem (HOAGLAND és ARNON, 1950), eltérő körülmények között. A növények fele akvárium levegőztető pumpával levegőztetett, oxigénnel normálisan ellátott tápoldatban nevelkedett, míg a másik fele levegőztetés nélkül, oxigénhiányos tápoldatban nőtt. A kétféle nevelési mód hatásait többféle módon vizsgáltam, elsőként fényképeket készítettem a növényekről a kísérlet azon napjain, amikor az impedancia méréseket is végeztem.

A kísérlet kezdetétől látható volt, hogy a levegőztetett kontroll csíranövények ugyanannyi idő alatt nagyobb méretet értek el, amely főként a gyökérhosszúságban nyilvánult meg. Ez a tendencia a kísérlet végére (40. ábra) vált igazán számottevővé. A méretbeli különbségek mellett az oxigénhiányos csíranövényeknél megfigyelhető volt a gyökérvégek kunkorodása is. Ez a jelenség a levegőztetett csoportnál nem jelentkezett. A hajtás méretei is különböztek a levegőztetett csíranövények javára, de ez a különbség nem volt olyan jelentős, mint a gyökér esetén (40. ábra).

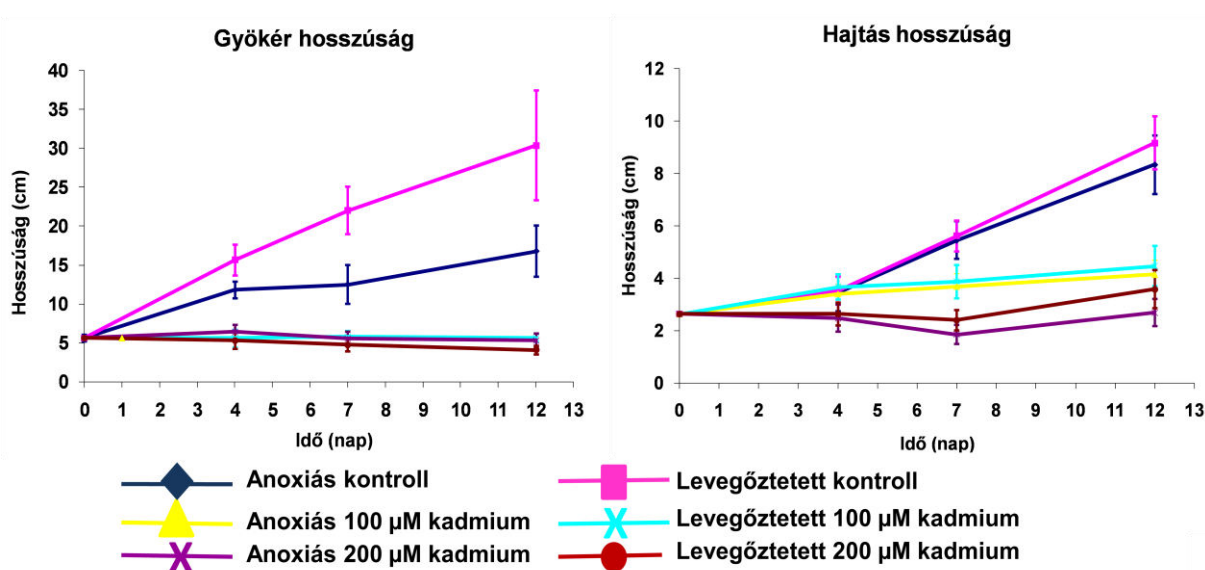


**41. ábra. Feles töménységű Hoagland tápoldaton nevelt levegőztetett és nem levegőztetett zöldborsó csíranövények morfológiája 7 napos kadmium kezelést követően.**

A 41. ábra mutatja be a kadmiumos kezelés a nevelési módok együttes hatásait. A kontroll növények egészségesen fejlődtek, a levegőztetett egyedek gyökérfejlődése intenzívebb volt, megfigyeltem oldalgyökér képzést és hosszúságnövekedést is. A kezelések (41. ábra) jól elkülöníthető morfológiai különbségekben nyilvánultak meg, úgymint gyökérnövekedés leállás és az oldalgyökerek hiánya. A 100  $\mu\text{M}$  kadmiumos kezelés esetén a csíranövények kis mértékben növekedtek, míg a 200  $\mu\text{M}$  kadmiummal kezelt csíranövények esetében teljes növekedés megállást tapasztaltam, gyakorlatilag méretben és fejlettségben megmaradtak a három napos csíranövény, azaz a kezelés kezdeti, állapotukban. Mindkét koncentrációnál megfigyelhető

volt továbbá a gyökér barnulása, ami jellegzetes kadmium mérgezéses tünet (SCHÜTZENDÜBEL *et al.*, 2001).

A fentiekben megfigyelt változások számszerűsítése érdekében gyökér- és hajtáshosszúság méréseket végeztem, amely eredményei szerint, a csíranövények **gyökér** növekedése a kadmium kezelést követően gyakorlatilag megszűnt (42A. ábra). A levegőztetett kontroll csíranövények gyökerei minden esetben meghaladták az anoxiás egyedek gyökérhosszúságát (42A. ábra). A levegőztetett kontroll gyökerek megközelítőleg kétszer olyan hosszúak voltak, mint a nem levegőztetett kontroll csíranövények gyökerei és megközelítőleg hétszer olyan hosszúak, mint a kadmiummal kezelt csíranövények gyökerei (42A. ábra).



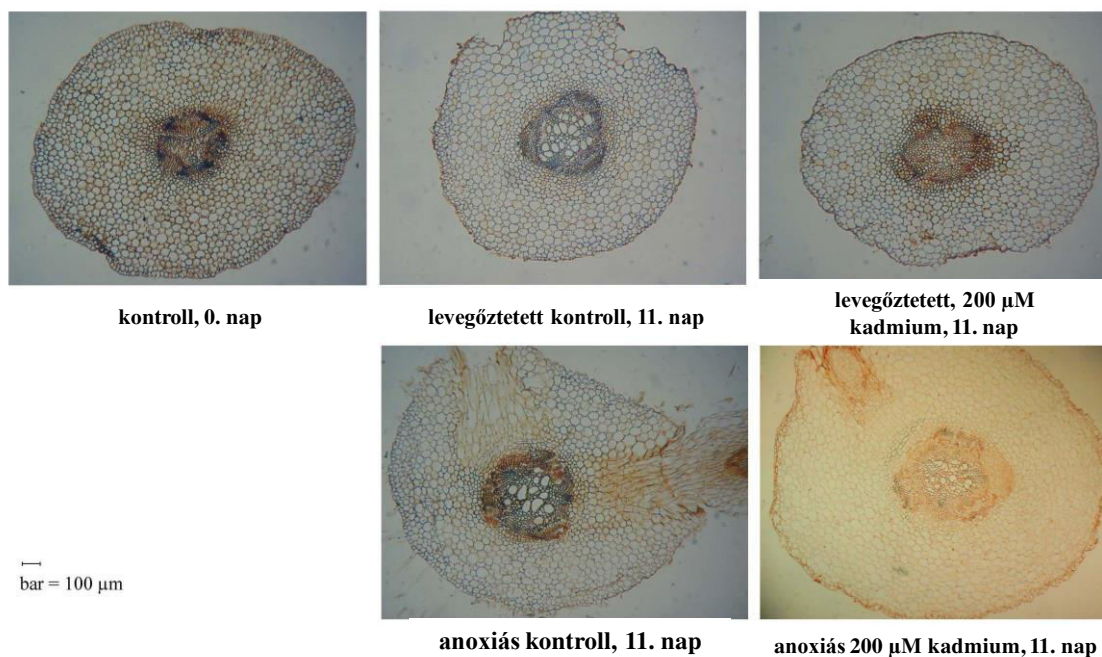
42. ábra. Zöldborsó csíranövények gyökér (A) - és hajtás (B) hosszúsága levegőztetett és anoxiás vízkultúrák nevelési körülmények között, valamint 100 és 200 µM kadmium kezelés hatására.

A statisztikai elemzés (6. melléklet) alapján a vízkultúrák nevelés hatásai a kísérlet negyedik napján már szignifikánsan elkülönültek. A kadmiummal kezelt növények is eltérő csoportokba tagozódtak attól függően, hogy levegőztetett vagy anoxiás körülmények között nevelkedtek (42A. ábra). A kísérlet tizenegyedik napján szignifikáns különbségeket tapasztaltam a kadmiummal kezelt és a kezeletlenek között, de a kadmium növekedést gátló hatása eddigre már olyan mértékűt öltött, hogy a kétféle alkalmazott koncentráció (100 µM, 200 µM) hatása nem különült el szignifikánsan (6. melléklet).

A kadmiummal kezelt csíranövények hajtás hosszúságai szintén az alkalmazott koncentrációtól függő gátolt növekedést mutattak, de az elárasztás és a levegőztetett vízkultúrák kezelés hatásai nem különültek el egymástól (42B. ábra). A kontroll növényeknél a hajtáshosszúság a kísérlet időtartamában megközelítőleg négyszeresére növekedett. A 100 µM-os kezelésnél csökkent

mértékű hajtásnövekedést mértem, illetve ez a tendencia a 200  $\mu\text{M}$ -os kezelésnél tovább erősödött (42. ábra, 6. melléklet). A növekedésgátlás a kadmium mérgezés legszembeütőbb tünete. Számos alkalommal írták le, mint különböző kísérletek fő- és mellékeredményét (KABATA – PENDIAS és PENDIAS, 1984; CHUGH és SAWHNEY, 1995; VÖGELI-LANGE és WAGNER, 1996; SANDALIO *et al.*, 2001; DE LA ROSA *et al.*, 2004). A már ismert adatokon túl megjelent egy jól elkülöníthető tendenciózus különbség az oxigénnel jól ellátott és az oxigénhiányos növények között. A jó oxigénellátottság mögött meghúzódó egészséges gyökéranycsere folyamatok és a normális tápanyagfelvétel eredményezhették a fokozottabb kadmium felvételt is. Mindez megnyilvánult az elemtartalom vizsgálatok eredményeiben, a makroszkópikus morfológiai változásokban valamint ezzel összhangban a gyökér – és hajtáshosszúság eredményekben is.

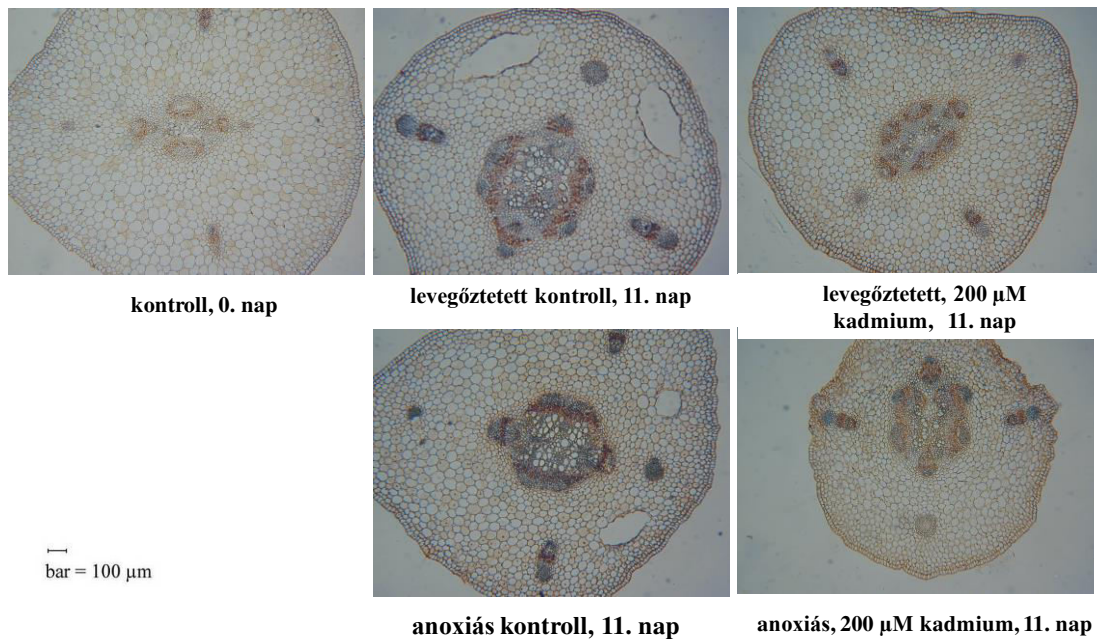
#### 4.2.3 A központi henger állapotának változásai



**43. ábra.** Anoxiás és levegőztetett vízkultúrán nevelt zöldborsó csíranövények gyökér keresztmetszeti képei a kísérlet kezdeti és utolsó napján kontroll és 200  $\mu\text{M}$  kadmiumos kezelést követően.

A mért impedancia értékek paramétereinek változásai mögött meghúzódó szöveti változások követése érdekében, a makroszkópikus változások megfigyelése mellett mikroszkópos vizsgálatokat is végeztem (44. ábra). A keresztmetszeti képek mutatják a borsó csíranövények központi hengerének változását a kísérlet időtartama alatt. A 43. ábrán bemutatott gyökérszövet

legszembeütőbb változása a szállítószövet trachea elemeinek számában és méretében következett be.

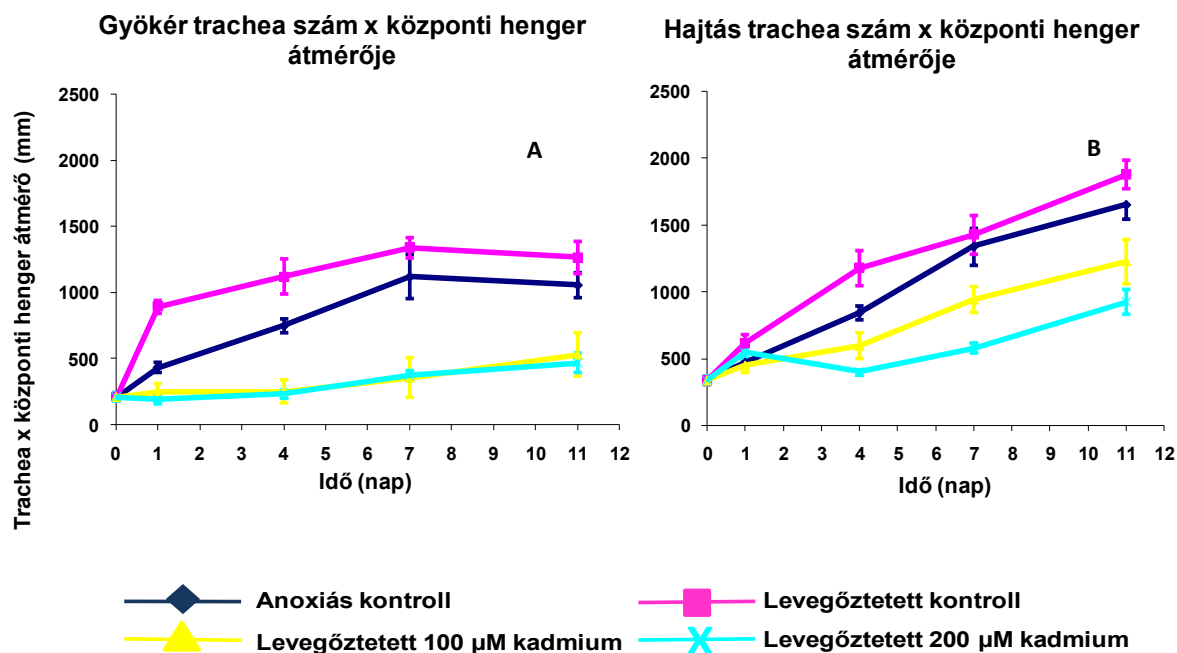


**44. ábra.** Anoxiás és levegőztetett vízkultúrán nevelt zöldborsó csíranövények hajtás keresztmetszeti képei a kísérlet kezdeti és utolsó napján kontroll és 200 µM kadmiumos kezelést követően.

A kísérlet végére a levegőztetett kontroll csíranövények jól fejlett központi hengerrel rendelkeztek, ellenben az anoxiásoknak kevesebb tracheája volt.

Kevesebb kis átmérőjű trachea elem alakult ki a nagy, fejlett tracheák mellett. A 11. napon a 200 µM kadmiumos kezelésen átesett csíranövények kevesebb tracheával rendelkeztek, mint a kontroll növények. Ez a tendencia független volt attól, hogy az adott csíranövény levegőztetve volt-e, vagy sem, azonban a legkisebb és a legfejletlenebb tracheákkal az anoxiás csíranövények rendelkeztek (43. ábra). A hajtás keresztmetszet változásai hasonló tendenciákat mutattak (44. ábra), amelyeket a gyökér keresztmetszet változásainál tapasztaltunk (43. ábra), azaz a levegőztetett kontroll növényeknek több tracheája volt, több kis trachea elemmel. A kadmiumos kezelés a gyökérhez hasonlóan a hajtásban is fejlődés visszamaradást okozott, ami abban nyilvánult meg, hogy a központi henger mérete kisebb maradt, illetve a trachea elemek is kisebb átmérőjűek, visszamaradottabbak voltak. A kísérlet végére a kontroll növények némelyikénél (44. ábra) aerenchima képződést figyeltem meg. Ez nem volt általános, csupán néhány hajtásban mutatkozott meg. ALASSIMONE *et al.* (2012) szerint a központi hengerben elárasztás hatására könnyen előfordulhat oxigén hiányos állapot, mivel az endodermiszben található vastag szuberin tartalmú sejtfalsor (Caspary-csík) korlátozza a gázdifúziót és a fentebb bemutatott morfológiai változásokat eredményezheti. Ezért vizsgálataim a központi henger állapotának jellemzésére is kiterjedtek. A központi henger jellemzésénél nem elegendő csupán a méretváltozások követése,

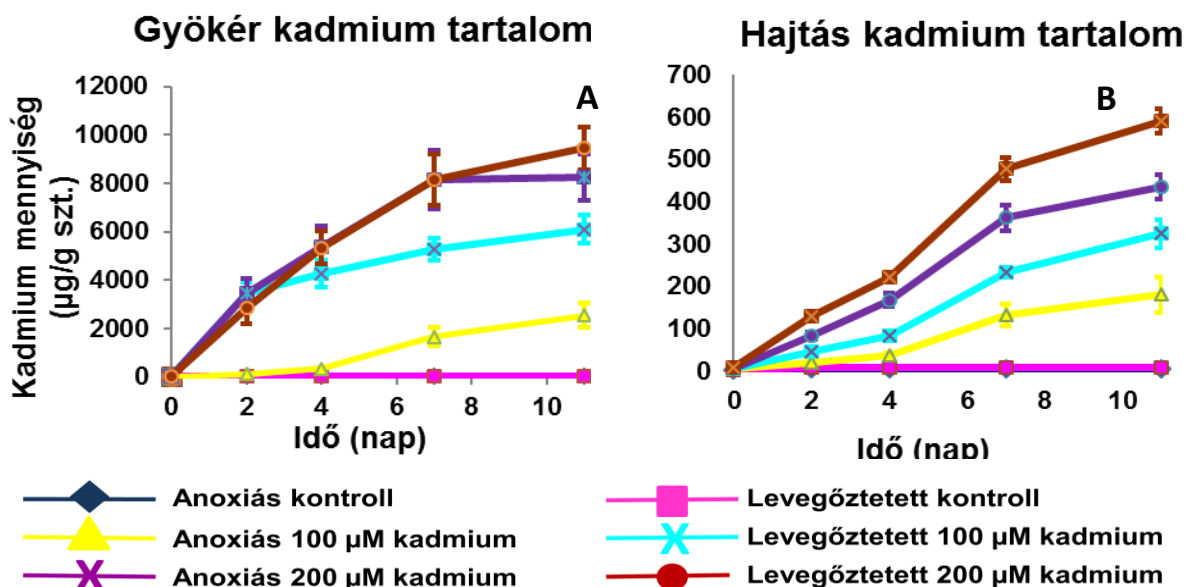
mert a környezeti stresszhatások változásokat indukálnak a szállítószövet elemeinek számában is (43. ábra, 44. ábra). A központi hengerben bekövetkező változásokat jól jellemzi a benne található tracheák száma és a központi henger mérete, ezért a tracheák számát (T) megszoroztuk a központi henger átmérőjével (VC) és az így kapott paraméter (TxVC) segítségével megfelelően tudtuk jellemezni és követni a központi henger összességére vonatkoztatott változásokat, valamint a keresztmetszeti képeken tapasztalt tendenciákat számszerűsíteni is tudtam. A 45. ábrán mutatom be a számszerűsítve a központi henger állapotának változásait. Az elárasztott csíranövények gyökér TxVC paramétere megközelítőleg háromszorosa a kadmiummal kezelt TxVC értékének és a kezelések különbségei már a kezelést követő első napon szignifikánsak voltak (6. melléklet, 49A. ábra). A kezelés 11. napján a szállítószövet fejlődési különbségei még kifejezettebben megmutatkoztak, a leginkább gátló hatású kezeléskombináció a levegőztetett 200  $\mu\text{M}$  kadmiumos kezelés volt. A hajtás is hasonló tendenciákat mutatott, kisebb mértékű különbségekkel (6. melléklet, 45B. ábra). A trachea elemek és ebből következőleg a teljes központi henger fejlődési visszamaradottsága szintén koncentráció függést mutatott, vagyis, hogy a 200  $\mu\text{M}$  kadmiummal kezelt csíranövények TxVC értékei voltak a legalacsonyabbak a kísérlet minden mintavételi napján, illetve az anoxia is visszavetette a trachea elemek fejlődését a levegőztetettekkel összehasonlítva. Fontosnak tartom megjegyezni, hogy a kadmium kezelés hatásai a gyökér TxVC értékeiben hangsúlyosabban megjelentek, de a nehézfém növekedést gátló hatása tendenciájában – az eltérő értékek ellenére – a hajtásban is megmaradt (45. B ábra).



45. ábra. Gyökér (A) és hajtás (B) trachea szám x központi henger átmérője.

#### 4.2.4 A szervek kadmium tartalma

A 46. ábrán a gyökér és a hajtás kadmium tartalmának változásait mutatom be. A tápoldatban lévő kadmium mennyiség a kísérlet teljes időtartamában feleslegben volt, ezért a növények folyamatosan a nehézfém felvevő képességük maximumának megfelelően tudták felvenni a kadmiumot. Az összes kezelt csíranövény kadmium tartalma a kísérlet teljes időtartamában folyamatos növekedést mutatott.



46. ábra. Elárasztott és levegőztetett zöldborsó csíranövények gyökerének (A) és hajtásának (B) kadmium tartalma a kezelést követő második, negyedik, hetedik és tizenegyedik napon.

Ez a növekedés arányban állt az alkalmazott kadmium koncentrációval (MURADOGLU *et al.*, 2015). A gyökér kadmium akkumulációja egy nagyságrenddel volt magasabb, mint a hajtásban felhalmozódó kadmium mennyisége. A kadmium erőteljesebben hatott azokra a növényekre, amelyek a nehézfém kezeléssel egyidejűleg levegőztetve is voltak (46. ábra). A levegőztetett és kadmium kezelt növények gyökerében a kadmium felhalmozódás megközelítőleg háromszorosa volt a nem levegőztetett, kadmiummal kezelt növények gyökér kadmium tartalmához képest.

A magasabb kadmium koncentráció erőteljes felhalmozódást eredményezett. Ebben az esetben már a levegőztetett, és a nem levegőztetett növények kadmium akkumulációjában nem volt olyan jelentős különbség, mint a 100 µM koncentrációs kezelésnél. A statisztikai elemzés szerint a kísérlet második napján, egy kivétellel (levegőztetett 100 µM kadmiumos kezelés) már szignifikánsan elkülönül a kontroll és a kadmiumos kezelés. Ez az elkülönülés a kísérlet teljes időtartamában megmarad (6. melléklet).

A hajtás esetében a kadmium felhalmozódás kisebb mértékű volt ugyan, de nem elhanyagolható és tendenciáiban megegyezett a gyökér kadmium felhalmozásával (46. ábra). A kísérlet során a



kadmium mennyisége egyenletesen növekedett a zöldborsó csíranövényekben. A statisztikai elemzés megmutatta, hogy a kezelések a hajtásban is szignifikáns különbségeket eredményeztek a kontrollhoz képest.

#### **4.2.5 A kadmium tartalom mérés eredményeinek értékelése**

Jellegét tekintve a kadmium olyan nehézfém, amely az összes növényi szervbe elszállítódik, illetve felhalmozódik, nagy része azonban a gyökérben marad (CATALDO és MCFADDEN, 1988) és relatíve kis mennyiség jut el a föld feletti részekbe (CATALDO *et al.*, 1983). Ez a növényekre általánosan vonatkoztatott megfigyelés a kísérleteim során is igazolást nyert. A irodalomból tudható, hogy a kadmium könnyen és gyorsan bejut a növényi gyökér szöveteibe, mivel a felvétele ugyanazon membráncsatornákon keresztül történik, mint több esszenciális elemé, úgymint a cink, kalcium, kálium, magnézium, mangán, nikkel, réz és vas (CLARKSON és LÜTTGE, 1989, RIVETTA *et al.*, 1997). Az elsődleges sejtfa cellulóz, hemicellulóz (pektinnel) és glükoproteinek különböző pórusméretű hálózatából áll, átjárható a nehézfémionok számára. A kisebb pórusokban a pozitív töltésű fémionok, a negatív töltésű sejtfaalkotókhoz kapcsolódnak, főként a pektint alkotó poligalakturonsav negatív töltésű karboxilcsoportjához (PRASAD, 2004). Ezért a felvett kadmium nagy része a gyökérben marad a sejtfaalhoz kötötten (DEGENHARDT és GIMMLER, 2000), illetve a gyökér sejtjeiben detoxifikálva és kisebbik része a föld feletti szervekben jelenik meg (CATALDO *et al.*, 1983).

#### **4.2.6 Az elárasztás és a kadmium kezelés együttes hatása az impedancia paraméterekre**

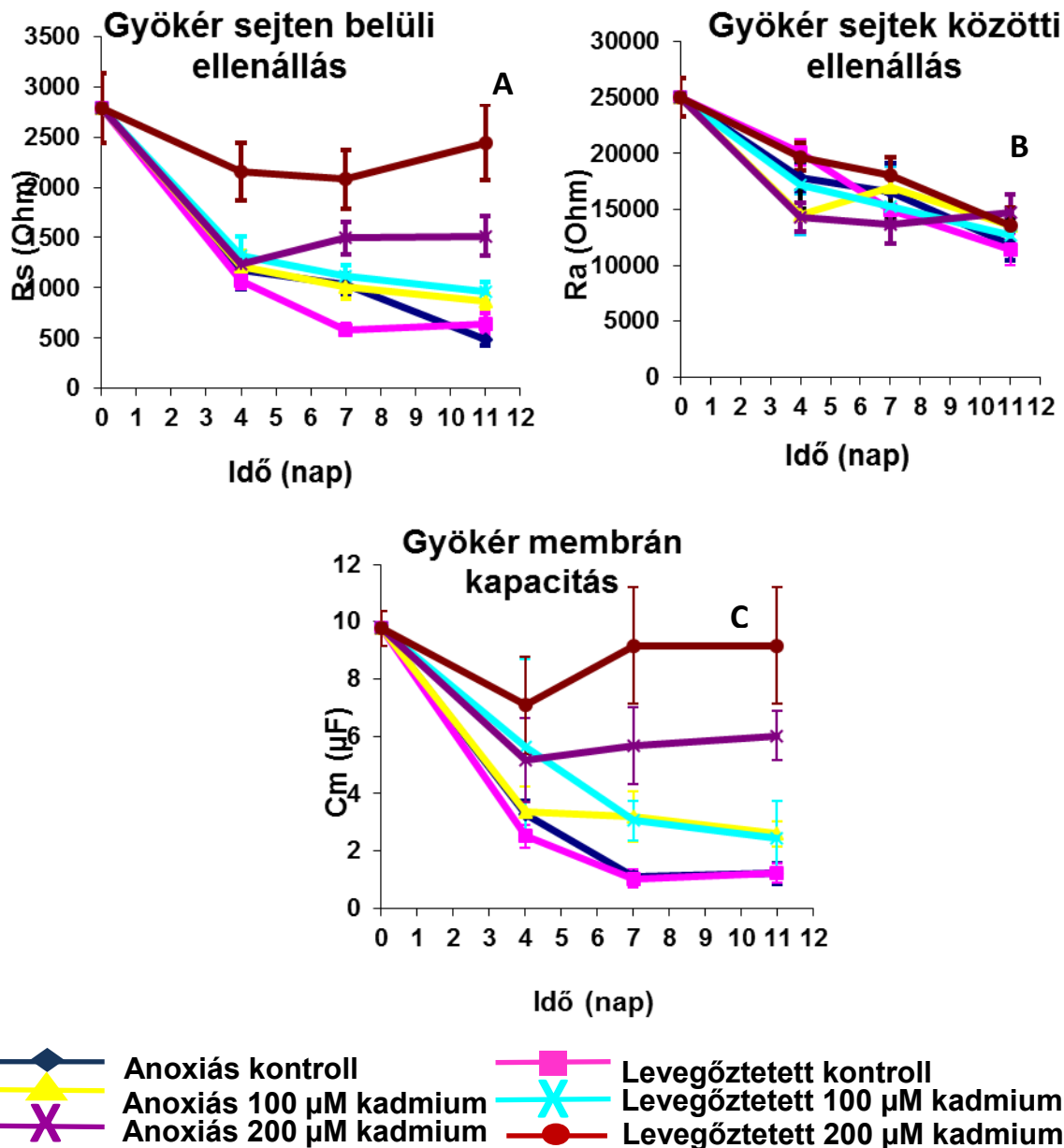
Az eddigiekben bemutattam, hogy a kezeléseknek milyen hatása volt a morfológiai és mikroszkópikus jellemzőkre, illetve a kadmium felhalmozódás dinamikájára. A következőkben az impedancia mérésből számított ellenállás értékek és membrán kapacitások változásait mutatom be a gyökérben és a hajtásban. A kísérlet beállításai mindenben megegyeznek a korábban bemutatott kísérletek beállításaival. A kadmiumos kezelés és az elárasztás hatására bekövetkezett  $R_a$  és  $R_s$  értékek változásait az alábbiakban mutatom be (51. ábra).

A kadmiummal kezelt csíranövények  $R_s$  értékei meghaladták a kontrollok  $R_s$  értékeit, a kísérlet teljes időtartamában függetlenül a levegőztetett, vagy nem levegőztetett kezeléstől és a negyedik naptól a levegőztetett 200  $\mu\text{M}$  kadmium koncentrációs kezelés már szignifikánsan elkülönül a többitől (6. melléklet, 6. táblázat). A gyökér  $R_s$  értékek változása összefüggésben állt az alkalmazott koncentrációval, mivel a 100 és 200  $\mu\text{M}$  kadmiummal kezelt csíranövények  $R_s$  értékei minden esetben magasabbak voltak a kontrollokénál és a legmagasabb  $R_s$  értéket a 200  $\mu\text{M}$  kadmiummal kezelt csíranövények gyökeréntapasztaltuk (47. ábra).

A hajtás kiinduló  $R_s$  értékei alacsonyabbak voltak, de a változások tendenciái hasonlóak voltak, mint a gyökéknél. Az elárasztás hajtásban is az  $R_s$  értékek csökkenését, míg ezekhez viszonyítva a kadmium kezelés pedig az  $R_s$  értékek növekedését okozta koncentrációfüggés a kezelés utolsó, 11. napján volt egyértelmű (6. melléklet, 7. táblázat; 47. ábra).

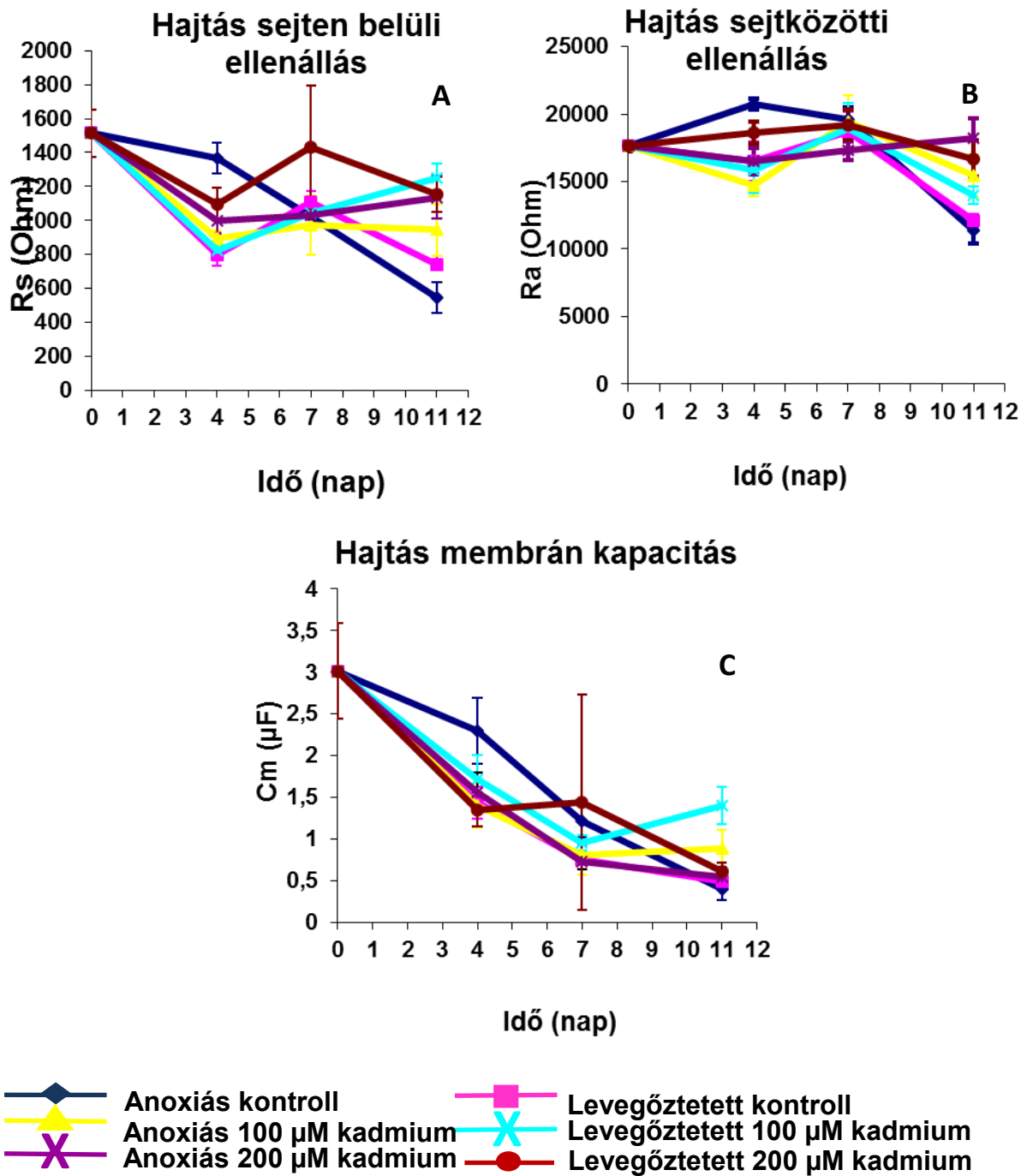
A zöldborsó csíranövények gyökér  $R_a$  értékei szintén csökkenést mutattak az idő előrehaladtával és a kísérlet végére a kiindulási értékek felére estek le. A kadmiummal kezelt csíranövényeknél a hajtás  $R_a$  értékei magasabbak voltak a kontroll értékeknél. (6. melléklet, 47. ábra). A gyökér membrán kapacitása a kísérlet negyedik napjára nagymértékű csökkenést mutatott (6. melléklet, 6. táblázat; 47C. ábra), a kiindulási értékhez képest. Az elárasztott növényeknél ez a sejtmembrán kapacitás csökkenés tovább folytatódott egészen a kísérlet végéig.

A kadmiummal kezelt növényeknél a membrán kapacitás értékek egyenes arányban, szignifikánsan növekedtek az alkalmazott koncentrációval, egymástól szignifikánsan elkülönülve (6. melléklet, 6. táblázat), illetve itt megfigyelhető volt a korábban már látott tendencia, miszerint a legerősebb kadmium hatást azoknál a növényeknél kaptam, amelyek egyidejűleg elárasztásos kezelésben is részesültek (47C. ábra).



47. ábra. Az elárasztás és a kadmium kezelés hatása zöldborsó csíranövények gyökér sejten belüli (A), sejt közötti (B) ellenállására és membrán kapacitására (C).

A statisztikai elemzés feltárta, hogy a kadmiumos kezelések egymástól és az elárasztásos egyedektől szignifikánsan elkülönülő  $C_m$  értékeket mutattak. A kísérlet utolsó napjának értékei pedig bizonyították, hogy nemcsak az egyes kezelések hatásai, de a két különböző típusú kezelés (kadmium és az elárasztás) együttes hatásai is kimutathatók váltakozó áramú impedancia mérésrel (47. ábra).



48. ábra. Az elárasztás és a kadmium kezelés hatása zöldborsó csíranövények hajtás sejten belüli (A), sejt közötti (B) ellenállására és membrán kapacitására (C).

A 48. ábrán a hajtás  $R_a$  és  $R_s$  értékeinek változásait mutatom be. A hajtás  $R_s$  értékeinél szintén megfigyelhető egy csökkenő tendencia – ami a korábbiakkal összhangban – a szimplazmikus ellenállás esetén volt megfigyelhető. A 100  $\mu\text{M}$  kadmium kezelteknél a levegőztetett növények ellenállás értékei szignifikánsan magasabbak voltak az elárasztottakénál. Ez arra utal, hogy az elárasztás negatív következményeként lelassuló anyagcsere folyamatok a kadmium felvételét is kedvezőtlenül befolyásolták. A magasabb, 200  $\mu\text{M}$  kadmium koncentráció nem nyilvánult meg magasabb szimplazmikus ellenállás értékekben (48A. ábra). Az  $R_a$  értékeknél is csökkenés

figyelhető meg, ami a 11. napra szignifikáns lett. A kadmiummal kezelt csíranövények apoplazmás ellenállásai szignifikánsan elkülönültek a kadmiummal nem kezeltéktől (48B. ábra, 6. melléklet).

A hajtás  $C_m$  értékei is a korábban tapasztalt csökkenést mutatták, de az értékek szórásai is nagyok voltak, illetve a membrán kapacitásokban nem mutatkoztak meg a kezelések hatásai (48C. ábra).

#### **4.2.7 A váltakozó áramú impedancia mérés kísérleti eredményeinek értékelése**

A fentebb bemutatott eredményekből látható, hogy az elárasztás jelentős változásokat indukált a zöldborsó csíranövények szöveti szerkezetében, ami megmutatkozott az ellenállás- és a membrán kapacitás értékekben is.

Az  $R_s$ ,  $R_a$  és  $C_m$  értékek csökkentek, ami számos- az elárasztás által indukált- folyamat együttes eredménye. A víz főként apoplazmás úton jut be a növénybe, de emellett egy speciális sejtmembrán fehérje, az akvaporin, is szerepet játszik a víz gyors bejutásában (MARTINOIA *et al.*, 2000), így az elárasztást követően gyorsan megnő a szövetek víztartalma, amely az ionmobilitást is megnöveli. Az ionmobilitás pedig a növényi szövet impedanciáját egyik leginkább befolyásoló tényező (PRIVÉ és ZHANG, 1996, VOZÁRY *et al.*, 1999). Ha egy közegben nagy az ionmobilitás, akkor akadálytalanabbá válik ez elektromos áram útja és mindez ellenállás, impedancia csökkenéshez vezet.

A szakirodalomban számos esetben leírták, száraz és nedves élőhelyeken élő növényekben egyaránt, az elárasztás hatására bekövetkező lizigén (sejtfal degradáció eredménye) aerenchima képződést, amelyet a programozott sejthalál idéz elő (COLMER és VOESENEK, 2009). Mindez azért történik, mert a növény törekszik a gyökér és a hajtás normál oxigénellátottságának visszaállítására (RAJHI *et al.*, 2011). Egy összefüggő gázüreg kialakításával a sejtek összeolvadásával ugyanakkor csökken az oxigént fogyasztó sejtek száma is (SHIONO *et al.*, 2011), valamint az emésztett sejtek tápanyagul szolgálnak a megmaradóknak, tehát a szövet takarékosabb energiatakarékosságot követ. Ez az energiatakarékosabb szöveti működési mód jellemezte kísérletemben az elárasztott kontroll csíranövényeket is, amelyeknél kevesebb számú, ám nagyobb üregű tracheákat figyeltem meg (43. ábra, 44. ábra).

A hirtelen elárasztást követő anoxiás állapot következményeként energiahiányos állapot alakul ki, amely a mitotikus sejtosztódás lassulásához vezethet (NIKI és GLADISH, 2001). Jelen esetben az elárasztás okozta anoxiás állapotot a növény jól tudta kompenzálni pusztán a már kialakult tracheák keresztmetszetének megnövelésével. A megnövekedett keresztmetszetű tracheák megnövekedett keresztmetszetű elektromos vezetőknek tekinthetők, ami szintén hozzájárult az  $R_a$  és  $R_s$  értékek csökkenéséhez. A  $C_m$  csökkenését a membránok

átjárhatóságának növekedése, illetve polarizálhatóságának (dielektromos állandójának) csökkenése okozhatta. Az elárasztás hatására továbbá a vakuólumok mérete is megnő (NIKI és GLADISH, 2001). A vakuólumok, elektromos vezetőként, szintén részét képezik a növényi szövet impedanciáját meghatározó tényezőknek (ZHANG és WILLISON, 1991), így hozzájárulnak a tapasztalt ellenállás csökkenésekhez. Ezzel szemben a perliten nevelt növényekben fellelhető nagyobb számú kis trachea elem jelenléte elektromos szempontból kisebb átmérőjű elektromos vezetőt jelent, ami magasabb ellenállás értékekben nyilvánul meg. A hajtás ellenállás értékeiben az elárasztás nem nyilvánul meg olyan erőteljesen, mint a gyökér esetében. A kisebb mértékű csökkenés valószínűleg a szöveti elemek kiterjedésének köszönhető, a normál növekedési folyamatok következtében.

Az elárasztás egyik jellemző következménye a növényi etilén (öregedési folyamatokat szabályozó hormon) szint megemelkedése (GRICHKO és GLICK, 2001). Az a tracheák korai kifejlődéséhez vezetett a trachea elemek hosszanti sejtfalainak és sejtmembránjainak degradációján keresztül. Ez a gyors sejtfal degradáció vezethetett az kísérlet első felében tapasztalt drasztikus membrán kapacitás csökkenéshez, szemben a perliten neveltekkel, amelyek ugyanazt a fejlettségi állapotot később, a kísérlet időtartamának végéhez közeledve érték el.

Mindebből megállapítottam, hogy a váltakozó áramú impedancia mérésből számított paraméterek alkalmasak az elárasztást követő szöveti szerkezeti változások követésére.

A kétféle vízkultúras nevelési mód viszont alapvetően azonos tendenciájú ellenállás és membránkapacitás változásokat eredményezett, így a kadmiumos vizsgálatokhoz is a vízkultúras nevelési módszert választottam, mivel fontosnak tartottam összevetni, hogy a jó levegőellátottság, illetve az anoxiás körülmények milyen mértékben befolyásolják a nehézfémfelvételt, illetve a váltakozó áramú impedancia mérés eredményeit.

A vízkultúras kísérleti beállítás azért is célravezetőbb, mert a perlit ionadszorpciós képessége miatt a kadmiumot tartalmazó vizes közegek kadmiumtartalmának megkötésére alkalmas (MATHIALAGAN és VIRARAGHAVAN, 2002). Emiatt megkérdőjelezhetővé válhat a tápelemek és a kadmium kijuttatásának eredményessége, hiszen nem lehetne pontosan nyomon követni a rendelkezésre álló ionok mennyiségét, így nehezen lehetne értelmezni a koncentrációfüggő változásokat, illetve nem lehetne pontos választ kapni arra a kérdésre, hogy a zöldborsó potenciálisan milyen mennyiségben képes az adott körülmények között felhalmozni a kadmiumot. Fontos szempont továbbá, az egészséges, potenciális növekedési képességet elérő növényanyag, amit csak maximális tápanyag ellátottság mellett tudok nevelni.

Az impedancia mérésekhez köthető kísérletek eredményeiből összegzésképpen kijelenthetem, hogy a magnézium - kezelés nem okozott változást az impedancia paraméterekben. Ez arra utal, hogy a szimplazmikus és az apoplazmikus ellenállások és a membrán kapacitás változásai

valóban a kadmium mérgező hatásának voltak köszönhetőek, nem pedig a megnövekedett ionmennyiségnek. Ez az eredmény várható volt, hiszen a nevelőközegként alkalmazott feles töménységű Hoagland tápoldat eleve több magnézium iont tartalmazott, mint a kezelés maga.

A mikroszkópos eredmények, a szállítószövet vizsgálatok és a kadmium tartalom meghatározás eredményei egyaránt azt mutatták, hogy a kadmium gyorsan bejut a zöldborsó gyökereibe és szinte teljesen blokkolja a növekedést, ami a kadmium mérgezés egyik legnyilvánvalóbb tünete (KABATA–PENDIAS és PENDIAS, 1984). Ez a növekedést gátló hatás megakadályozta az osztódott sejtek kiterjedését (PRASAD, 1995), illetve a szállítószövet elemeinek fejlődését. A kadmium a sejtfal pektinjéhez kapcsolódik, ezzel a sejtfal alkotók között a normálisnál erősebb kötést hoz létre (PRASAD, 1995). Ez az egészségestől eltérő, kompaktabb, sűrűbb, ridegebb szöveti struktúrát eredményez. A nagyobb sűrűségű szövetben az elektromos töltések mozgékonyága csökken, amely az ellenállások növekedésében mutatkozik meg. A kapacitás növekedését egyrészt okozhatja a polarizálhatóság (dielektromos állandó) növekedése, másrészt a membránok vastagságának csökkenése.

A gyökér- és a hajtáshosszúság ábrái is azt mutatják, hogy a kadmiummal kezelt növények növekedése leállt, illetve – feltehetően a kadmium vízfelvételt gátló hatásának köszönhetően – némileg még csökkent is a kísérlet során. A szöveti szerkezet fejlődésének gátlása azt eredményezte, hogy a szállítószövet elemei nem tudtak kifejlődni, így a tracheidák falai és membránjai sem olvadtak össze,

A membrán lipidek szerkezete is változik kadmium stresszt követően: a membránalkotó telítetlen zsírsavak mennyisége csökken, így a kadmium számos helyre be tud kötődni, például membránfehérjékhez és ezáltal gátolják a membrán normális funkcióit (ROS *et al.*, 1992, OUARITI *et al.*, 1997). A bekötődés eredményeként merevebb membránszerkezet jöhet létre. A merevebb membránszerkezet szintén hozzájárul a kadmiummal kezelt csíranövények magasabb membrán kapacitás értékeihez.

A kadmium továbbá jelentősen befolyásolja a növényi vízállapotot: a gyökércsúcs sejtjei elhalnak a kadmium kezelést követően, így a vízfelvétel gátlódik (COSTA és MOREL, 1994). A gátolt vízfelvétel és az alacsonyabb sejtvíztartalom következtében csökkent az ionmobilitás, amely szintén egy olyan tényező, ami növeli az ellenállás értékeket.

Az irodalmi adatokból ismert, hogy az anoxia gátolja az ionfelvételt. Ez a kadmiumtartalom eredményekben is megmutatkozott. Az elárasztott, anoxiás növények kadmiumtartalma alacsonyabb a gyökerekben, mint a levegőztetetteké, amely az elárasztás komplex következménye: mivel a kadmium ugyanazokat a csatornákat és szállító fehérjéket használja, mint pl. a kalcium (GREGER és BERTELL, 1992), vagy a vas (NAKANISHI *et al.*, 2006), a

kadmium erőteljesebb károsodást okoz az elárasztott és levegőztetett csíranövényekben, mint az anoxiásokban. Az előbbi állításomat a statisztikai elemzés is alátámasztja (2. melléklet).

Az elárasztás után újralevegőztetett talajokon megfigyelték, hogy a OsIRT2 és OsNramp1 fehérjék kifejezetten segítik a kadmium felvételét. (NAKANISHI *et al.*, 2006; TAKAHASHI *et al.*, 2011), tehát ez is jelzi, hogy az elárasztott körülmények között jelen lévő kadmium felvételét jó levegőztettség esetén speciális proteinek segítik. Ez magyarázza eredményeimet is, miszerint a jól levegőztetett vízkultúrák kezeléseknél nagyobb volt a csíranövények kadmium felhalmozása, mint az anoxiásoké.

Ez a felismerés metodikai szempontból arra hívja fel a figyelmet, hogy a vízkultúrák nehézfémkísérleteknél elengedhetetlen a megfelelő és körültekintő levegőztetés, hiszen az oxigénhiány, azon túl, hogy tipikus elárasztásos tüneteket hoz létre a zöldborsóban, hátrányosan befolyásolja a kadmium felvételét is.

A váltakozó áramú impedancia mérés, mint növényi stresszdetektálási módszer olyan, kvázi nem-invazív módszer, amely alkalmas ezen változások követésére, illetve az elárasztás és a kadmium stressz kombinált hatásainak kimutatására is. Mindemellett eleget tesz egy nagyon fontos követelménynek is: A módszer segítségével, a növényi szövet feldolgozása nélkül, gyorsan információt kaphatunk a fiziológiai állapotról, mint ahogy azt REPO *et al.* (2000) leírták a hidegakklimatizáció témakörével kapcsolatban. Továbbá eredményeim szerint az impedancia méréseket fiatal csíranövényeken is el lehet végezni, így ezen mérés segítségével a szemmel látható tünetek megjelenése előtt is már információt kaphatunk a stresszorok által kiváltott hatásokról. Különösen fontos tény az is, hogy a többi, a növényi stresszélettani vizsgálati módszereiben általánosan elterjedt, roncsolásmentes mérések legtöbbje (szén-dioxid gázcsere, fluoreszcencia indukció) kifejlett levéllemez meglétét igényli, amelyre az impedancia mérésnél – lévén, hogy gyökéren és hajtáson is elvégezhető- nincs szükség. Kísérletem tanúsága szerint a váltakozó áramú impedancia mérés eredményeiből számított paraméterek ( $R_a$ ,  $R_s$  és  $C_m$ ), alkalmasak az elárasztás és a kadmium stressz hatására bekövetkező szöveti szerkezeti változások kimutatására, elkülönítésére és időbeli nyomon követésére, már a stressz kialakulásának korai stádiumában.

A mérési módszer maga gyors és könnyen kivitelezhető, ezáltal ígéretesen használható növényélettani, illetve növényi stresszélettani vizsgálatok során.



#### 4.2.8 Az eredmények összefoglalása, új tudományos eredmények

Az alábbiakban foglalom össze dolgozatom eredményeit:

1. Meghatároztam öt szerves sav (oxálecetsav, citromsav, almasav, borostyánkősav és fumársav) árpa csíranövény gyökerére és levelére jellemző, a sav típusától függően eltérő, konstitutív mennyiségét. Emellett kimutattam a levél növekedési folyamataihoz köthető szerves sav tartalom csökkenést is.
2. Megállapítottam, hogy a gyökérben a kadmium hatást a kezelést követő 12. órától a fumársav, majd a 24. órától a citromsav, az almasav és az oxálecetsav csökkenés is jelezte. A levélben a nagyobb koncentrációknál a 12. órától általános szerves sav tartalom növekedés történt.
3. Megállapítottam, hogy a nikkellel az alacsonyabb koncentrációk esetén is szerves sav növekedést okoz: a kezelést követő 3. órától a gyökérben az almasav, a levélben az oxálecetsav mennyisége nőtt meg, ezáltal a szerves sav mérésével követhető a nehézfém felhalmozódás dinamikája a stressz kialakulás korai szakaszában.
4. Meghatároztam a teljes növényi sejt szabadgyök megkötési állapotáról jellemzést adó GPX és APX enzimek aktivitását és annak változásait kadmium és nikkellel hatására a stressz kialakulásának kezdeti szakaszában. A GPX aktivitása mindkét fém esetén a gyökérben a 9. órától a levélben már a 3. órától nőtt. Az APX aktivitása a nikkellel kezelést követő 3. órától a teljes növényben megnőtt; a kadmium hatására később: a gyökérben a 9. órától, a levélben a 24. órától. A tapasztalt aktivitásváltozások jó jelzői a nehézfém terhelést követő oxidatív stressz kialakulásának.
5. Az anoxia, a levegőztetés és a perlites nevelési módok hatásait jellemeztem váltakozó áramú impedancia mérésével és megállapítottam, hogy a mérés paraméterei alkalmasak a különböző nevelési módok elkülönítésére.
6. A kadmium kezelés élettani hatásait jellemeztem zöldborsó csíranövényeken, a váltakozó áramú impedancia mérés eredményeiből számított három paraméter:  $R_a$ ,  $R_s$  és  $C_m$  segítségével. Mindhárom paraméter értéke megnőtt a mérgezés következményeként.
7. Megállapítottam és kiegészítő vizsgálatokkal alátámasztottam, hogy a váltakozó áramú impedancia mérés alkalmas módszer kadmium mérgezés okozta szöveti szerkezeti változások kimutatására és nyomonkövetésére.



## 5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A szerves savak mennyiségi változásait minden bizonnyal megelőzi az azok szintézisét katalizáló enzimek aktivitásának növekedése. Ennek igazolására fontosnak tartom megvizsgálni a citromsav ciklus egyes enzimeinek: malát-dehidrogenáz és a szukcinil-Ko A szintetáz aktivitás változását azonos kísérleti beállítás mellett.

A stresszkialakulás korai szakaszának megfelelő vizsgálatához a fitokelatin szintáz enzim aktivitásának mérése, vagy a szintetizálódott fitokelatinok mennyiségi mérése fontos információkkal szolgálna, különösen a kadmium stressz korai szakaszának jellemzése szempontjából.

Mivel a GPX mindkét fém esetén a gyökérben a kilencedik órától a levélben már a harmadik órától aktivitás növekedést okozott, hasznos kisebb időléptékű –pl. óránkénti- mintavétel azért, hogy az aktivitásnövekedés tényleges kezdőpontját meg lehessen határozni.

A továbbiakban fontos lenne felderíteni, az antioxidív enzimszisztéma más tagjainak reakcióit (CAT, GR, SOD) nikkell és kadmium stressz hatására szintén a stressz kialakulás kezdeti szakaszában.

A váltakozó áramú impedancia mérés, mint növényi stresszdetektálási módszer, alkalmas az elárasztás és kadmium stressz kombinált hatásainak kimutatására is. Mindemellett eleget tesz egy nagyon fontos követelménynek is: a módszer segítségével, a növényi szövet feldolgozása nélkül, gyorsan információt kaphatunk a fiziológiai állapotról. A mérési módszer maga gyors és könnyen kivitelezhető, ezáltal ígéretesen használható növényélettani, illetve növényi stresszélettani vizsgálatok során.

Az impedancia méréseket is, ahogyan ezt a munkám többi részében végeztem érdemes lenne optimalizálni esszenciális nehézfémek hatásainak kimutatására is.

Továbbá a tüelektrodákat a jövőben tapintó elektrodákkal lenne érdemes kiváltani, ezáltal ténylegesen sérülésmentessé válna a módszer.

Mivel a kísérlet első mintavételi időpontjára a vizsgált paraméterekben már erőteljes változások következtek be, ezért kívánatos lenne már a kezelést követő első napon belül impedancia méréseket végezni.



## 6. ÖSSZEFOGLALÁS

Doktori munkám alapvetése volt a nehézfémstressz kialakulásának detektálására irányult és azt kívántam meghatározni, hogy mely paraméterek alkalmasak a korai stresszállapot jelzésére. Ezt a feladatot két szempontból közelítettem meg: az első szempontként a stresszhatás kialakulásának időbeli dinamikájával foglalkoztam: két nehézfém- az esszenciális nikkell és a nem esszenciális kadmium hatásait vizsgáltam klasszikus növényélettani módszerekkel a stressz kialakulásának korai fázisában és célul tűztem ki a legkorábbi időpont meghatározását, amikor a nehézfémstressz hatásai a kezelést követően kimutathatók.

Eredményeim alapján, a kísérlet során megvizsgált szerves savak (oxálcetsav, almasav, citromsav, borostyánkősav, fumársav) mennyiségi változásai és az antioxidatív enzimek (GPX, APX) aktivitás változásai összességében érzékenyebben reagáltak a nikkell és a kadmium stressz hatásaira, mint az *in vivo* fluoreszcencia indukció mérés, SPAD index mérés. Ellenben az APX enzim már a nikkellkezelést követő hatodik órában intenzív aktivitásnövekedést okozott, ezzel szemben a kadmium csak később: a gyökérben a kilencedik órától, a levélben a 24 órától.

A GPX mindkét fém esetén a gyökérben a kilencedik órától a levélben már a harmadik órától aktivitás növekedést okozott.

A szerves savak mennyiségi változásai kadmium esetében a gyökérben legkorábban a kezelést követő 12. óra elteltével, a szerves savak közül elsőként, a fumársav csökkenését tapasztaltam. A levélben a 3. naptól tapasztaltam almasav növekedést, a többi szerves sav mennyiségi csökkenést mutatott. Ezzel szemben a nikkellkezelésre sokkal gyorsabban reagált a növény a szerves savak mennyiségi változásával: a gyökérben az almasav-, a levélben az oxálcetsav már a kezelést követő 3. órában megnőtt.

Eredményeim informatívak lehetnek a korai stressz hatások detektálásában, emellett a kadmium és a nikkell eltérő fiziológiás hatása is megnyilvánult a szerves sav mennyiségi változásokban.

A munkám második részében, egy – a növényi stresszélettanban új mérési módszer-, a váltakozó áramú impedancia mérés használatára és optimális körülményeinek megteremtésére irányult.

Eredményeim szerint a váltakozó áramú impedancia mérés jelzi a kadmium stressz hatására kialakuló szöveti változásokat, illetve az elárasztás és kadmium stressz kombinált hatásainak kimutatására is. Mindemellett eleget tesz egy nagyon fontos követelménynek is: a módszer segítségével, a növényi szövet feldolgozása nélkül, gyorsan információt kaphatunk a fiziológiás állapotról is.

Továbbá eredményeim szerint az impedancia méréseket fiatal csíranövényeken is el lehet végezni, így ezen mérés segítségével a szemmel látható tünetek megjelenése előtt is már

információt kaphatunk a stresszorok hatásairól. A mérési módszer maga gyors és könnyen kivitelezhető, ezáltal ígéretesen használható növényélettani, illetve növényi stresszélettani vizsgálatok során.

A vízkultúrás kísérlet során megkerülhetlenné vált a megfelelő és körültekintő levegőztetés. A levegőztetés hiánya azon túl, hogy tipikus elárasztásos tüneteket hozott létre a zöldborsóban, hátrányosan befolyásolta a kadmium felvételét is.

Kísérletem tanúsága szerint a váltakozó áramú impedancia mérés eredményeiből számított paraméterek ( $R_a$ ,  $R_s$  és  $C_m$ ), alkalmasak az elárasztás és a kadmium stressz hatására bekövetkező szöveti szerkezeti változások kimutatására, elkülönítésére és időbeli nyomon követésére, már a stressz kialakulásának korai stádiumában.

Összességében váltakozó áramú impedancia mérés, az antioxidatív enzimaktivitás, illetve a szerves savak mennyiségváltozásának mérése egyaránt alkalmas a nehézfém felhalmozódás dinamikájának nyomon követésére, így a stressz korai detektálására, akkor, amikor a klasszikus stresszdetektálási módszerek, SPAD, fluoreszcencia indukció mérés még nem szolgáltatnak információt a növény stresszállapotáról.

## SUMMARY

The main objective of my doctoral work aimed heavy metal stress detection. This task was targeted from two perspectives: first, I dealt with the studying the time course dynamics of stress evolution: I investigated the effects of two heavy metals: the essential nickel and the non essential cadmium by classical methods of plant physiology in the early phase of stress evolution. Furthermore I proposed to identify an early date when the effects of the heavy metal stress can be detected after the treatment.

According to the results of the experiment the changes of organic acid (oxaloacetate, malate, citrate, succinate, fumarate) quantity and antioxidative enzyme (GPX, APX) activity reacted more sensitively to the effects of nickel and cadmium, than *in vivo* fluorescence induction measurement or SPAD index measurement.

In contrast, APX showed considerable activity rise even after the third hour of nickel treatment both in roots and leaves. However cadmium resulted in APX activity rise later: after the ninth hour in roots and twentyfourth in leaves.

Both the cadmium and the nickel treatment resulted in GPX activity rise from the ninth hour in the roots and from the third hour in the leaves.

As for the organic acids, cadmium resulted in fumarate decline after the twelfth hour of the treatment. Only malate showed rise after the third day, all the other organic acids declined.

Compared to this, nickel treatment resulted in a more rapid organic acid quantity rise: malate in roots and oxaloacetate in leaves after the third hour of treatment.

These results can be used in the early phase of stress detection, also the different physiological effects of nickel and cadmium can be followed through the changes of the quantity.

Overall, the electrical impedance, antioxidative enzyme activity and organic acid quantity measurements are suitable tools for following heavy metal accumulation thus early stress detection, when other classical stress detecting methods do not supply effective information about the physiological state of stressed plants.

According to my results the method of electrical impedance measurement is suitable for following the tissue alterations caused by cadmium stress, moreover it is possible to track the combined effects of waterlogging and cadmium stress.

In addition it fulfills a highly important criteria: it is possible to gain useful information about the physiological state of the plant without tissue processing.

Also, the measurement can be carried out on young seedlings, so it is possible to identify the effect of the stressor before the emergence of visible symptoms. The measurement is easy and fast to conduct that makes it promising to use successfully in plant physiological or plant stress physiological investigations.

Proprate and careful aeration became inevitable during the hydroponic plant growing, because the lack of aeration did not only result in typical flooding symptoms, but affected the uptake of cadmium in a disadvantageous manner.

According to the results of the experiment, the parameters ( $R_a$ ,  $R_s$  és  $C_m$ ) calculated from the measured plant impedance are suitable for the detection, distinction and monitoring the changes of tissue structure caused by cadmium and flooding even in the early phase of stress evolution.





# MELLÉKLETEK

## M1. Irodalomjegyzék

- ANELLI G., PELOSI P., GALOPPINI C. (1973). Influence of mercury on the amino acidic composition of tobacco leaves. In: *Agricultural and Biological Chemistry*, 37 (7) 579-1582.
- ANDERSEN P.C., BRODBECK B.V., MIZELL R.F. (1993). Diurnal variations of amino acids and organic acids in xylem fluid from *Lagerstroemia indica*: an endogenous circadian rhythm. In: *Physiologia Plantarum*, 89 (4) 783–790. p.
- ALASSIMONE J., ROPPOLO D., GELDNER N., VERMEER J.E. 2012. The endodermis-development and differentiation of the plant's inner skin. In: *Protoplasma*, 249 (3) 433-43. p.
- ALI B., HASAN S.A., HAYAT S., HAYAT Q., YADAV S., FARIDUDDIN Q., AHMAD A. (2008). In: A role for brassinosteroids in the amelioration of aluminium stress through antioxidant system in mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek). In: *Environmental and Experimental Botany*, 62 (2) 153–159. p.
- ANGELOVA V., IVANOV K. (2009). Bio-accumulation and distribution of heavy metals in black mustard (*Brassica nigra* Koch.). In: *Environmental Monitoring and Assessment*, 153 (1-4) 449-459. p.
- ARAUS J.L., AMARO T., VOLTAS J., NAKKOUL H., NACHIT M.M. (1998). Chlorophyll fluorescence as a selection criterion for grain yield in durum wheat under Mediterranean conditions. In: *Field Crops Research*, 55 209-223. p.
- ARNON D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. In: *Plant Physiology*, 24 1-15. p.
- ARORA A., SAIRAM R.K., SRIVASTAVA C.G. (2002). Oxidative stress and antioxidative system in plants. In: *Current science*, 82 (10) 1227-1238. p.
- ASADA K. (1992): Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. In: *Physiologia Plantarum*, 85 (2) 235–241. p.
- ASCHMANN. G., ZASOSKI R. J. (2006). Nickel and rubidium uptake by whole oat plants in solution culture. In: *Physiologia. Plantarum*, 71 (2) 191–196. p.
- BAKER A.J.M., WALKER P.L. (1989). Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. 155-178. p. In: SHAW A. (Szerk.): *Heavy metal tolerance in plants – Evolutionary aspects*. Boca-Raton, Florida: CRC Press, 355 p.
- BAKER A.J.M., MCGRATH S.P., REEVES R.G. (2000). Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of

- metal-polluted soils. 85-107. p. In: Norman T., Gary B. (Szerk.): *Phytoremediation of contaminated soil and water*. Boca-Raton, Florida: CRC Press, 408. p.
- BAKER A.J.M., BROOKS R.R. (1989). Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements –a review of their distribution, ecology and phytochemistry. In: *Biorecovery*, 1 81-126. p.
- BANSAL P., SHARMA P. (2002) Impact of lead and cadmium on enzymes of citric acid cycle in germinating pea seedlings. In: *Biologia Plantarum*, 45 (1) 125-127. p.
- BARCELÓ J., POSCHENRIEDER C., VAZQUEZ M.D., GUNSE B.(1996). Aluminium phytotoxicity: a challenge for plant scientists. In: *Fertilizer Research*,43 (1) 217–223. p.
- BASZYNSKI T., WAJDA L., KROL M., WOLINSKA D., KRUPA Z., TUKENDORF A. (1980) . Photosynthetic activities of cadmium-treated plants. In: *Physiologia Plantarum*, 48 (1) 365–370. p.
- BAZIHIZINA N., REDWAN M., TAITI C., GIORDANO C., MONETTI E., MASI E., AZZARELLO E., MANCUSO S. (2015). Root based responses account for *Psidium guajava* survival at high nickel concentration. In: *Journal of Plant Physiology*, 174 (1) 137-146. p.
- BLOKHINA O., VIROLAINEN E., FAGERSTEDT K. V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress. In: *A review of annual botany*, 91 (1) 179–194. p.
- BOLHÀR-NORDENKAMPF H. R., ÖQUIST G. (1993). Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In: HALL D., SCURLOCK J.M.O., BOLHÀR-NORDENKAMPF H. R. R., LEEGOOD C. R. C., LONGS.P. (Szerk.): *Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual* Chapman & Hall, London, 193-206. p.
- BOOMINATHAN R., DORAN P.M. (2002). Ni-induced oxidative stress in roots of the Ni hyperaccumulator, *Alyssum bertolonii*. In: *New Phytologist*, 156 (2) 205-215. p.
- BOOMINATHAN R., DORAN P.M. (2003). Organic acid complexation, heavy metal distribution and the effect of ATPase inhibition in hairy roots of hyperaccumulator plant species. In: *Journal of Biotechnology*, 101 (2) 131-146. p.
- BROOKS R.R., SHAW S., MARFIL A. A. (1981). The chemical form and physiological function of nickel in some Iberian *Alyssum* species. In: *Physiologia Plantarum*, 51 (2) 167-170. p.
- BROWN P.H., WELCH R.M., CARY E.E. (1987). Nickel: A Micronutrient Essential for Higher Plants. In: *Plant Physiology*, 85 (3) 801-803. p.

- BRYNHILDSEN L., ROSSWALL T. (1989). Effects of cadmium, copper, magnesium, and zinc on the decomposition of citrate by a *Klebsiella* sp. *Applied Environmental Microbiology*, 55 (6) 1375-1379. p.
- BURKE D. J., WEIS J. S., WEIS P. (2000). Release of metals by the leaves of the salt marsh grasses *Spartina alterniflora* and *Phragmites australis*. In: *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 51 (2) 153–159. p.
- BUTTNER W. L. (1977). Chlorophyll fluorescence: a probe for electron transfer and energy transfer. In: *Encyclopedia of Plant Physiology*, 5 149–167. p.
- CALLAHAN D.L., KOLJEV S.D., O’HAIR R.A.J., SALT D.E., BAKER A.J.M. (2007). Relationships of nicotinamide and other amino acids with nickel, zinc and iron in *Thlaspi* hyperaccumulators. In: *New Phytologist*, 176 (4) 836-848. p.
- CAO Y., REPO T., SILVENNOINEN R., LEHTO T., PELKONEN P. (2011). Analysis of the willow root system by electrical impedance spectroscopy. In: *Journal of Experimental Botany*, 62 (1) 351–358. p.
- CARVALHAIS L.C., DENNIS P.G., FEDOSEYENKO D., HAJIREZAEI M.R., BORRIS R., VON WIRÉN R. (2010). Root exudation of sugars, amino acids, and organic acids by maize as affected by nitrogen, phosphorus, potassium, and iron deficiency. In: *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 174 (1) 1-9. p.
- CATALDO D.A., GARLAND T.R., WILDUNG R.E., (1978). Nickel in plants: I. Uptake kinetics using intact soybean seedlings. In: *Plant Physiology*, 62 (4) 563–565. p.
- CATALDO D.A., GARLAND T.R., WILDUNG R.E., (1978). Nickel in plants II. Distribution and chemical form in soybean plants. In: *Plant Physiology*, 62 (4) 566-570. p.
- CATALDO D.A., MCFADDEN K.M., (1988). Organic constituents and complexation of nickel, iron, cadmium and plutonium in soybean xylem exudates. In: *Plant Physiology*, 86 (3) 734-739. p.
- CATALDO D.A., GARLAND T.R., WILDUNG R.E., (1983). Cadmium uptake kinetics in intact soybean plants. In: *Plant Physiology*, 73 (3) 844-848. p.
- CSEKE E., VÁMOSNÉ-VIGYÁZÓ L. (1991). Peroxidáz. In: Szabolcsi Gertrud (szerk.). *Enzimes analízis*. Bp. Akadémia Kiadó, 187-195. p.
- CHAKRAVARTY B., SRIVASTAVA S. (1992). Toxicity of some heavy metals in vivo and in vitro in *Helianthus annuus*. In: *Mutation Research*, 283 (4) 287-294. p.
- CHEN X., ZONG Y. (1999). Major impacts of sea-level rise on agriculture in the Yangtze delta around Shanghai. In: *Applied geography*, 19 (1) 69-84. p.

- CHEN Y.X., LIN Q., LUO Y.M., HE Y.F., ZHEN S.J., YU Y.L., TIAN G.M., WONG M.H. (2003). The role of citric acid on the phytoremediation of heavy metal contaminated soil. In: *Chemosphere*, 50 (6) 807-811. p.
- CHIRAZ C., PAGEAU K., SUZUKI A., GOUIA M.H., GHORBEL H., MASCLAUX-DAUBRESSE C. (2004). Cadmium toxicity induced changes in nitrogen management in *Lycopersicon esculentum* leading to a metabolic safeguard through an amino acid storage strategy. In: *Plant and Cell Physiology*, 45 (11) 1681-1693. p.
- CHUGH L.K., SAWHNEY S.K. (1996). Effect of cadmium on germination, amylases and rate of respiration of germinating pea seeds. In: *Environmental pollution*, 92 (1) 1-5. p.
- CIEŚLIŃSKI G., VAN REES K.C.J., SZMIGIELSKA A.M., KHRISNAMURTI G.S.R., HUANG P.M. (1998). Low molecular weight organic acids in rhizosphere soils of durum wheat and their effect on cadmium bioaccumulation. In: *Plant and Soil*, 203 (1) 109-117. p.
- CLARKSON D.T., LÜTTGE U. (1989). Mineral nutrition. Divalent cations, transport and compartmentalization. In: *Progress in Botany*, 51 93-112. p.
- CLEMENS S, AARTS M.G.M., THOMINE S., VERBRUGGEN N. (2013). Plant science: key to prevent slow cadmium poisoning. In: *Trends in Plant Science*, 18 (2) 92-99. p.
- COBBETT C.S. (2000). Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. In: *Plant Physiology*, 123 (3) 825-832. p.
- COLMER T.D., VOESENEK L.A.C. (2009). Flooding intolerance: suites of plant traits in variable environments. In: *Functional Plant Biology*, 36 (8) 665-681. p.
- COSTA G., MOREL J.L. (1994). Water relations, gas exchange and amino acid content in Cd-treated lettuce. In: *Plant Physiology and Biochemistry*, 32 (4) 561-570. p.
- COSTA G., SPITZ E. (1997). Influence of cadmium on soluble carbohydrates, free amino acids, protein content of in vitro cultured *Lupinus albus*. *Plant Science Limerick*, 128 131-140. p.
- DE LA ROSA G., PERALTA-VIDEA J.R., MONTES M., PARSONS J.G., CANO-AGUILERA I., GARDEA-TORRESDEY J.L. (2004). Cadmium uptake and translocation in tumbleweed (*Salsola kali*), a potential Cd-hyperaccumulator desert plant species: ICP/OES and XAS studies. In: *Chemosphere*, 55 (9) 1159-1168. p.
- DEAN D.A, RAMANATHAN T., MACHADO D., SUNDARARAJAN R. (2008). Electrical impedance spectroscopy study of biological tissues. In: *Journal of Electrostatics*, 66 (3-4) 165-177. p.
- DEGENHARDT B., GIMMLER H. (2000). Cell wall adaptations to multiple environmental stresses in maize roots. In: *Journal of Experimental Botany*, 51 (344) 595-603. p.

- DIPIERRO S., DE LEONARDIS S. (1997). The ascorbate system and lipid peroxidation in stored potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers. In: *Journal of Experimental Botany*, 48 (3) 779-783. p.
- DIXON N.E., GAZZOLA C., BLAKELY R.L., ZERNER B. (1975). Jack-Bean urease (E.C.3.5. 1.5.3.). A metalloenzyme. A simple biological role for nickel. In: *Journal of American Chemistry Society*, 97 (14) 4131–4133. p.
- DOMINGUES D.S., TAKAHASHI H.W., CAMARA C.A.P., NIXDORF S.L. (2012). Automated system developed to control pH and concentration of nutrient solution evaluated in hydroponic lettuce production. In: *Computeres and electronics in Agriculture*, 84 53–61. p.
- DREZNER G., DVOJKOVIC K., HORVAT D., NOVOSELOVIC D., LALIC A., (2007). Environmental impacts on wheat agronomic and quality traits. In: *Cereal Research Communications*, 35 (2) 357-360. p.
- DROPPA M., HORVÁTH G. (1990). Role of copper in photosynthesis. In: *Critical Reviews in Plant Sciences*, 9 (2) 111 – 123. p.
- DUFFUS J.H. (2002). „Heavy metals” – A meaningless term? In: *Pure applied chemistry*, 74 (5) 793-807. p.
- EBBS S., LAU I., AHNER B., KOCHIAN L. (2002). Phytochelation synthesis is not responsible for Cd tolerance in the Zn/Cd hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* (J.&C. Presl). In: *Planta*, 214 (4) 635-640. p.
- ELSTNER E.F., WAGNER G.A., SCHUTZ W. (1988). Activated oxygen in green plants in relation to stress situations. In: *Current topics in plant biochemistry and physiology*, 7 159-187. p.
- ERDEI S., HEGEDŰS A., HAUPTMANN G., SZALAI J., HORVÁTH G. (2002). Heavy metal induced physiological changes in the antioxidative response system. oxygen in green plants in relation to stress situations. In: *Acta Biologica Szegediensis*, 46 (3-4) 89-90. p.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2009. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on a request from the European Commission on cadmium in food. In: *EFSA Journal*, 980, 1-139. p.
- FELFÖLDI J., LÁSZLÓ P., BARABÁSSY S. FARKAS J. (1993). Dielectric method for detection of irradiation treatment of potatoes. In: *Radiation Physics and Chemistry*, 41 (3) 471-480. p.
- FISMES J., ECHEVARRIA G., LECLERC-CESSAC E., MOREL J.L. (2005). Uptake and transport of radioactive nickel and cadmium into three vegetables after wet aerial contamination. In: *Journal of environmental quality*, 34 (5) 1497-1507. p.

- FILGUEIRAS R.C., TAKAHASHI H.W., BENINNI E.R.Y. (2002). Hydroponic lettuce production in different concentrations and flow rates of nutrient solution. In: *Horticultura Brasileira*, 30 (3) 526-530. p.
- FREEMAN J.L., GARCIA D., KIM D., HOPF A., SALT D.E. (2005). Constitutively elevated salicylic acid signals Glutathione-mediated nickel tolerance in *Thlaspi* nickel hyperaccumulators. *Plant Physiology*, 137 (3) 1082-1091. p.
- FÖRSTNER U. (1995). Land contamination by metals: global scope and magnitude of problem. 1-33 p. In: Allen H.E., Huang C.P., Bailey G.W., Bowers A.R. (Szerk.): *Metal speciation and contamination of soil*. CRC Press, Boca Raton, 384 p.
- FULEKAR M.H., SINGH A., BHADURI A.M. (2009). Genetic Engineering Strategies for enhancing phytoremediation of heavy metals. In: *African Journal of Biotechnology*, 8 (4) 529-535. p.
- GAJEWSKA E., SKŁODOWSKA M. (2007). Effect of nickel on ROS content and antioxidative enzyme activities in wheat leaves. In: *BioMetals*, 20 (1) 27-36. p.
- GALLEGO S.M., BENAVIDES M.P., TOMARO M.L. (1996). Effects of heavy metal ion excess on sunflower leaves: evidence for involvement of oxidative stress. In: *Plant Science*, 121 (2) 151-159. p.
- GAO Y., HE J., LING W., HU H., LIU F. (2003). Effects of organic acids on copper and cadmium desorption from contaminated soils. In: *Environmental International*, 29 (5) 613-618. p.
- GARDEA-TORRESDEY J.L., PERALTA-VIDEA J.R., MONTES M., DE LA ROSA G., CORRAL-DIAZ B. (2004). Bioaccumulation of cadmium, chromium and copper by *Convolvulus arvensis* L.: Impact on plant growth and uptake of nutritional elements. In: *Bioresource Technology* 92 (3) 229-235. p.
- GIL P.M., GUROVICH L., SCHAFFER B., ALCAYAGA C., REY S., ITURRIAGA R., (2008). Root to leaf electrical signalling in avocado in response to light and soil water content. In: *Journal of Plant Physiology*, 165 (10) 1070-1078. p.
- GORA L., CLIJSTERS H. (1989). Effect of copper and zinc on the ethylene metabolism in *Phaseolus vulgaris* L. 219-228 p. In: Clijsters H., De Proft M., Marcelle R., Van Pocke M. (Szerk.): *Biochemical and Physiological Aspects of Ethylene Production in Lower and Higher Plants*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 349. p.
- GREGER M., BERTELL G. (1992). Effects of Cd<sup>2+</sup> and on the carbohydrate metabolism in sugar beet (*Beta vulgaris*). In: *Journal of Experimental Botany*, 43 (2) 167-173. p.

- GREENHAM C.G., RANDALL J.P. Ward. M.M. (1972). Impedance parameters in relation to phosphorus and calcium deficiencies in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). In: *Journal of Experimental Botany*, 23 (1) 197-209. p.
- GREENHAM C.G., RANDALL J.P. MÜLLER W.J. (1982). Studies of phosphorus and potassium deficiencies in *Trifolium subterraneum* based on electrical measurements. In: *Canadian Journal of Botany*, 60 (5) 634-644. p.
- GRICHKO V.P., GLICK B.R., (2001). Ethylene and flooding stress in plants. In: *Plant Physiology and Biochemistry*, 39 (1) 1–9. p.
- GRILL E., WINNACKER E.L., ZENK M.H. (1985). Phytochelatins: the principal heavy metal complexing peptides of higher plants. In: *Science*, 230 (4726) 674-676. p.
- GRIMNES S., MARTINSEN O.G. (2000). Electrical Properties of Tissue. 195-239. p. In: Grimnes, S., Martinsen, O.G. (Szerk.): *Bioimpedance and Bioelectricity Basics*, New York : Academic press, 470. p.
- HAN Y.Y., ZHANG W.Z., ZHANG S.S., WANG W., MING F. (2009). One novel mitochondrial citrate synthase in *Oryza sativa* L. can enhance aluminium tolerance in transgenic tobacco. In: *Molecular Biotechnology*, 42 (3) 299-305. p.
- HAO F., WAN, X., CHEN J. (2006). Involvement of plasma membrane NADPH oxidase in nickel induced oxidative stress in roots of wheat seedlings. In: *Plant Science*, 170 (1) 151-158 p.
- HARKER F.R., MAINDONALD J.H. (1994). Ripening of Nectarine Fruit (Changes in cell wall, vacuole, and membranes detected using electrical impedance measurements). In: *Plant Physiology*, 106 (1) 165-171.
- HAUNG K., VITORELLO V., (1996). Aluminium coordination to calmodulin: thermodynamic and kinetic aspects. In: *Coordination chemistry reviews*, 149 113–124. p.
- HAYDEN R.I., MOYSE C.A., CADLER F.W., CRAWFORD D.P., FENSOM D.S. (1968). Electrical impedance studies on potato and alfalfa tissue. In: *Journal of Experimental Botany*, 20 (2) 177-200. p.
- HEGEDŰS A., ERDEI S., HORVÁTH G. (2001). Comparative studies of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> detoxifying enzymes in green and greening barley seedlings under cadmium stress. In: *Plant Science*, 160 (6) 1085-1093. p.
- HEGEDŰS A., ERDEI S., HORVÁTH G. (2005). What is the crucial difference between the metabolic consequences of cadmium and zinc treatment of the plants? In: *Acta Biologica Szegediensis*, 49 (1-2) 55-60. p.

- HIETALA T., HIEKKALA P., ROSENQVIST H., LAAKSO S., TAHVANANIEN L., REPO T. (1998). Fatty acid and alkane changes in willow during frost-hardening. In: *Phytochemistry*, 47 (8) 1505-1507. p.
- HOAGLAND D.R., ARNON A.J. (1950). The water culture method for growing plants without soil. In: *Californian Agricultural Experimental Station Circular*, 347 1-32. p.
- HORVÁTH G., DROPPA M., ORAZEEZ A., RASKIN V.I., MARDER J.B. (1996). Formation of photosynthetic apparatus during greening of cadmium-poisoned barley leaves. In: *Planta*, 199 (2) 238-243. p.
- HUMBECK K., KRUPINSKA K., (2003). The abundance of minor chlorophyll a/b-binding proteins CP29 and LHC I of barley (*Hordeum vulgare* L.) during leaf senescence is controlled by light. In: *Journal of Experimental Botany*, 54 (381) 375–383. p.
- IORI V., PIETRINI F., CHEREMISINA A., SHEVYAKOVA N.I., KJUZNETZOV V.V. (2013). Growth responses, metal accumulation and phytoremoval capability in *Amaranthus* plants exposed to nickel under hydroponics. In: *Water, air and soil pollution*, 224 1450. p.
- ITURBE-ORMAETXE I., ESCUREDO P.R., ARRESE I.C., BECANA M. (1998). Oxidative damage in pea plants exposed to water deficit or paraquat. In: *Plant Physiology*, 116 (1) 173-181. p.
- JACKSON P.C., TAYLOR J.M. 1970. Effects of organic acids on ion uptake and retention in barley roots. In: *Plant Physiology* 46 (4) 538-542. p.
- JEAN L., BORDAS K. GAUTIER-MOUSSARD C., VERNAY P., HITMI A., BOLLINGER J.C. (2008). Effect of citric acid and EDTA on chromium and nickel uptake and translocation by *Datura innoxia*. In: *Environmental Pollution*, 153 (3) 555- 563. p.
- JÓCSÁK I., VÉGVÁRI GY., DROPPA M. (2005). Heavy metal detoxification by organic acids in barley seedlings. In: *Acta Biologica Szegediensis*, 49 (1-2) 99-101. p.
- KABATA – PENDIAS A., PENDIAS H. (1984). Trace elements in Soils and Plants. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. p.315.
- KERSTEN W.J., BORRKS R.R., REEVES R.G., JAFFRÉ T. (1980). Nature of nickel complexes in *Psychotria douarrei* and other nickel-accumulating plants. In: *Phytochemistry*, 19 (9) 1963-1965. p.
- KHALID B.Y., TINSLEY J. (1980). Some effects of nickel toxicity on rye grass. In: *Plant and Soil*, 55 (1) 139-144. p.
- KHAMIS M.H., EL-MAHROOK E.M., ABDELGAWAD M.A. (2014). Phytoextraction potential of cadmium and lead contamination using *Melia azedarach* and *Populus alba* seedlings. In: *African Journal of Biotechnology*, 13(53) 4726-4732. p.



- KÖRNER E., MØLLER L. M., JENSÉN P. (1987). Effects of  $\text{Ca}^{2+}$  and other divalent cations on uptake of  $\text{Ni}^{2+}$  by excised barley roots. In: *Physiologia Plantarum*, 71 (1) 49-54. p.
- KRAMER U., PICKERING I.J., PRINCE R.C., RASKIN I., SALT D.E. (2000). Subcellular localisation and speciation of nickel in hyperaccumulator and non- hyperaccumulator *Thlaspi* species. In: *Plant Physiology*, 122 (4) 1343-1353. p.
- KRÄMER U., COTTER-HOWELS J.D., CHARNOCK J.M., BAKER A.J.M., SMITH J.A.C. (1996). Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel. In: *Nature*, 379 635-639. p.
- KRISHNAMURTI G.S.R., CIELINSKI G., HUANG P.M., VAN REES K.C.J. (1997). Kinetics of cadmium release from soils as influenced by organic acid: implementation in cadmium availability. In: *Journal of Environmental Quality*, 26 (1) 271-277. p.
- KUANG W., NELSON S.O. (1998): Low-frequency dielectric properties of biological tissues: A review with some new insights. In: *Transaction of the ASAE*, 41 (1) 173-184. p.
- KUKIER U., PETERS C.A., CHANEY R.L., ANGLE J.S., ROSEBERG R.J.(2004). The effect of pH on metal accumulation in two *Alyssum* species. In: *Journal of Environmental Quality*, 33 (6) 2090-2102. p.
- KÜPPER H., LOMBI E., ZHAO F.J., WIESHAMMER G., MCGRATH S.P. (2001). Cellular compartmentalization of nickel in the hyperaccumulator *Alyssum lesbiacum*, *Alyssum bertolonii* and *Thlaspi goesingense*. In: *Journal of Experimental Botany*, 52 (365) 2291-2300. p.
- LAMOREAUX R.J., CHANEY W.R. (1978). The effect of cadmium on the net photosynthesis, transpiration and dark respiration of excised silver maple leaves. In: *Physiologia Plantarum* 43 (3) 231-236. p.
- LASAT M.M. (2002). Phytoremediation of toxic metals: a review of biological mechanisms. In: *Journal of Environmental Quality*, 31 (1) 109-120. p.
- LUORANEN J., REPO T., AND LAPPI J. (2004). Assessment of the frost hardiness of shoots of silver birch (*Betula pendula*) seedlings with and without controlled exposure to freezing. *Canadian Journal of Forest Research* 34 (1) 1108– 1118. p.
- LEE J., REEVES R.D., BROOKES R.R., JAFFRÉ T. (1977). Isolation and identification of a citrato-complex of nickel from nickel accumulating plants. In: *Phytochemistry*, 16 (10) 1503-1505. p.
- LI R.H., GUO P.P., BAUMZ M., GRAND S., CECCARELLI S. (2006). Evaluation of Chlorophyll Content and Fluorescence Parameters as Indicators of Drought Tolerance in Barley. In: *Agricultural Sciences in China*, 5 (10) 751-757. p.

- LINDBREG S., LANDBERG T., GREGER M. (2004). A new method to detect cadmium uptake in protoplasts. In: *Planta* 219 (3) 526–532. p.
- LIMA A.I.G., PEREIRA S.I.L., FIGUEIRA E.M.A.P., CALDEIRA G.C.N., CALDEIRA H.D.Q.M. (2006). Cadmium detoxification of roots of *Pisum sativum* seedlings: relationship between toxicity levels, thiol pool alterations and growth. In: *Environmental and Experimental Botany*, 55 (1-2) 149-162. p.
- LIN M-C., CHEN L-H., CHEN T-M. (2012). The development and application of an electrical impedance spectroscopy measurement system for plant tissues. In: *Computers and Electronics in Agriculture*, 82 96-99. p.
- LLAMAS A., ULLRICH C., SANZ A. (2008). Ni<sup>2+</sup> toxicity in rice: effect on membrane functionality and plant water content. In: *Plant Physiology and Biochemistry*, 46 (10) 905-910. p.
- LOPEZ-BUCIO J., NIETO-JACOBO M.F., RAMIREZ-RODRIGUEZ V., HERRERA-ESTRELLA L. (2000). Organic acid metabolism in plants: from adaptive physiology to transgenic varieties for cultivation in extreme soils. In: *Plant Science*, 160 (1) 1-13. p.
- LUND B.O., MILLER D.M., WOODS J.S. (1991). Mercury – induced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and lipid peroxidation *in vitro* in rat kidney mitochondria. In: *Biochemical Pharmacology*, 42 (S1) S181-S187. p.
- LUO Y., RIMMER D. L. (1995). Zinc-copper interaction affecting plant growth on a metal - contaminated soil. In: *Environmental Pollution*, 88 (1) 79-83. p.
- MACDONALD J.R. (1992). Impedance spectroscopy. *Annual Biomedical Engineering*, 20 289-305.
- MADHAVA R.K.V., SRESTY T.V.S. (2000). Antioxidative parameters in the seedlings of pigeon pea (*Cajanus cajan* L. Millsapugh) in response to Zn and Ni stresses. In: *Plant Science*, 157 (1) 113-128. p.
- MALAN H.L., FARRANT J.M. (1998). Effects of the metal pollutants cadmium and nickel on soybean seed development. In: *Seed Science Research*, 8 (4) 445-453. p.
- MARI S., GENDRE D., PIANELLI K., OUERDANE L., LOBINSKI R., BRIAT J-F., LEBRUN M., CZERNIC P. (2006). Root-to-shoot long distance circulation of nicotinamine and nicotinamine nickel chelates in the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. In: *Journal of Experimental Botany*, 57 (15) 4111-4121. p.
- MARTINOIA E., MASSONNEAU A., FRANGNE N. (2000). Transport processes of solutes across the vacuolar membrane of higher plants. In: *Plant and cell Physiology*, 41 (11) 1175-1186. p.

- MARTINSEN O.G., S. GRIMNES SCHWAN, H.P.(2002). Biological tissues: interfacial and dielectric properties. 945-965. p In: Somasundaran P. (Szerk.): *Encyclopedia of Surface and Colloid Science* Boca-Raton, Florida: CRC Press. 8032. p.
- MATHIALAGAN T., VIRARAGHAVAN T. (2002). Adsorption of cadmium from aqueous solutions by perlite. In: *Journal of hazardous materials*, 94 (3) 291-303. p.
- MAXWELL K., JOHNSON G.N. (2000). Chlorophyll fluorescence – a practical guide. In: *Journal of Experimental Botany*, 51 (345) 659-668. p.
- MCKENNA I. M., CHANEY R.L., WILLIAMS F.M. (1993). The effects of cadmium and zinc interactions on the accumulation and tissue distribution of zinc and cadmium in lettuce and spinach. In: *Environmental Pollution*, 79 (2) 113–120. p.
- MCLAUGHLIN M.J., PARKER D.R., CLAKRE J.M., (1999). Metals and micronutrients-food safety issues. In: *Field Crops Research*, 60 (1-2) 143-163. p.
- MEHLHORN H., LELANDIS M., KORTH H.G., FOYER C.H. (1995). Ascorbate is the natural substrate for plant peroxidases. *FEBS Letters*, 378 (3) 203-206. p.
- MHATRE G. N. PANKHURST C.E. (1997). Bioindicators to decontamination of soils with special reference to heavy metals. p. 349-369. In: *Biological indicators of soil health* PANKHURST C.E., DOUBE B.M., GUPTA V.V.S.R. (Szerk.), 349-369. p. CAB International, Wallingford.
- MEINDL G. A., BAIN, D.J., ASHMAN T-L. (2014). Nickel accumulation in leaves, floral organs and rewards varies by serpentine soil affinity. *AoB Plants*, 6 doi:10.1093/aobpla/plu036
- MOBLEY H.L., HAUSINGER R.P., (1989). Microbial Ureases: significance, regulation and molecular characterization. In: *Microbiology Review*, 53 (1) 85-108. p.
- MONTARGÈS-PELLETIER E., CHARDOT V., ECHEVARRIA G., MICHOT L.J., BAUER A., MOREL J-L. (2008). Identification of nickel chelators in three hyperaccumulating plants: An X-ray spectroscopic study. *Phytochemistry*, 69 (8) 1695-1709. p.
- MOSSOR-PIETRASZEWSKA T. (2001). Effect of aluminium on plant growth and metabolism. In: *Acta Biochimica Polonica*, 48 (3) 673-686. p.
- MURADOGLU F., GUNDOGLU M., ERCISLI S., ENCU T., BALTA F., JAAFAR H.Z.E., ZIA-UL-HAG M. (2015). Cadmium toxicity affects chlorophyll a and b content, antioxidant enzyme activities and mineral nutrient accumulation in strawberry. In: *Biological Research*, 48:11 DOI 10.1186/s40659-015-0001-3
- NAKANISHI H, OGAWAI, ISHIMARUY, MORIS, NISHIZAWA N.K. (2006). Iron deficiency enhances cadmium uptake and translocation mediated by the Fe<sup>2+</sup> transporters OsIRT1 and OsIRT2 in rice. In: *Soil Science and Plant Nutrition*, 52 (4) 464-469. p.

- NAKANO Y., ASADA K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. In: *Plant and Cell Physiology*, 22 (5) 867-880. p.
- NEUMANN P.M., CHAMEL A. (1986). Comparative phloem mobility of nickel in nonsenescent plants. In: *Plant Physiology*, 81 (2) 689-691. p.
- NIEMINEN T.M., UKONMAANAHO L., RAUSCH W., SHOTYK N. (2007). Biochemistry of nickel and its release into the environment. 1-30. p. In: Sigel A., Sigel K, Sigel R.K.O. (Szerk.): *Metal ions in life sciences*. Berlin: Springer 30.
- NIKI T., GLADISH D. K. (2001). Changes in Growth and Structure of Pea Primary Roots (*Pisum sativum* L. cv. Alaska). In: *Plant and Cell Physiology*, 42 (7) 694-702. p.
- OUARITI O., BOUSSAMA N., ZARROUK M., CHERIF A., GHORBAL M. H. (1997). Cadmium – and copper – induced changes in tomato membrane lipids. In: *Phytochemistry*, 45 (7) 1343–1350. p.
- OLLER A. R., COSTA M., OBERDÖRSTER G. (1997). Carcinogenicity assessment of selected nickel compounds. In: *Toxicology and Applied Pharmacology* 143 (1) 152-166. p.
- ORMORD D. P. (1977). Cadmium and nickel effects on growth and ozone sensitivity of pea. *Water, Air and Soil Pollution*, 8 263-270. p.
- OUERDANE L., MARI S., CZERNIC P., LEBRUN M., LOBINSKI R. (2006). Speciation of non-covalent nickel species in plant tissue extracts by electrospray Q-TOFMS/MS after their isolation by 2 D size exclusion – hydrophylic interaction LC (SEC-HILIC) monitored by ICP-MS. In: *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 21 676-683. p.
- PADMAJA K., PRASAD D.D.K., PRASAD A.R.K. (1990). Inhibition of chlorophyll synthesis in *Phaseolus vulgaris* L. seedlings by cadmium acetate. In: *Phytosynthetica*, 24 (1) 399-405. p.
- PADMAVATHIAMMA P.K., LI L.Y. (2007). Phytoremediation Technology: hyperaccumulation metals in plants. In: *Water, Air and Soil Pollution*, 184 (1) 105-126. p.
- PAGE V., WEISSKOPF L., FELLER U. (2006). Heavy metals in white lupin: Uptake, root-to-shoot transfer and redistribution within the plant. In: *New Phytologist*, 171 (2) 329-341. p.
- PADMAJA K., PRASAD D.D.K., PRASAD A.R.K.(1990). Inhibition of chlorophyll synthesis in *Phaseolus vulgaris* L. seedlings by cadmium acetate. In: *Phytosynthetica*, 24 (3) 399-405. p.
- PANDA G.C., DAS S.K., BANDOPADHYAY T.S., GUHA A.K. (2007). Adsorption of nickel on husk of *Lathyrus sativus*: Behavior and binding mechanism. In: *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 57 (2) 135-142. p.

- PAPAZOGLU E.G., SERELIS K.G., BOURANIS D.L. (2007). Impact of high cadmium and nickel soil concentration on selected physiological parameters of *Arundo donax* L. In: *European Journal of Soil Biology*, 43 (4) 207-215. p.
- PARK H.S., BALASUBRAMANIAN V. M., SASTRY S.K. (2013). Estimating pressure induced changes in vegetable tissue using *in situ* electrical conductivity measurement and instrumental analysis. In: *Journal of Food Engineering*, 114 (1) 47-56. p.
- PETHING R., KELL D.B. (1987). The passive electrical properties of biological systems: their significance in physiology, biophysics and biotechnology. In: *Physics in Medicine and Biology*, 32 (8) 933-970. p.
- PICCINI D.F., MALATOVA E. (1992). Effect of nickel on two common bean cultivars. In: *Journal of Plant Nutrition*, 15 (11) 2343-2350. p.
- PODAR D., RAMSEY M. H. HUTCHINGS M. J. (2004). Effect of cadmium, zinc and substrate heterogeneity on yield, shoot metal concentration and metal uptake by *Brassica juncea* : Implications for human health risk assessment and phytoremediation. In: *New Phytologist*, 163 (2) 313–324. p.
- POLACCO J.C., HOLAND M.A. (1994). Genetic control of plant ureases. In: Setlow, J.K. (Szerk.): *Genetic Engineering*, New York: Plenum Press, 16 33-48. p
- POPOVA T.N., PINHEIRO DE CARVALHO M.A. (1998). Citrate and isocitrate in plant metabolism. In: *Biochimica et Biophysica Acta*, 1364 (3) 307-325. p.
- PRASAD M.N.V. (1995) Cadmium toxicity and tolerance in vascular plants. IN: *Environmental and Experimental Botany*, 35(4) 525–545. p.
- PRASAD M.N.V.(Szerk.) (2004). Heavy Metal Stress in Plants. In: Prasad, M.N.V.Heiderberg :Springer-Verlag, 8.p.
- PRASAD M.N.V.(Szerk.) (2004). Heavy Metal Stress in Plants. In: Prasad, M.N.V.Heiderberg :Springer-Verlag,16-18. p.
- PRASAD M.N.V.(Szerk.) (2004). Heavy Metal Stress in Plants. In: Prasad, M.N.V.Heiderberg :Springer-Verlag, 182-201. p.
- PRASAD M.N.V.(Szerk.) (2004). Heavy Metal Stress in Plants. In: Prasad, M.N.V.Heiderberg :Springer-Verlag, 357. p.
- PRIVÉ J.P., ZHANG M.I.N. (1996). Estimating cold stress in `Beautiful arcade` apple roots using electrical impedance analysis. In: *HortTechnology*, 6 (1) 54-58. p.
- RAJHI I., YAMAUCHI T., TAKAHASHI H., NISHIUCHI S., SHIONO K., WATANABE R., MLIKI A., NAGAMURA Y., TSUTSUMI N., NISHIZAWA N.K., NAKAZONO M. (2011). Identification of genes expressed in maize root cortical cells during lysigenous

- aerenchyma formation using laser microdissection and microarray analysis. In: *New Phytologist*, 190 (2) 351-368. p.
- RAJKAI K, VÉGH KR, NACSA T (2005). Electrical capacitance of roots in relation to plant electrodes, measuring frequency and root media. In: *Acta Agronomica Hungarica*, 53 (2) 197-210. p.
- REPO T., KORHONEN A., LAUKKANEN M., LEHTO T. SILVENNOINEN R. (2014). Detecting mycorrhizal colonisation in Scots pine roots using electrical impedance spectra. In: *Biosystems engineering*, 121 139-149. p.
- REPO T., LAUKKANEN J., SILVENNOINEN R., (2005). Measurement of the tree root growth using electrical impedance spectroscopy. *Silva Fennica* 39 (2) 159–166. p.
- REPO T., ZHANG G., RYYPPO A., RIKALA R. (2000). The electrical impedance spectroscopy of Scot pine (*Pinus sylvestris* L.) shoots in relation to cold acclimation. In: *Journal of Experimental Botany*, 51 (353) 2095-2107. p.
- REPO T., ZHANG M.I.N., RYYPPO A., VAPAAVUORI E., SUTINEN S. (1994). Effects of freeze-thaw injury on parameters of distributed electrical circuits of stems and needles of Scots pine seedlings at different stages of acclimation. In: *Journal of Experimental Botany*, 45 (6) 823-833. p.
- ROBINSON B.H., BROOKS R.R., CLOTHIER B.E. (1999). Soil amendments affecting nickel and cobalt uptake by *Berkheya coddii*: Potential use for phytomining and phytoremediation. In: *Annals of Botany*, 84 (6) 689-694. p.
- RIVETTA A., NEGRINI N., COCUCCI M. (1997). Involvement of Ca<sup>2+</sup>- calmodulin in Cd<sup>2+</sup> toxicity during the early phases of radish (*Raphanus sativus* L.) seed germination. In: *Plant Cell and Environment*, 20 (5) 600-608. p.
- ROS R., MORALES A., SEGURA J., PICAZO I. (1992). *In vivo* and *in vitro* effects of nickel and cadmium on the plasmalemma ATP-ase from rice (*Oriza sativa* L.) shoots and roots. In: *Plant Science*, 83 (1) 1-6. p.
- RUBIO M. I., ESCRIG I., MARTÍNEZ-CORTINA C., LÓPEZ-BENET F.J., SANZ A. (1994). Cadmium and nickel accumulation in rice plant. Effects on mineral nutrition and possible interactions of abscisic and gibberellic acids. In: *Plant Growth and Regulation*, 14 (1) 151–157. p.
- SALT D.E., SMITH R.D., SCARASCIA M.G., KINNERSELY A.M., (1993). The role of phytochelatins in plant growth and productivity. In: *Plant Growth Regulation*, 12 (3) 207-217. p.

- SALT D.E., WAGNER G.J. (1993). Cadmium transport across tonoplast of vesicles from oat roots-Evidence for a  $\text{Cd}^{2+}/\text{H}^{+}$  antiport activity. In: *The Journal of Biological Chemistry*, 268 (17) 12297-12302. p.
- SAMANTARAY S., ROUT G.R., DAS P. (1997). Tolerance of rice to nickel in nutrient solution. In: *Biologia Plantarum*, 40 (2) 295-298. p.
- SANDALIO L.M., DALURZO H.C., GÓMEZ M., ROMERO-PUERTAS M.C., DEL RÍO L.A. (2001). Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. In: *Journal of Experimental Botany*, 52 (364) 2115-2126. p.
- SANTOS C., MONTEIRO M., DIAS M.C. (Szerk.) (2010). Cadmium toxicity in crops. A review. New York: Nova Science Publishers Inc. 54.p.
- SCHÜTZENDÜBEL A., SCHWANZ P., TEICHMANN T., GROSS K., LAGENFELD-HEYSER R., GODBOLD D.L., POLLE A. (2001). Cadmium-induced changes in the antioxidative system, hydrogen peroxide content, and differentiation in Scots Pine roots. In: *Plant Physiology*, 127 (3) 887-898. p.
- SEREGIN I.V., KOZHEVNIKOVA A.D. (2006). Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. In: *Russian Journal of Plant Physiology*, 53 (2) 257-277. p.
- SEREGIN I.V., KOZHEVNIKOVA A.D., KAZYUMINA E.M., IVANOV V.B. (2003). Nickel toxicity and distribution in maize roots. In: *Russian Journal of Plant Physiology*, 50 (5) 793-800. p.
- SANITÀ DI TOPPI, GABRIELLI R. (1999). Response to cadmium in higher plants. In: *Environmental and Experimental Botany*, 41(2) 105-130. p.
- SHAO G.S., CHEN M.X., ZHANG H.X., XU C.M., WANG D.Y., QIAN Q., ZHANG G.P. (2007). Cadmium Accumulation and Its Toxicity in *Brittle Culm 1 (bc1)*, a fragile rice mutant. In: *Rice Science*, 14 (3) 217-222. p.
- SHEORAN I.S., GUPTA V.K., LAURA J.S., SINGH, R. (1991). Photosynthetic carbon fixation, translocation and metabolite levels in pigeonpea (*Cajanus cajan* L.) leaves exposed to excess cadmium. In: *Indian Journal of Experimental Botany*, 29 (9) 857-861.
- SINGH J., SOOD R., SINGH P. (1996). Proximate composition, structural carbohydrates and mineral contents of French bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In: *Legume Research*, 19 (2) 89-94. p.
- SHIONO K., OGAWA S., YAMAZAKI S., ISODA H., FUJIMURA T., NAKAZONO M., COLMER T.D. (2011). Contrasting dynamics of radial  $\text{O}_2^-$  loss barrier induction and aerenchyma formation in rice roots of two lengths. In: *Annals of Botany*, 107 (1) 89-99. p.

- SCHURR U., SCHULZE E.D., (1995). The concentration of xylem sap from intact, transpiring castor bean plants (*Ricinus comunis* L.). In: *Plant Cell and Environment*, 18 (4) 409-420. p.
- SIRKO A., BRODZIK R. (2000). Plant ureases: Roles and Regulation. In: *Acta Biochimica Polonica*, 47 (4) 1189-1195. p.
- SKORSINSKA E., URBANIK-SYPNIEWSKA T., RUSSA R., BASZYNSKI T. (1991). Galactolipase activity of chloroplasts in cadmium-treated runner bean plants. In: *Journal of Plant Physiology*, 138 454–459. p.
- SMEETS K., CUYRES A., LAMBRECHTS A., SEMANE B., HOET P., LAERE A.V., VANGRONSVELD J. (2005). Induction of oxidative stress and antioxidative mechanisms in *Phaseolus vulgaris* after Cd application. In: *Plant Physiology and Biochemistry*, 43 (5) 437-444. p.
- STIBOVORA M., DOUBRAVOVA M., BREZINOVA A., FRIEDRICH A. (1986). Effect of heavy metal ions on growth and biochemical characteristics of photosynthesis of barley. In: *Photosynthetica*, 20 (4) 418-425.
- SUGIYAMA J., HAYASHI T., HORIUCHI H. (1989). Changes in electrical impedance of prince melon during ripening. In: *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 36 424-427. p.
- STRASSER B. J., STRASSER R. J. (1995). Measuring fast fluorescence transients to address environmental questions: the JIP-test. 977-980. p. In: MATHIS P., (Szerk.): *Photosynthesis: from Light to Biosphere* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 5168. p.
- SUTINEN M-L., RITARI A., HOPPALA T., KUJALA K. (1998). Seasonal changes in soil temperature and in the frost hardiness of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) under subarctic conditions. In: *Canadian Journal of Forest Research*, 28 946-950. p.
- TAKAHASHI R., ISHIMARU Y., SENOURA T., SHIMO H., ISHIKAWA S., ARAO T., NAKANISHI H., NISHIZAWA N.K.(2011). The OsNRAMP1 iron transporter is involved in Cd accumulation in rice. In: *Journal of Experimental Botany*, 62 (14) 4843-4850. p.
- TAMAS L., DUDIKOVA J., DURCEKOVA K., HALUSKOVA L., HUTTOVA J., MISTRIK I., OLLE M. (2008). Alterations of the gene expression, lipid peroxidation, proline and thiol content along the barley root exposed to cadmium. In: *Journal of Plant Physiology*, 165 (1) 1193–1203. p.
- TATÁR E., MIHUCZ V.G., KMETHY B., ZÁRAY GY., FODOR F. (2000). Determination of organic acids and their role in nickel transport within cucumber plants. In: *Microchemical Journal*, 1 (1-3):73-81.
- TERRY N., BAÑUELOS G. S. (Szerk.) (2000). *Phytoremediation of contaminated soil and water*. Boca Raton, Florida: CRC Press, 135. p.



- TOMSETT A.B., SEWELL A.K., JONES S.J., MIRANDA J.R., DE THURMAN D.A. (1992). Metal-binding proteins and metal-regulated gene expression in higher plants. In: WRAY JL (Szerk.): *Inducible Plant Proteins: their biochemistry and molecular biology*. Cambridge University Press, Cambridge, 1-24. p.
- TOYODA K., FARKAS I., KOJIMA H. (1994). Monitoring changes in material properties of agricultural products during heating and drying by impedance spectroscopial analysis. In: *Journal of food Physics*, 2 69-98. p.
- TOYODA, K.R., TSENKOVA, R. (1998). Measurements of freezing process of agricultural products by impedance spectroscopy. 2nd Int. Workshop on Control Application in Post-Harvest and Processing Technology, Budapest, Hungary.
- TUBA Z., CSINTALAN ZS. (1992). The effect of pollution on the physiological process in plants. 169-191. p. In: Kovács, M., Podoni, J., Tuba, Z., Turcsányi, G. (Szerk.). *Biological Indicators in Environmental Protection*. Akad. Publ., Budapest and Ellis Horwood Ltd. Publ., Chichester, 207. p.
- TUBA Z., CSINTALAN ZS. (1993). Bioindication of road motor traffic caused heavy metal pollution by lichen transplants. 206–215. p. In: Markert, B. (Szerk.): *Plants as Biomonitors – Indicators for Heavy Metal Pollution of the Terrestrial Environment*. Weinheim, New York: VHC Publisher Inc, 644. p.
- TUBA Z. (1996). A vizi környezet tartós víztöbblet, elárasztás és oxigén hiánya kiváltotta stressz hatása és tolerálása magasabbrendű növényekben. In: *Környezeti Biokémia* (szerk. Balogh Á.) Stúdium kiadó, Nyíregyháza.
- UENO D., MA J.F., IWASHITA T. (2005). Identification of the form of Cd in the leaves of a superior Cd-accumulating ecotype of *Thlaspi caerulescens* using <sup>113</sup>Cd-NMR. In: *Planta*, 221 (6) 928-936. p.
- VAINOLA A., REPO T. (2000). Impedance spectroscopy in frost hardiness evolution of *Rhododendron* leaves. In: *Annals of Botany*, 86 (4) 779-805. p.
- VASSILEV A., YORDANOVI., CHAKALOVA E., KERIN V. (1995). Effect of cadmium stress on growth and photosynthesis of young (*H. vulgare* L.) plants. II. Structural and functional changes in photosynthetic apparatus. In: *Bulgarian Journal of. Plant Physiology*, 21(4) 12–21. p.
- VASSILEV A., MANOLOV P. (1999). Chlorophyll fluorescence of barley (*H. vulgare* L.) seedlings grown in excess of Cd<sup>2+</sup>. In: *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 25 (3–4) 67–76. p.

- VELIKOVA V., TSONEV T., LORETO F., CENTRITTO M. (2011). Changes in photosynthesis, mesophyll conductance to CO<sub>2</sub>, and isoprenoid emissions in *Populus nigra* plants exposed to excess nickel. In: *Environmental Pollution*, 159 (5) 1058-1066. p.
- VERMA K., SHEKHAWAT S.G., SHARM, A., METHA S.K., SHARMA V. (2008). Cadmium induced oxidative stress and changes in soluble and ionically bound cell wall peroxidase activities in roots of seedling and 3–4 leaf stage plants of *Brassica juncea* (L.) czern. In: *Plant Cell Reports*, 27 (7) 1261-2169. p.
- VÖGELI-LANGE R., WAGNER G.J. (1996). Relationship between cadmium, glutathione and cadmium – binding peptides (phytochelatins) in leaves of intact tobacco seedlings. In: *Plant Science*, 114 (1) 11-18. p.
- VOZÁRY E., LÁSZLÓ P. ZSIVANOVITS G. (1999). Impedance Parameter Characterizing Apple Bruise. *Annale of New York Academy of Science* 873 421-429. p.
- WELCH R.M. (1995). Micronutrient nutrition of plants. In: *Critical Reviews in Plant Sciences*, 14 (1) 49-82. p.
- WIEDEMUTH K., MÜLLER J., KAHLAU A., AMME S., MOCK H.P., GRZAM A., HELL R., EGLE K., BESCHOW H., HUMBECK K. (2005). Successive maturation and senescence of individual leaves during barley whole plant ontogeny reveals temporal and spatial regulation of photosynthetic function in conjunction with C and N metabolism. In: *Journal of Plant Physiology*, 162 (11) 1226-1236. p.
- WU L.H., LUO Y.M., CHRISTIE P., WONG M.H. (2003). Effects of EDTA and low molecular weight organic acids on soil solution properties of a heavy metal polluted soil. In: *Chemosphere*, 50 (6) 819-822. p.
- WU L., OGAWA Y., TAGAWA A. (2008). Electrical impedance spectroscopy analysis of eggplant pulp and effects of drying and freezing –thawing treatments on its impedance characteristics. In: *Journal of food Engineering*, 87 (2) 274-280. p.
- YANTIANG G., MARSCHNER H. (1995). Uptake, distribution, and binding of cadmium and nickel in different plant species. In: *Journal of Plant Nutrition*, 18 (12) 2691-2706. p.
- ZACCHINI M., PIETRINI F., SCARASCIA-MUGNOZZA G., IORI V., PIETROSANTI L., MASSACCI A., (2009). Metal tolerance, accumulation and translocation in poplar and willow clones treated with cadmium in hydroponics. In: *Water, air and soil pollution*, 197 (1) 23-34. p.
- ZHANG M.I.N., WILLISON J.H..M. (1991). Electrical impedance analysis in plant tissues: A double shell model. In: *Journal of Experimental Botany*, 42 (11) 1465-1476. p.

- ZHANG M.I.N. WILLISON J.H.M. (1992). Electrical impedance analysis in plant tissues: The effect of freeze-thaw injury on the electrical properties of potato tuber and carrot root tissues. In: *Canadian Journal of Plant Science*, 72 (2) 545-553. p.
- ZHANG M.I.N., WILLISON J.H.M., COX M.A, HALL S.A. (1993). Measurements of heat injury in plant tissue by using electrical impedance analysis. In: *Canadian Journal of Botany*, 71 (12) 1605-1611. p.
- ZHANG H., JIANG Y., HE Z., MA M. (2005). Cadmium accumulation and oxidative burst in garlic (*Allium sativum*). In: *Journal of Plant Physiology*, 162(9) 977-984. p.
- ZHENG L., WANG Z., SUN H., ZHANG M., LI M. (2014). Real-time evaluation of corn leaf water content based on the electrical property of leaf. In: *Computers and Electronics in Agriculture*, 112 102–109. p.
- ZORNOZA P., ROBLES S., MARTIN N. (1999). Alleviation of nickel toxicity by ammonium supply to sunflower plants. In: *Plant and Soil*, 208 (2) 221-226 p.
- YUSUF M.A., KUMAR D., RAJWANSHI R., STRASSER R.J., TSIMILLI-MICHAEL M., GOVINDJEE, SARIN N.B. (2010). Overexpression of  $\gamma$ -tocopherol methyl transferase gene in transgenic *Brassica juncea* plants alleviates abiotic stress: Physiological and chlorophyll a fluorescence measurements. In: *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1799 (8) 1428–1438. p.

## M2. Árpa csíranövények gyökér és levél elem tartalma

1. táblázat. Árpa csíranövények gyökér és levél kadmium és nikkeltartalom meghatározás eredményei

	Gyökér kadmium tartalom			
	0. nap	1. nap	4. nap	7. nap
<b>kontroll</b>	0,48±0,08a	9,38±0,02a	10,16±1,23a	18,1±1,41a
<b>10 µM kadmium</b>	0,48±0,08a	63,11±5,87a	128,33±10,32a	276,83±32,13b
<b>50 µM kadmium</b>	0,48±0,08a	285,22±21,31b	825,18±78,23b	2462,27±210,28bc
<b>100 µM kadmium</b>	0,48±0,08a	687,38±76,1b	3618,21±398,42c	5638,37±578,23d
<b>300 µM kadmium</b>	0,48±0,08a	2354,69±325,96c	5327,18±634,97d	7948,11±1069,97e

	Levél kadmium tartalom			
	0. nap	1. nap	4. nap	7. nap
<b>kontroll</b>	0,57±0,003a	2,23±0,34a	1,41±0,12a	1,99±0,12a
<b>10 µM kadmium</b>	0,57±0,003a	9,71±1,12a	7,74±0,87a	8,58±0,69a
<b>50 µM kadmium</b>	0,57±0,003a	12,16±1,12a	38,06±2,98b	49,68±2,75b
<b>100 µM kadmium</b>	0,57±0,003a	27±1,15b	56,98±5,94c	78,97±12,2c
<b>300 µM kadmium</b>	0,57±0,003a	48,28±3,22c	104,29±7,56d	142,73±13,75d

	Gyökér nikkeltartalom		
	0. nap	4. nap	7. nap
<b>Kontroll</b>	0,1±0,01a	0,1±0,01a	0,04±0,002a
<b>100 µM nikkelt</b>	0,1±0,01a	28,19±4,23b	77,84±6,23b
<b>500 µM nikkelt</b>	0,1±0,01a	126,6±7,3c	295,02±11,15c
<b>1000 µM nikkelt</b>	0,1±0,01a	209,56±12,43d	476,68±30,25d

	Levél nikkeltartalom		
	0. nap	4. nap	7. nap
<b>Kontroll</b>	0,03±0,002a	0,03±0,004a	0,4±0,012a
<b>100 µM nikkelt</b>	0,03±0,002a	4,22±0,23b	8,05±1,03b
<b>500 µM nikkelt</b>	0,03±0,002a	35,48±4,35c	65,48±6,86c
<b>1000 µM nikkelt</b>	0,03±0,002a	80,2±8,47d	203,34±17,41d

**M3. SPAD és Fluoreszcencia mérések eredményei táblázatosan a statisztikai eredmények feltüntetésével**

**1. táblázat. Kadmium és nikkelt kezelés hatása zöldborsó csíranövények a fluoreszcencia indukció mérés Fv/Fm, valamint a SPAD index értékeire**

<b>Kadmium Fv/Fm</b>				
	<b>0. nap</b>	<b>1. nap</b>	<b>4. nap</b>	<b>7. nap</b>
<b>kontroll</b>	0,85±0,002b	0,84±0,003a	0,85±0,01a	0,85±0,006a,b
<b>10 µM Cd<sup>2+</sup></b>	0,85±0,002b	0,85±0,003b	0,85±0,005a	0,85±0,005a
<b>50 µM Cd<sup>2+</sup></b>	0,85±0,002b	0,85±0,002b	0,85±0,004a	0,85±0,001a,b
<b>100 µM Cd<sup>2+</sup></b>	0,85±0,002b	0,85±0,003b	0,86±0,027a	0,85±0,003a,b
<b>300 µM Cd<sup>2+</sup></b>	0,84±0,008a	0,85±0,001b	0,82±0,08a	0,86±0,002b
<b>Nikkel Fv/Fm</b>				
	<b>0. nap</b>	<b>1. nap</b>	<b>4. nap</b>	<b>7. nap</b>
<b>kontroll</b>	0,85±0,002a	0,85±0,002a,b,c	0,85±0,002b	0,85±0,006b
<b>10 µM Ni<sup>2+</sup></b>	0,85±0,002a	0,85±0,002b,c	0,85±0,005b	0,85±0,004b
<b>50 µM Ni<sup>2+</sup></b>	0,85±0,002a	0,85±0,004a,b	0,85±0,005b	0,86±0,01b
<b>100 µM Ni<sup>2+</sup></b>	0,85±0,002a	0,84±0,003a	0,85±0,004b	0,85±0,001b
<b>300 µM Ni<sup>2+</sup></b>	0,85±0,002a	0,85±0,003a,b	0,82±0,04a,b	0,85±0,005b
<b>500 µM Ni<sup>2+</sup></b>	0,85±0,002a	0,85±0,004c	0,83±0,05a,b	0,77±0,14b
<b>1000 µM Ni<sup>2+</sup></b>	0,85±0,002a	0,85±0,002a,b	0,78±0,09a	0,56±0,34a
<b>Kadmium SPAD</b>				
	<b>0. nap</b>	<b>1. nap</b>	<b>4. nap</b>	<b>7. nap</b>
<b>kontroll</b>	33,86±2,16a	30,77±2,04a	33,46±5,07b	33,46±5,07a
<b>10 µM Cd<sup>2+</sup></b>	33,86±2,16a	31,42±2,7a	28,9±2,51a	28,9±2,51a
<b>50 µM Cd<sup>2+</sup></b>	33,86±2,16a	34,01±4,25a	27,61±2,9a	31,09±3,32a
<b>100 µM Cd<sup>2+</sup></b>	33,86±2,16a	34,46±3,26a	26,42±2,14a	31,04±2,26a
<b>300 µM Cd<sup>2+</sup></b>	35,48±3,2a	30,67±3,86a	26,87±3,41a	21,83±4,85b
<b>Nikkel SPAD</b>				
	<b>0. nap</b>	<b>1. nap</b>	<b>4. nap</b>	<b>7. nap</b>
<b>kontroll</b>	33,83±2,16a	30,83±2a	30,04±4,58a	31,44±2,86a
<b>10 µM Ni<sup>2+</sup></b>	33,83±2,16a	31,29±3,46a	29,34±4,64a	29,98±2,16a
<b>50 µM Ni<sup>2+</sup></b>	33,83±2,16a	32,49±1,8a	28,24±1,86a	23,71±7,54a
<b>100 µM Ni<sup>2+</sup></b>	33,83±2,16a	28,92±4,82a	30,41±2,61a	26,11±9,28a
<b>300 µM Ni<sup>2+</sup></b>	33,83±2,16a	30,97±4,24a	27,15±6,14a	23,16±9,94a
<b>500 µM Ni<sup>2+</sup></b>	33,83±2,16a	31,14±3,04a	27,35±4,66a	27,32±6,9a
<b>1000 µM Ni<sup>2+</sup></b>	33,83±2,16a	31,12±3,15a	26,98±4,77a	24,09±5,28a

2. táblázat. Kadmium kezelés hatása árpacsíranövények a fluoreszcencia indukció mérés F0 értékeire

	F0			
	0. nap	1. nap	4. nap	7.nap
kontroll	463,2±5,32a	479,5±1,03a	434,75±4,25a	434,75±4,25a
10 µM Cd <sup>2+</sup>	463,2±5,32a	472,2±6,23a	453,5±5,36a	419,25±4,29a
50 µM Cd <sup>2+</sup>	463,2±5,32a	467,6±7,4a	445±5,16a	426±3,27a
100 µM Cd <sup>2+</sup>	463,2±5,32a	458,6±3,92a	431±9,31a	437±2,86a
300 µM Cd <sup>2+</sup>	440,4±29,39a	463,8±3,06a	440,43±13,43a	427±7,65a

3. táblázat. Kadmium kezelés hatása árpacsíranövények a fluoreszcencia indukció mérés Fm értékeire

	Fm			
	0. nap	1. nap	4. nap	7.nap
kontroll	3063±31,94b	3075,5±25,69a	2961,25±69,04a	2961,25±39,02a
10 µM Cd <sup>2+</sup>	3063±31,94b	3125,2±34,30a	3432±396,50a,b	2818±23,12a
50 µM Cd <sup>2+</sup>	3063±31,94b	3102±37,16a	2999±40,50a	2938,2±27,56a
100 µM Cd <sup>2+</sup>	3063±31,94b	3039,8±39,35a	2992±62,92a	2984,3±21,61a
300 µM Cd <sup>2+</sup>	2788,4±230,14a	3068,6±17,47a	2780,423±270,35a	2989,3±39,02a

4. táblázat. Kadmium kezelés hatása árpacsíranövények a fluoreszcencia indukció mérés Fv értékeire

	Fv			
	0. nap	1. nap	4. nap	7.nap
kontroll	2599,8±27,26a	2596±33,73a	2526,5±66,56a	2526,5±66,56c
10 µM Cd <sup>2+</sup>	2599,8±27,26a	2653±29,89a	2478,5±63,88a	347±15,63b
50 µM Cd <sup>2+</sup>	2599,8±27,26a	2634,4±30,38a,	2554±36,91a	325,4±25,79b
100 µM Cd <sup>2+</sup>	2599,8±27,26a	2580,8±36,72a	2560,6±54,30a	355,3±10,65b
300 µM Cd <sup>2+</sup>	2348±200,81a	2604,8±14,85a	2340±275,53a	288±4,95a

5. táblázat. Nikkel kezelés hatása árpacsíranövények a fluoreszcencia indukció mérés F0 értékeire

	F0			
	0. nap	1. nap	4. nap	7.nap
<b>kontroll</b>	463,2±5,32a	463,2±5,32a	434,75±4,25a	434,75±4,25b
<b>10 µM Ni<sup>2+</sup></b>	463,2±5,32a	450±11,75a	439±10,82a	439,12±10,32
<b>50 µM Ni<sup>2+</sup></b>	463,2±5,32a	458±6,75a	435,3±1,55a	362,7±32,43a
<b>100 µM Ni<sup>2+</sup></b>	463,2±5,32a	467±0,71a	427,3±10,4a	409±12,51b
<b>300 µM Ni<sup>2+</sup></b>	463,2±5,32a	466,3±0,85a	445,7±2,36a	412,25±14,82b
<b>500 µM Ni<sup>2+</sup></b>	463,2±5,32a	453,3±4,74a	446,8±6,04a	410,2±29,99a,b
<b>1000 µM Ni<sup>2+</sup></b>	499±4,04b	465±3,08a	515,4±41,82b	499,14±49,96c

6. táblázat. Nikkel kezelés hatása árpacsíranövények a fluoreszcencia indukció mérés Fm értékeire

	Fm			
	0. nap	1. nap	4. nap	7.nap
<b>kontroll</b>	3063±31,94a	3063±31,94a	2961,25±69,04a	2961,25±69,04a
<b>10 µM Ni<sup>2+</sup></b>	3063±31,94a	2978±68,62a	2971,3±34,96a	2956,5±4,25a
<b>50 µM Ni<sup>2+</sup></b>	3063±31,94a	3018,3±35,19a	2843±33,35b	2771±33,64b
<b>100 µM Ni<sup>2+</sup></b>	3063±31,94a	3022,7±33,56a	2896±72,56b	2787,3±89,24b
<b>300 µM Ni<sup>2+</sup></b>	3063±31,94a	3030±31,15a	2650±234,77b,c	2790±86,39b
<b>500 µM Ni<sup>2+</sup></b>	3063±31,94a	3059,7±50,85a	2711±43,12b,c	2244,8±370,41c
<b>1000 µM Ni<sup>2+</sup></b>	3246,2±17,89b	3004,67±36,94a	2534,8±148,74c	2029,6±409,15c

7. táblázat. Nikkel kezelés hatása árpacsíranövények a fluoreszcencia indukció mérés Fv értékeire

	Fv			
	0. nap	1. nap	4. nap	7.nap
<b>kontroll</b>	2599,8±27,26a	2599,8±27,26a	2526,5±66,56a	2526,5±66,56a
<b>10 µM Ni<sup>2+</sup></b>	2599,8±27,26a	2528±56,93a	2532,3±24,20a	2517,5±10,25a
<b>50 µM Ni<sup>2+</sup></b>	2599,8±27,26a	2560,3±30,25a	2407,7±34,32a	2375±25,99b
<b>100 µM Ni<sup>2+</sup></b>	2599,8±27,26a	2555,7±33a	2468,7±63,16a	2378,3±76,89b
<b>300 µM Ni<sup>2+</sup></b>	2599,8±27,26a	2563,7±30,78a	2201±238,15a,b	2377,75±74,86a,b
<b>500 µM Ni<sup>2+</sup></b>	2599,8±27,26a	2606,3±47,06a	2270,2±189,77a,b	2711,23±395,79b,c
<b>1000 µM Ni<sup>2+</sup></b>	2747,2±15,18a	2539,67±33,96a	2019,4±188,5b	1524,86±460c

**M4. A szerves sav mérések eredményei táblázatosan, a statisztikai eredmények feltüntetésével**

1. táblázat. Árpa csíranövények gyökér oxálecetsav tartalma egy napos kadmium kezelés során. A kezelést követően 3, 6, 9, 12 és 24 órával vettem mintákat, amelyekből meghatároztam az oxálecetsav tartalmat.

Kadmium gyökér oxálecetsav tartalom						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
<b>kontroll</b>	0,12±0,02a	0,18±0,01a	0,14±0,02a	0,17±0,02a	0,16±0,01a,b	0,15±0,01b
<b>10 µM Cd<sup>2+</sup></b>	0,18±0,02a	0,19±0,01a	0,19±0,004b	0,16±0,02a	0,18±0,01b	0,16±0,01b
<b>50 µM Cd<sup>2+</sup></b>	0,18±0,01a	0,14±0,01a	0,13±0,002a	0,12±0,004a	0,13±0,01a	0,12±0,01a
<b>100 µM Cd<sup>2+</sup></b>	0,16±0,02a	0,15±0,01a	0,15±0,01a	0,14±0,01a	0,15±0,01a,b	0,12±0,01a
<b>300 µM Cd<sup>2+</sup></b>	0,17±0,01a	0,19±0,03a	0,13±0,009a	0,13±0,002a	0,13±0,004a	0,12±0,004a

2.táblázat. Árpa csíranövények gyökér citromsav tartalma egy napos kadmium kezelés során. A kezelést követően 3, 6, 9, 12 és 24 órával vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a citromsav tartalmat.

Kadmium gyökér citromsav tartalom						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
<b>kontroll</b>	9,54±0,75a	10,26±1,64a	9,36±1,30a	8,86±0,73a	9,83±0,79a	11,23±1,8b
<b>10 µM Cd<sup>2+</sup></b>	10,10±0,78a	9,33±0,65a	8,22±0,72a	7,67±0,20a	9,21±0,58a	8,54±1,72a
<b>50 µM Cd<sup>2+</sup></b>	9,74±0,30a	8,11±0,46a	7,51±0,67a	7,78±0,34a	7,96±0,7a	8,56±1,3ab
<b>100 µM Cd<sup>2+</sup></b>	9,59±0,43a	9,68±1,15a	7,85±0,72a	8,91±0,61a	9,85±1,43a	9,61±0,45ab
<b>300 µM Cd<sup>2+</sup></b>	10,27±1,17a	9,07±1,29a	7,95±0,21a	8,13±0,49a	8,4±0,52a	8,28±0,49ab

3. táblázat. Árpa csíranövények gyökér almasav tartalma egy napos kadmium kezelés során. A kezelést követően 3, 6, 9, 12 és 24 órával vettem mintákat, amelyekből meghatároztam az almasav tartalmat.

Kadmium gyökér almasav tartalom						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
<b>kontroll</b>	9,53±0,9a	7,96±0,98a	6,13±1,2a	6,77±1,91a	6,48±1,23a	4,72±1,04a
<b>10 µM Cd<sup>2+</sup></b>	8,18±0,71a	9,18±1,06a	3,45±0,21a	4,26±1,6a	4,84±0,26a	4,81±1,34a
<b>50 µM Cd<sup>2+</sup></b>	7,91±0,99a	7,44±1,53a	9,21±1,66a	4,64±0,46a	6,36±0,62a	5,22±0,38a
<b>100 µM Cd<sup>2+</sup></b>	7,65±0,57a	5,98±0,39a	5,79±0,4a	5,88±0,7a	5,83±0,35a	4,99±0,55a
<b>300 µM Cd<sup>2+</sup></b>	7,26±0,62a	7,16±1,1a	5,37±1,33a	5,44±0,36a	6,94±0,87a	6,67±0,38a

4. táblázat. Árpa csíranövények gyökér borostyánkősav tartalma egy napos kadmium kezelés során. A kezelést követően 3, 6, 9, 12 és 24 órával vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a borostyánkősav tartalmat.

Kadmium gyökér borostyánkősav tartalom						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
<b>kontroll</b>	59,8±2,3a	50,50±1,38a	46,36±2,25a	52,58±5,15a,b	53,19±2,4a	50,45±4,89a
<b>10 µM Cd<sup>2+</sup></b>	62,92±2,3a	57,61±1,51b,c	69,99±2,11b	64,6246±5,4718b	80,43±2,23b	60,25±4,22a
<b>50 µM Cd<sup>2+</sup></b>	62,12±4,88a	49,35±1,75a	55,99±3,78a,b	49,4356±1,6478a	59,34±2,18a	62,25±2,05a
<b>100 µM Cd<sup>2+</sup></b>	61,98±1,63a	63±1,76c	57,18±1,78a,b	53,7535±1,6643a,b	53,72±1,68a	61,14±2,47a
<b>300 µM Cd<sup>2+</sup></b>	60,32±1,93a	55,15±4,51a,b	55,74±6,44a,b	55,3303±4,0412a,b	62,85±2,19a	47,2±4,81a



5. táblázat. Árpa csíranövények gyökér fumársav tartalma egy napos kadmium kezelés során. A kezelést követően 3, 6, 9, 12 és 24 órával vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a fumársav tartalmát.

Kadmium gyökér fumársav tartalom						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
kontroll	64,52±2,42a	48,82±1,6a	48,69±1,54a,b	47,35±1,56a	56,26±0,29b	51,43±1,59b
10 µM Cd <sup>2+</sup>	61,18±5,7a	51,6±4,08a	44,43±1,39b	46,55±1,62a	46,56±4,95a,b	46,57±1,37a,b
50 µM Cd <sup>2+</sup>	56,35±1,65a	48,44±1,45a	58,27±1,92a,b	39,85±1,26b	43,92±2,8a	53,80±1,7a
100 µM Cd <sup>2+</sup>	64,35±1,97a	40,76±3,43a	45,73±1,45a	43,91±3,03a	41,9±2,8a,b	40,86±3,6a
300 µM Cd <sup>2+</sup>	63,86±2,19a	46,79±1,33a	46,04±4,28a,b	40,79±1,29a	35,9±2,31a,b	35,35±1,49a

6. táblázat. Árpa csíranövények levél oxálecetsav tartalma egy napos kadmium kezelés során. A kezelést követően 3, 6, 9, 12 és 24 órával vettem mintákat, amelyekből meghatároztam az oxálecetsav tartalmát.

Kadmium levél oxálecetsav tartalom						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
kontroll	1,55±0,11a	1,4±0,1a,b	1,64±0,12b	1,23±0,09a	1,63±0,10a,b,c	1,65±0,12a,b,c
10 µM Cd <sup>2+</sup>	1,37±0,07a	1,27±0,15a	1,15±0,04a	1,4±0,06a	1,38±0,11a	1,44±0,05a
50 µM Cd <sup>2+</sup>	1,27±0,08a	1,44±0,04a,b	1,48±0,04a,b	1,37±0,04a	1,56±0,04a,b	1,63±0,04a,b
100 µM Cd <sup>2+</sup>	1,45±0,11a	1,74±1,13b	1,64±0,12b	1,9±0,18b	1,94±0,14c	2,02±0,15b
300 µM Cd <sup>2+</sup>	1,26±0,09a	1,73±0,09b	1,58±0,11b	1,49±0,11a	1,85±0,05b,c	1,96±0,09a,b

7. táblázat. Árpa csíranövények levél citromsav tartalma egy napos kadmium kezelés során. A kezelést követően 3, 6, 9, 12 és 24 órával vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a citromsav tartalmát.

Kadmium levél citromsav tartalom						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
kontroll	114,46±0,41a	116,73±0,43a	120,45±1,97a	120,31±0,23a	116,6±0,77a	117,06±0,37a
10 µM Cd <sup>2+</sup>	116,02±5,11a,b	120,06±1,33b	119,96±8,15a	121,09±13,08a	121,24±11,77a,b	118,321,05a,b
50 µM Cd <sup>2+</sup>	115,56±1,93a,b	118,17±0,91a,b	118,23±7,03a	122,71±8,49a	123,72±20,35b	119±8,9a,b
100 µM Cd <sup>2+</sup>	116,24±3,15a,b	119,95±9,82b	120,96±8a	121,85±1,32a	123,02±9,6b	121,06±1,95b,c
300 µM Cd <sup>2+</sup>	117,83±0,23b	119,32±8,39a,b	117,14±5,92a	120,91±0,69a	121±4,6a,b	122,72±7,1c

8. táblázat. Árpa csíranövények levél almasav tartalma egy napos kadmium kezelés során. A kezelést követően 3, 6, 9, 12 és 24 órával vettem mintákat, amelyekből meghatároztam az almasav tartalmát.

Kadmium levél almasav tartalom						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
kontroll	138,46±0,7b	151,26±1,17a	157,82±3,1b	147,22±0,73a	143,14±2,1a	147,46±0,85b
10 µM Cd <sup>2+</sup>	142,47±1,18b,c	140,36±1,15a	123,1±6,28b	155,88±11,61a,b	162,63±15,76a,b,c	151,35±10,1b
50 µM Cd <sup>2+</sup>	152,2±0,81d	152,35±0,88a	125,43±5,6b	144,42±5,7a	157,38±11,83a,b	126,41±3,39a
100 µM Cd <sup>2+</sup>	143,61±0,57c	139,82±1,6a	124,9±5,61b	178,46±7,51b	185,72±12,48b,c	174,9±0,8c
300 µM Cd <sup>2+</sup>	126,49±2,22a	133,05±20,39a	109,14±3,37a	132,36±1,83a	202,6±5,1c	214,01±6,5d

9. táblázat. Árpa csíranövények levél borostyánkősav tartalma egy napos kadmium kezelés során. A kezelést követően 3, 6, 9, 12 és 24 órával vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a borostyánkősav tartalmát.

Kadmium levél borostyánkősav tartalom						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
<b>kontroll</b>	173,1±3,36a	176,23±2,5a	206,17±2,47c	201,80±4,23b,c	199,54±2,02a	192,72±4,02a
<b>10 µM Cd<sup>2+</sup></b>	168,27±2,5a	193,48±1,81b	163,84±5,93b	176,98±17,34a,b	185,43±3,1a	199,72±6,61a,b
<b>50 µM Cd<sup>2+</sup></b>	167,91±6,7a	178,41±1,99a	164,74±5,3b	230,66±9,33c	235,73±3,13b	240,65±13,37c
<b>100 µM Cd<sup>2+</sup></b>	166,95±2,46a	171,67±2,45a	176,58±5,56b	188,96±2,8a,b	220,54±8,41b	237,68±2,49b,c
<b>300 µM Cd<sup>2+</sup></b>	162,14±6a	213,72±4,11c	142,86±5,09a	151,80±11,28a	202,73±3,71a	232,58±16,25b,c

10. táblázat. Árpa csíranövények levél fumársav tartalma egy napos kadmium kezelés során. A kezelést követően 3, 6, 9, 12 és 24 órával vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a fumársav tartalmát.

Kadmium levél fumársav tartalom						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
<b>kontroll</b>	4,69±1,41a	4,96±1,5a	4,92±0,64a	5,76±0,39a	6,72±1,51a	5,74±0,58a
<b>10 µM Cd<sup>2+</sup></b>	4,26±1,15a	4,97±1,6a	4,97±0,61a	6,54±1,56a	6,78±0,78a	6,53±0,38a,b
<b>50 µM Cd<sup>2+</sup></b>	4,84±1,49a	4,52±1,16a	4,09±0,52a	5,08±0,29a	5,64±0,65a	7,18±0,51a,b
<b>100 µM Cd<sup>2+</sup></b>	4,33±1,29a	4,4±0,25a	4,34±0,34a	4,81±0,29a	7,44±0,91a	8,4±0,96b,c
<b>300 µM Cd<sup>2+</sup></b>	4,17±1,34a	5,39±1,21a	8,25±0,59b	8,34±1,31a	9,05±0,75a	10,39±0,81c

11. táblázat. Árpa csíranövények gyökér oxálcetsav tartalma egy hetes kadmium kezelés során. A kezelést követő 1. 3., 5., 7. napon vettem mintákat, amelyekből meghatároztam az oxálcetsav tartalmát.

Kadmium gyökér oxálcetsav tartalom					
	0.nap	1.nap	3.nap	6.nap	7.nap
<b>kontroll</b>	0,61±0,11a	0,62±0,19a	0,58±0,1b	0,57±0,1b	0,58±0,09a
<b>10 µM Cd<sup>2+</sup></b>	0,6±0,11a	0,48±0,09a	0,49±0,1a,b	0,36±0,06a	0,43±0,08a
<b>50 µM Cd<sup>2+</sup></b>	0,52±0,1a	0,46±0,06a	0,54±0,08b	0,45±0,08a,b	0,39±0,07a
<b>100 µM Cd<sup>2+</sup></b>	0,57±0,1a	0,43±0,14a	0,29±0,07a	0,33±0,06a	0,36±0,10a
<b>300 µM Cd<sup>2+</sup></b>	0,5±0,09a	0,46±0,88a	0,56±0,1b	0,51±0,09a,b	0,38±0,07a

12. táblázat. Árpa csíranövények gyökér citromsav tartalma egy hetes kadmium kezelés során. A kezelést követő 1. 3., 5., 7. napon vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a citromsav tartalmát.

Kadmium gyökér citromsav tartalom					
	0.nap	1.nap	3.nap	5.nap	7.nap
<b>kontroll</b>	10,17±1,9a	8,98±1,3a,b	6,67±0,83a	6,91±0,8a,b	6±1,43a
<b>10 µM Cd<sup>2+</sup></b>	8,6±1,56a	11,6±1,2b	6±0,33a	4,56±1,22a	6,01±0,91a
<b>50 µM Cd<sup>2+</sup></b>	10,2±2,14a	11,6±0,52b	8,92±0,47a	6,14±0,55a,b	6,4±0,82a
<b>100 µM Cd<sup>2+</sup></b>	10,34±2,07a	10,35±0,32b	6,55±1,74a	5,38±1,32a,b	6,02±1,5a
<b>300 µM Cd<sup>2+</sup></b>	9,77±1,72a	6,66±1,08a	10,56±1,72a	9,51±1,37b	9,07±0,75a

13. táblázat. Árpa csíranövények gyökér almasav tartalma egy hetes kadmium kezelés során. A kezelést követő 1, 3, 5, 7. napon vettem mintákat, amelyekből meghatároztam az almasav tartalmát.

Kadmium gyökér almasav tartalom					
	0.nap	1.nap	3.nap	5.nap	7.nap
<b>kontroll</b>	1,69±0,08a	1,58±0,09b	1,54±0,16a,b	1,80±0,08b	1,69±0,32a
<b>10 µM Cd<sup>2+</sup></b>	1,75±0,12a	1,28±0,13b	1,22±0,07a,b	1,98±0,32b	1,931±0,2a
<b>50 µM Cd<sup>2+</sup></b>	1,62±0,13a	1,68±0,1b	2,16±0,24b	1,72±1,5a,b	2,36±0,35a
<b>100 µM Cd<sup>2+</sup></b>	1,64±0,11a	1,63±0,29b	1,62±0,64a,b	1,5±0,45a,b	2,48±0,86a
<b>300 µM Cd<sup>2+</sup></b>	1,38±0,13a	0,79±0,1a	0,65±0,24a	0,83±0,01c	0,97±0,35a

14. táblázat. Árpa csíranövények gyökér borostyánkősav tartalma egy hetes kadmium kezelés során. A kezelést követő 1, 3, 5, 7. napon vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a borostyánkősav tartalmát.

Kadmium gyökér borostyánkősav tartalom					
	0.nap	1.nap	3.nap	5.nap	7.nap
kontroll	60,29±1,9a	61,2±5,14b	46±3,05a	54,67±17,18a	48,56±15,75a
10 µM Cd <sup>2+</sup>	64,26±1,88a	31,84±7,07b	34,29±1,47a	39,27±12,94a	35,9±8,52a
50 µM Cd <sup>2+</sup>	59,87±2,86a	46,96±4,93a,b	52,8±18,64a	45,54±19,56a	40,85±17,73a
100 µM Cd <sup>2+</sup>	59,56±0,9a	40,07±6,52b	43,88±12,26a	53,15±11,77a	46,47±10,26a
300 µM Cd <sup>2+</sup>	53,39±1,75b	37,05±6,47b	28,04±2,55a	29,12±12,75a	30,44±9,53a

15. táblázat. Árpa csíranövények gyökér fumársav tartalma egy hetes kadmium kezelés során. A kezelést követő 1, 3, 5, 7. napon vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a fumársav tartalmát.

Kadmium gyökér fumársav tartalom					
	0.nap	1.nap	3.nap	5.nap	7.nap
kontroll	54,03±4,98a	53,93±6,3b	58,95±5,75c	55,43±4,26a,b	47,79±6,39a,b
10 µM Cd <sup>2+</sup>	58,99±7,13a	44,06±4,19a,b	39,9±2,9b	35,74±19,13a,b	33,43±12,34a
50 µM Cd <sup>2+</sup>	49,4±5,42a	46,98±2,83b	45,75±6,8b	50,62±13,62a,b	59,53±1,13b
100 µM Cd <sup>2+</sup>	52,44±4,69a	43,95±2,81a,b	44,4±5,61b	61,75±4,69a,b	52,68±10,08a,b
300 µM Cd <sup>2+</sup>	55,47±3,25a	31,43±6,68a	25,51±2,56a	25,04±11,64a	30,91±7,73a

16. táblázat. Árpa csíranövények levél oxálecetsav tartalma egy hetes kadmium kezelés során. A kezelést követő 1, 3, 5, 7. napon vettem mintákat, amelyekből meghatároztam az oxálecetsav tartalmát.

Kadmium levél oxálecetsav tartalom					
	0.nap	1.nap	3.nap	5.nap	7.nap
kontroll	1,33±0,28a	1,29±0,24a,b	1,43±0,11a	1,3±0,17a	1,42±0,11a,b
10 µM Cd <sup>2+</sup>	1,33±0,17a	0,79±0,2a	1,12±0,11a	1,69±0,17a,b	1,99±0,02c,d
50 µM Cd <sup>2+</sup>	1,47±0,26a	1,05±0,17a	1,17±0,27a	1,26±0,34b	1,31±0,01a
100 µM Cd <sup>2+</sup>	1,33±0,17a	1,75±0,01b	1,6±0,27a	1,98±0,002a	1,73±0,01b,c
300 µM Cd <sup>2+</sup>	1,33±0,29a	1,63±0,25b	1,64±0,4a	1,47±0,11a,b	2,28±0,24d

17. táblázat. Árpa csíranövények levél citromsav tartalma egy hetes kadmium kezelés során. A kezelést követő 1, 3, 5, 7. napon vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a citromsav tartalmát.

Kadmium levél citromsav tartalom					
	0.nap	1.nap	3.nap	5.nap	7.nap
kontroll	136,62±8,22a	130,05±8,67a	104,64±13,56a	85,44±2,58a	87,08±6,46a
10 µM Cd <sup>2+</sup>	144±8,05a	108,36±13,31a	90,57±23,02a	103,67±19,85a,b	101,83±6,63a
50 µM Cd <sup>2+</sup>	130,29±5a	110,19±14,7a	111,46±12,93a	110,18±3,94a,b	97,77±6,41a
100 µM Cd <sup>2+</sup>	133,95±5,7424a	112,63±10,75a	104,26±8,24a	108,46±8,13a,b	86,84±2,67a
300 µM Cd <sup>2+</sup>	136,54±6,24a	120,70±4,7a	132,03±12,41a	140,37±8,91b	158,43±4,12b

18. táblázat. Árpa csíranövények levél almasav tartalma egy hetes kadmium kezelés során. A kezelést követő 1, 3, 5, 7. napon vettem mintákat, amelyekből meghatároztam az almasav tartalmát.

Kadmium levél almasav tartalom					
	0.nap	1.nap	3.nap	5.nap	7.nap
kontroll	119,4±11,28a	115,02±15,78a	81,14±13,29a,b	63,97±4,43a	67,32±3,67a
10 µM Cd <sup>2+</sup>	120,74±13,51a	95,51±10,93a	73,38±13,15a	71,31±6,87a	76,63±8,23a
50 µM Cd <sup>2+</sup>	124,4±9,7a	104,7±17,21a	94,5±13,24a,b	79,4±9,02a	73,92±4,41a
100 µM Cd <sup>2+</sup>	125,7±12,79a	100,16±17,48a	106,35±15,25a,b	111,06±6,15b	90,62±12,46b
300 µM Cd <sup>2+</sup>	122,16±17,66a	105,06±11,46a	94,88±11,99b	94,51±2,6b	96,5±4,73b

19. táblázat. Árpa csíranövények levél borostyánkősav tartalma egy hetes kadmium kezelés során. A kezelést követő 1, 3, 5, 7. napon vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a borostyánkősav tartalmát.

Kadmium levél borostyánkősav tartalom					
	0.nap	1.nap	3.nap	5.nap	7.nap
kontroll	136,35±40,95a	140,1±41,5a	115,05±16,94a	101,6±8,94a,b	102,71±6,36a
10 µM Cd <sup>2+</sup>	131,31±35,33a	114,34±3,6a	88,7±17,7a	88,54±6,9a	100,78±2,97a
50 µM Cd <sup>2+</sup>	145,36±45,33a	139,63±27,83a	119,54±16,94a	78,1±14,5a	103,55±2,98a
100 µM Cd <sup>2+</sup>	140,2±43,32a	135,07±29,65a	114,23±13,04a	133,77±11,18b	110,76±9,65a
300 µM Cd <sup>2+</sup>	134,21±38,35a	152,1±34,55a	129,34±14,9a	132,79±13,50b	139,82±11,93b

20. táblázat. Árpa csíranövények levél fumársav tartalma egy hetes kadmium kezelés során. A kezelést követő 1, 3, 5, 7. napon vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a fumársav tartalmát.

Kadmium levél fumársav tartalom					
	0.nap	1.nap	3.nap	5.nap	7.nap
kontroll	5,81±1,120a	6,26±1,36a	4,84±1,23a	4,57±0,63a,b	4,24±0,77a
10 µM Cd <sup>2+</sup>	5,47±0,89a	6,91±1,82a	3,28±0,80a	5,68±0,25a	5,33±1,05a
50 µM Cd <sup>2+</sup>	5,44±1,11a	7,75±1,6a	4,87±0,69a	5,48±0,28a,b	7,98±0,98a
100 µM Cd <sup>2+</sup>	5,84±1,13a	6,24±1,381a	5,48±0,77a	6,28±0,09a,b	6,42±0,79a
300 µM Cd <sup>2+</sup>	5,9±1,18a	7,5±1,43a	7,29±1,11a	9,01±2,68b	9,98±1,63a

21. táblázat. Árpa csíranövények gyökér oxálcetsav tartalma egy napos nikkel kezelés során. A kezelést követően 3, 6, 9, 12 és 24 órával vettem mintákat, amelyekből meghatároztam az oxálcetsav tartalmát.

Nikkel gyökér oxálcetsav tartalom						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
kontroll	02±0,02a	0,18±0,01a	0,14±0,02a	0,17±0,02b	0,16±0,13a,b	0,15±0,01b
10 µM Ni <sup>2+</sup>	0,18±0,02a	0,19±0,01a	0,19±0,004b	0,16±0,02a,b	0,18±0,01b	0,16±0,01b,c
50 µM Ni <sup>2+</sup>	0,18±0,004a	0,14±0,01a	0,13±0,002a	0,12±0,002a	0,13±0,01a	0,14±0,02a,b
100 µM Ni <sup>2+</sup>	0,16±0,21a	0,15±0,01a	0,15±0,01a	0,14±0,02a,b	0,14±0,001a	0,11±0,003a
300 µM Ni <sup>2+</sup>	0,17±0,01a	0,15±0,02a	0,13±0,01a	0,13±0,002a,b	0,13±0,004a	0,20±0,01c

22. táblázat. Árpa csíranövények gyökér citromsav tartalma egy napos nikkel kezelés során. A kezelést követően 3, 6, 9, 12 és 24 órával vettem mintákat, amelyekből meghatároztam az citromsav tartalmát.

Nikkel gyökér citromsav tartalom						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
kontroll	9,5±0,98a	7,78±0,56a	8,54±0,55a	8,41±0,61a	8,26±0,28a,b	8,23±0,49a
10 µM Ni <sup>2+</sup>	10,46±0,58a	9,11±0,82a	7,99±0,66a	8,86±0,53a	9,47±0,27a,b	11,79±0,37b
50 µM Ni <sup>2+</sup>	11,17±0,56a	9,69±1,51a	9,84±0,68a	8,68±0,52a	7,77±0,62a	7,54±0,85a
100 µM Ni <sup>2+</sup>	9,92±1,22a	7,79±0,5a	7,75±0,69a	9,03±0,61a	10,21±0,9a,b	10,11±0,6a,b
300 µM Ni <sup>2+</sup>	10,46±0,36a	9,69±0,59a	9,63±0,69a	10,46±0,65a	10,99±1,26b	11,98±1,67b

23. táblázat. Árpa csíranövények gyökér almasav tartalma egy napos nikkel kezelés során. A kezelést követően 3, 6, 9, 12 és 24 órával vettem mintákat, amelyekből meghatároztam az almasav tartalmát.

Nikkel gyökér almasav tartalom						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
kontroll	7,27±0,28a	5,52±0,21b	4,39±0,17a,b	2,63±0,24a,b	3,22±0,45a	2,66±0,13a
10 µM Ni <sup>2+</sup>	6,96±0,52a	4,84±0,04a,b	3,32±0,23a	2,34±0,88a	3,47±0,26a	3,48±0,13b
50 µM Ni <sup>2+</sup>	6,36±0,22a	3,77±0,14a	4,29±0,15a,b	3,49±0,13b	4,64±0,37a,b	5,26±0,21c
100 µM Ni <sup>2+</sup>	6,63±0,25a	5,01±0,24a,b	4,91±0,19b	4,81±0,48c	5,68±0,48b,c	5,31±0,2c
300 µM Ni <sup>2+</sup>	7,59±0,29a	7,73±0,8c	7,02±0,81c	6,71±0,26d	6,96±0,43c	6,69±2,6d

24. táblázat. Árpa csíranövények gyökér borostyánkősav tartalma egy napos nikkkel kezelés során. A kezelést követően 3, 6, 9, 12 és 24 órával vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a borostyánkősav tartalmát.

Nikkel gyökér borostyánkősav tartalom						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
<b>kontroll</b>	60,57±2,66a	53,69±2,35a,b	70,66±7,29a,b	59,76±7,03a	52,57±7,12a	44,26±1,94a
<b>10 µM Ni<sup>2+</sup></b>	57,22±2,51a	62,52±2,74b,c	73,21±3,21b	81,33±5,39b	63,51±3,56a	57,99±2,55b
<b>50 µM Ni<sup>2+</sup></b>	64,09±2,81a	50,51±2,21a	55,48±2,43a	51,001±2,24a	61,54±3,13a	64,34±2,82b
<b>100 µM Ni<sup>2+</sup></b>	67,82±2,97a	66,71±2,92c	59,55±2,61a,b	59,34±3,37a	62,63±7,11a	58,58±2,57b
<b>300 µM Ni<sup>2+</sup></b>	61,82±2,71a	58,465±2,56a,b,c	59,77±2,62a,b	64,93±5,8a,b	67,2±4,9a	63,92±2,81b

25. táblázat. Árpa csíranövények gyökér fumársav tartalma egy napos nikkkel kezelés során. A kezelést követően 3, 6, 9, 12 és 24 órával vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a fumársav tartalmát.

Nikkel gyökér fumársav tartalom						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
<b>kontroll</b>	63,19±2,24a	43,52±4,21a	46,5±1,71a	45,48±1,68a,b	45,72±1,82a	48,90±1,79a,b
<b>10 µM Ni<sup>2+</sup></b>	57,19±2,73a	60,73±3,06b	48,98±4,88a	45,02±1,67a,b	48,23±3,78a	43,85±1,63a
<b>50 µM Ni<sup>2+</sup></b>	55,37±5,04a	45,79±1,69a,b	55,59±2,001a	37,94±1,44a	49,86±1,77a	53,67±1,6a,b
<b>100 µM Ni<sup>2+</sup></b>	64,24±3,49a	44,01±7,81a	50,31±4,87a	54,83±6,25b	56,87±5,91a	46,26±3,36a,b
<b>300 µM Ni<sup>2+</sup></b>	59,58±4,88a	43,12±1,61a	51,59±1,87a	38,86±1,47a	57,53±3,26a	54,58±3,89b

26. táblázat. Árpa csíranövények levél oxálecetsav tartalma egy napos nikkkel kezelés során. A kezelést követően 3, 6, 9, 12 és 24 órával vettem mintákat, amelyekből meghatároztam az oxálecetsav tartalmát.

Nikkel levél oxálecetsav tartalom						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
<b>kontroll</b>	1,55±0,1a	1,40±0,1a,b	1,64±0,12b	1,47±0,07a	1,63±0,1a,b,c	1,65±0,12a
<b>10 µM Ni<sup>2+</sup></b>	1,37±0,08a	1,27±0,1526a	1,14±0,04a	1,4±0,06a	1,38±0,1a	1,44±0,05a
<b>50 µM Ni<sup>2+</sup></b>	1,27±0,08a	1,44±0,04a,b	1,48±0,04a,b	1,29±0,1a	1,56±0,04a,b	1,63±0,04a
<b>100 µM Ni<sup>2+</sup></b>	1,45±0,11a	1,74±0,13b	1,56±1,86a,b	1,9±0,18b	1,94±0,14c	2,02±0,15b
<b>300 µM Ni<sup>2+</sup></b>	1,26±0,09a	1,75±0,08b	1,58±0,11a,b	1,49±0,11a	1,85±0,05b,c	2,17±0,10b

27. táblázat. Árpa csíranövények levél citromsav tartalma egy napos nikkkel kezelés során. A kezelést követően 3, 6, 9, 12 és 24 órával vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a citromsav tartalmát.

Nikkel levél citromsav tartalom						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
<b>kontroll</b>	110,99±1,25a	112,79±1,46a	118,87±2,15b	116,65±1,89a	118,51±2,67a	117,38±0,42a,b
<b>10 µM Ni<sup>2+</sup></b>	141,27±9,24b	139,4±1,8b	116,31±9,73b	147,91±12,34b	135,14±14,47a	89,74±10,86a
<b>50 µM Ni<sup>2+</sup></b>	148,16±1,67b	140,27±11,4b	92,84±1,68a	146,95±2,39b	121,99±10,27a	98,75±7,88a
<b>100 µM Ni<sup>2+</sup></b>	115,43±1,3a	155,15±2b	98,62±8,40a,b	122,35±1,99a	133,59±6,53a	162,48±13,84b,c
<b>300 µM Ni<sup>2+</sup></b>	118,12±1,33a	183,5±2,37c	83,21±1,5a	112,56±6,7a	140,7±18,81a	192,52±26,89c

28. táblázat. Árpa csíranövények levél almasav tartalma egy napos nikkkel kezelés során. A kezelést követően 3, 6, 9, 12 és 24 órával vettem mintákat, amelyekből meghatároztam az almasav tartalmát.

Nikkel levél almasav tartalom						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
<b>kontroll</b>	143,56±3,83a	157,13±5,02a	171,63±6,29b	155,67±4,89a	152,71±5,45a	153,77±4,72a
<b>10 µM Ni<sup>2+</sup></b>	141,64±3,78a	155,44±9,34a	128,11±4,7a	158,66±16,72a	156,94±1,37a	144,93±4,45a
<b>50 µM Ni<sup>2+</sup></b>	160,21±4,27b	159,36±5,09a	128,3±4,7a	168,28±13,8a	145,89±6,15a	141,004±4,34a
<b>100 µM Ni<sup>2+</sup></b>	160,21±4,25b	159,36±5,86a	128,3±4,64a	168,28±13,64a	145,89±5,73a	141,004±4,34a
<b>300 µM Ni<sup>2+</sup></b>	149,31±3,98a,b	177,99±5,68a	167,36±7,98b	173,51±1,46a	195,06±2,32b	203,36±1,98b

29. táblázat. Árpa csíranövények levél borostyánkősav tartalma egy napos nikkel kezelés során. A kezelést követően 3, 6, 9, 12 és 24 órával vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a borostyánkősav tartalmát.

Nikkel levél borostyánkősav tartalom						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
<b>kontroll</b>	170,88±3,71a	171,29±1,88a	189,15±6,59b	193,33±7,23b	190,93±5,64a,b	184,05±2,21a
<b>10 µM Ni<sup>2+</sup></b>	171,13±4,81a	194,35±2,13b	177,27±2,97a,b	182,25±11,74b	175,28±1,46a	192,31±2,30a
<b>50 µM Ni<sup>2+</sup></b>	175,42±5,92a	175,16±1,92a	175,61±4,93a,b	245,84±5,7c	216,99±13,28b	212,88±11,08a
<b>100 µM Ni<sup>2+</sup></b>	175,42±5,93a	175,16±1,92a	175,61±4,93a,b	245,84±5,7c	216,99±13,28b	212,88±11,08a
<b>300 µM Ni<sup>2+</sup></b>	167,57±2,66a	217,71±2,39c	154,23±15,58a	143,75±3,33a	181,47±57,72a,b	205,16±8,12a

30. táblázat. Árpa csíranövények levél fumársav tartalma egy napos nikkel kezelés során. A kezelést követően 3, 6, 9, 12 és 24 órával vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a fumársav tartalmát.

Nikkel levél fumársav tartalom						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
<b>kontroll</b>	3,74±0,14a	3,39±0,13a	5,05±0,2a,b	5,9±0,83a	6,78±0,95a	7,77±1,62a
<b>10 µM Ni<sup>2+</sup></b>	4,07±0,17a	6,89±1,59b	6,85±0,56b	8,03±1,21a	8,07±0,91a,b	7,88±0,5a
<b>50 µM Ni<sup>2+</sup></b>	3,75±0,26a	3,76±0,15a	6,68±1,04b	5,96±0,53a	7,92±0,76a,b	7,38±0,29a
<b>100 µM Ni<sup>2+</sup></b>	3,85±0,06a	5,73±0,22a,b	5,73±0,22a,b	6,45±0,3a	10,87±1,3b	12,78±1,92b
<b>300 µM Ni<sup>2+</sup></b>	4,02±0,06a	4,83±0,19a,b	4,24±0,16a	6,54±0,65a	9,7±0,52a,b	12,95±0,9b

31. táblázat. Árpa csíranövények gyökér oxálecetsav tartalma egy hetes nikkel kezelés során. A kezelést követő 1, 3, 5, 7. napon vettem mintákat, amelyekből meghatároztam az oxálecetsav tartalmát.

Nikkel gyökér oxálecetsav tartalom					
	0.nap	1.nap	3.nap	6.nap	7.nap
<b>kontroll</b>	0,32±0,02a	0,37±0,004a	0,44±0,02a	0,43±0,05a	0,30±0,03a
<b>10 µM Ni<sup>2+</sup></b>	0,37±0,01a	0,4±0,01a	0,37±0,05a	0,34±0,06a	0,49±0,03a,b
<b>50 µM Ni<sup>2+</sup></b>	0,35±0,06a	0,33±0,02a	0,40±0,04a	0,45±0,04a	0,52±0,06a,b
<b>100 µM Ni<sup>2+</sup></b>	0,41±0,04a	0,41±0,07a	0,43±0,04a	0,54±0,09a,b	0,43±0,06a,b
<b>500 µM Ni<sup>2+</sup></b>	0,35±0,03a	0,41±0,03a	0,5±0,03a	0,78±0,09b	0,67±0,04b
<b>1000 µM Ni<sup>2+</sup></b>	0,3±0,04a	0,36±0,06a	0,45±0,03a	0,64±0,14a,b	0,71±0,2b

32. táblázat. Árpa csíranövények gyökér citromsav tartalma egy hetes nikkel kezelés során. A kezelést követő 1, 3, 5, 7. napon vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a citromsav tartalmát.

Nikkel gyökér citromsav tartalom					
	0.nap	1.nap	3.nap	5.nap	7.nap
<b>kontroll</b>	21,52±5c	26,87±7,07b	21,55±7,11a,b,c	27,62±10,86b,c,d	21,21±10,92a
<b>10 µM Ni<sup>2+</sup></b>	16,78±0,67a	18,08±1,27a	16,2004±3,1361a	13,48±5,15a	17,63±5,92a
<b>50 µM Ni<sup>2+</sup></b>	20,38±1,52a,b,c	26,36±10,61b	17,5459±4,14a,b	21,02±11,21a,b,c	19,46±7,91a
<b>100 µM Ni<sup>2+</sup></b>	16,49±3,44a,b	15,9±7,93a	16,45±5,32a,b	18,46±7,34a,b	18,02±8,38a
<b>500 µM Ni<sup>2+</sup></b>	19,48±4,42b,c	16,34±4,62a	26,7±10,65c	32,67±11,42c,d	35,05±15,33b
<b>1000 µM Ni<sup>2+</sup></b>	16,63±1,84a	26±9,32b	24,12±7,33b,c	36,25±14,58d	33,75±12,73b

33. táblázat. Árpa csíranövények gyökér almasav tartalma egy hetes nikkel kezelés során. A kezelést követő 1, 3, 5, 7. napon vettem mintákat, amelyekből meghatároztam az almasav tartalmat.

Nikkel gyökér almasav tartalom					
	0.nap	1.nap	3.nap	5.nap	7.nap
kontroll	9,97±1,19a	11,72±1,54a,b	11,23±3,51a	12,21±3,49a,b	14,08±2,97a
10 µM Ni <sup>2+</sup>	10,74±0,99a	10,25±1,07a	11,46±1,55a	12,03±2,56a,b	12,35±3,41a
50 µM Ni <sup>2+</sup>	10,89±1,66a	17,71±1,73c	17,56±3,81a	14,62±1,03a,b	11,77±1,07a
100 µM Ni <sup>2+</sup>	9,73±1a	12,65±2,99a,b,c	13,1±0,83a	16,31±1,53a,b	15,01±2,64a
500 µM Ni <sup>2+</sup>	11,12±2,13a	15,78±0,35a,b,c	12,04±0,22a	11,2±0,03b	13,98±1,31a
1000 µM Ni <sup>2+</sup>	8,69±1,09a	16,67±3,16b,c	15,01±2,38a	9,94±1,05c	15,05±0,15a

34. táblázat. Árpa csíranövények gyökér borostyánkősav tartalma egy hetes nikkel kezelés során. A kezelést követő 1, 3, 5, 7. napon vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a borostyánkősav tartalmat.

Nikkel gyökér borostyánkősav tartalom					
	0.nap	1.nap	3.nap	5.nap	7.nap
kontroll	55,83±4,95a	60,33±5,76a	55,43±9,72a	72,58±4,52b	64,35±4,61a
10 µM Ni <sup>2+</sup>	61,47±7,31a	61,98±4,85a	67,3±0,3a,b	74,88±9,9b	73,52±9,61a
50 µM Ni <sup>2+</sup>	60,33±3,68a	67,5±0,49a	64,84±4,9a,b	62,92±2,3b	71,5±5,88a
100 µM Ni <sup>2+</sup>	57,54±6,16a	58,95±7,24a	74,3±1,11b	73,88±2,71b	76,65±1,75a
500 µM Ni <sup>2+</sup>	53,95±4,9a	63,78±8,52a	63,65±3,41a,b	67,05±2,28b	72,51±4,02a
1000 µM Ni <sup>2+</sup>	50,45±5,14a	48,07±8,27a	63,77±5,9a,b	47±3,76a	67,42±14,31a

35. táblázat. Árpa csíranövények gyökér fumársav tartalma egy hetes nikkel kezelés során. A kezelést követő 1, 3, 5, 7. napon vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a fumársav tartalmat.

Nikkel gyökér fumársav tartalom					
	0.nap	1.nap	3.nap	5.nap	7.nap
kontroll	63,26±9,81a	58,54±13,96a	45,96±15,72a	45,55±14,14a	34,04±15,68a
10 µM Ni <sup>2+</sup>	65,57±7,24a	62,19±6,6a	49,78±8,91a	48,72±6,24a	34,96±13,38a
50 µM Ni <sup>2+</sup>	65,95±6,8a	68,81±12,3a	38,26±10,58a	44,26±4,1a	38,18±8,09a
100 µM Ni <sup>2+</sup>	60,6±7,52a	47,03±1,99a	61,04±17,89a	47,35±4,74a	27,66±16,68a
500 µM Ni <sup>2+</sup>	60,75±5,05a	53,27±10,66a	60,3±11,6a	42,94±11,98a	36,94±12,61a
1000 µM Ni <sup>2+</sup>	65,96±5a	44,86±10,27a	51,6±14,48a	45,57±8,78a	41,62±12,09a

36. táblázat. Árpa csíranövények levél oxálcetsav tartalma egy hetes nikkel kezelés során. A kezelést követő 1, 3, 5, 7. napon vettem mintákat, amelyekből meghatároztam az oxálcetsav tartalmat.

Nikkel levél oxálcetsav tartalom					
	0.nap	1.nap	3.nap	5.nap	7.nap
kontroll	1,34±0,28a	1,25±0,23a	1,64±0,03a,b,c	1,61±0,06a,b	1,3±0,2a
10 µM Ni <sup>2+</sup>	1,32±0,26a	1,23±0,29a	1,33±0,29a,b	1,7±0,1a,b	1,89±0,04a,b
50 µM Ni <sup>2+</sup>	1,35±0,28a	1,54±0,15a	1,36±0,08a,b	1,44±0,21a	1,74±0,14a,b
100 µM Ni <sup>2+</sup>	1,34±0,28a	1,28±0,18a	1,75±0,23b,c	1,56±0,27a,b	2,12±0,11b,c
500 µM Ni <sup>2+</sup>	1,37±0,3a	1,55±0,2a	1,28±0,08a	2,06±0,3b	1,95±0,01b
1000 µM Ni <sup>2+</sup>	1,2±0,24a	1,58±0,24a	1,8±0,14c	2,87±0,03c	2,6±0,48c

37. táblázat. Árpa csíranövények levél citromsav tartalma egy hetes nikkel kezelés során. A kezelést követő 1, 3, 5, 7. napon vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a citromsav tartalmat.

Nikkel levél citromsav tartalom					
	0.nap	1.nap	3.nap	5.nap	7.nap
kontroll	134,14±5,83a	134,79±6,96a	114,27±15,49a	90,99±3,86a	91,55±3,25a
10 µM Ni <sup>2+</sup>	134,58±7,64a	125,83±9,4a	118,003±11,82a,b	100,18±5,81a	88,6±5,5a
50 µM Ni <sup>2+</sup>	142,95±9,9a	101,4±10,06a	101,76±5,51a	106,09±4,98a	94,37±3,5a
100 µM Ni <sup>2+</sup>	124,08±14,8a	129,09±6,17a	94,01±7,1a	114,12±13,47a	91,62±13,32a
300 µM Ni <sup>2+</sup>	130,26±5,78a	115,7±7,19a	128,72±13,58b	138,47±1,34b	111,01±14,92b
1000 µM Ni <sup>2+</sup>	131,5±6,25a	110,34±6,43a	112±1,38a,b	129,46±2,25b	123,64±5,15b

38. táblázat. Árpa csíranövények levél almasav tartalma egy hetes nikkel kezelés során. A kezelést követő 1, 3, 5, 7. napon vettem mintákat, amelyekből meghatároztam az almasav tartalmat.

Nikkel levél almasav tartalom					
	0.nap	1.nap	3.nap	5.nap	7.nap
kontroll	136,83±19,3a	140,47±20,28a	99,27±30,77a	73,17±7,25a	76,12±11,14a
10 µM Ni <sup>2+</sup>	135,72±23,57a	120,4±24,03a	104,51±18,34a	70,18±22,97a	75,86±14,14a
50 µM Ni <sup>2+</sup>	141,68±22,98a	118,35±28,49a	96,53±31,68a	91,1±21,15a	100,61±22,28a
100 µM Ni <sup>2+</sup>	136,46±18,63a	148,86±5,24a	114,74±32,56a	104,27±36,32a	116,64±36,66a
300 µM Ni <sup>2+</sup>	140,44±20,27a	108,84±15,64a	132,79±25,16a	139,26±25,57a	130,11±38,82a
1000 µM Ni <sup>2+</sup>	136,19±19,22a	113,57±18,54a	141,64±25,93a	126,11±13,59a	141,01±44,58a

39. táblázat. Árpa csíranövények levél borostyánkősav tartalma egy hetes nikkel kezelés során. A kezelést követő 1, 3, 5, 7. napon vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a borostyánkősav tartalmat.

Nikkel levél borostyánkősav tartalom					
	0.nap	1.nap	3.nap	5.nap	7.nap
kontroll	177,68±28,02a	171,36±21,18a,b	117,49±16,49a,b	114,29±9,94a	101,11±6,71a
10 µM Ni <sup>2+</sup>	175,83±21,8a	204,87±20,18b	180,31±5,64c	159,59±1,93b	109,81±3,84a
50 µM Ni <sup>2+</sup>	169,62±28,87a	189,74±17,74a,b	176,03±5,73c	181,38±4,57b,c	142,74±4,36a,b
100 µM Ni <sup>2+</sup>	163,93±34,51a	138,99±23,93a,b	107,95±12,88a	156,86±4,19b	147,67±25,31a,b
300 µM Ni <sup>2+</sup>	176,15±26,83a	131,41±17,02a	162,86±19,88b,c	173,92±3,31b,c	157,35±28,68a,b
1000 µM Ni <sup>2+</sup>	177,68±28,02a	134,45±17,44a	171,71±16,51c	189,87±11,22c	198,87±26,23b

40. táblázat. Árpa csíranövények levél fumársav tartalma egy hetes nikkel kezelés során. A kezelést követő 1, 3, 5, 7. napon vettem mintákat, amelyekből meghatároztam a fumársav tartalmat.

Nikkel levél fumársav tartalom					
	0.nap	1.nap	3.nap	5.nap	7.nap
kontroll	5,3±0,99a	5,5±0,95a	5,04±0,87a	6,24±1,55a	5,38±1,22a
10 µM Ni <sup>2+</sup>	6,16±0,25a	6,44±1,12a	6,28±1,26a	10,11±0,4a	8,45±1,01a
50 µM Ni <sup>2+</sup>	5,49±0,74a	6,82±0,77a	9,552±1,64a	14,22±0,91a,b	12,17±2,94a,b
100 µM Ni <sup>2+</sup>	5,86±0,74a	10,28±2,25a	6,66±2,83a	10,62±2,26a,b,c	11,04±1,88a,b
300 µM Ni <sup>2+</sup>	5,65±0,63a	6,87±1,92a	10,77±3,73a	20,02±3,05b,c	20,74±2,5b,c
1000 µM Ni <sup>2+</sup>	6,12±0,42a	10,24±3,14a	19,46±2,52b	21,75±4,59c	24,42±5,92c



## M5. Enzimaktivitások eredményei táblázatosan, a statisztikai eredmények feltüntetésével

1. táblázat. Egy napos kadmium kezelés hatása árpa csíranövények gyökér és levél gvajakol peroxidáz aktivitására.

Kadmium gyökér GPX aktivitás						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
kontroll	2,97±0,54a	2,9±0,43a	3,57±0,31a	3,41±0,2a	3,19±0,19a	3,72±0,27a
10 µM Cd <sup>2+</sup>	2,97±0,54a	2,8±0,29a	3,24±0,27a	3,18±0,06a	3,64±0,37a,b	3,84±0,29a
50 µM Cd <sup>2+</sup>	2,97±0,54a	3,03±0,34a	3,35±0,2a	3,13±0,45a	4,29±1,01a,b	4,12±0,38a
100 µM Cd <sup>2+</sup>	2,97±0,54a	2,88±0,27a	3,51±0,4a	4,53±0,92b	4,32±0,96a,b	5,16±0,53b
300 µM Cd <sup>2+</sup>	2,97±0,54a	2,93±0,3a	3,26±0,45a	4,36±0,21b	4,81±0,35b	5,51±0,31b
Kadmium levél GPX aktivitás						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
kontroll	0,04±0,01a	0,38±0,08a,b	0,4±0,03a	0,41±0,08a	0,4±0,07a	0,36±0,05a
10 µM Cd <sup>2+</sup>	0,04±0,01a	0,3±0,13a	0,4±0,07a	0,42±0,56a	0,39±0,08a	0,42±0,1a
50 µM Cd <sup>2+</sup>	0,04±0,01a	0,4±0,04a,b	0,39±0,1a	0,46±0,18a	0,49±0,06a,b	0,56±0,03ab
100 µM Cd <sup>2+</sup>	0,04±0,01a	0,59±0,18b	0,6±0,28a	0,6±0,17a	0,54±0,18a,b	0,84±0,22b,c
300 µM Cd <sup>2+</sup>	0,04±0,01a	0,44±0,07a,b	0,47±0,15a	0,53±0,12a	0,71±0,19b	0,95±0,28c

2. táblázat. Egy napos kadmium kezelés hatása árpa csíranövények gyökér és levél aszkorbát peroxidáz aktivitására.

Kadmium gyökér APX aktivitás					
	0.óra	3.óra	9.óra	12.óra	24.óra
kontroll	0,14±0,02a	0,16±0,02a	0,2±0,03a,b	0,21±0,01a	0,23±0,02a
10 µM Cd <sup>2+</sup>	0,14±0,02a	0,49±0,5634a	0,2±0,03a	0,22±0,03a	0,23±0,01a
50 µM Cd <sup>2+</sup>	0,14±0,02a	0,49±0,57a	0,19±0,02a	0,22±0,06a	0,25±0,02a
100 µM Cd <sup>2+</sup>	0,14±0,02a	0,16±0,01a	0,26±0,04b	0,26±0,03a	0,29±0,01b
300 µM Cd <sup>2+</sup>	0,14±0,02a	0,19±0,002a	0,23±0,02a,b	0,24±0,04a	0,32±0,01b
Kadmium levél APX aktivitás					
	0.óra	3.óra	9.óra	12.óra	24.óra
kontroll	0,14±0,1a	0,15±0,01a	0,16±0,01a	0,14±0,01a	0,13±0,01a
10 µM Cd <sup>2+</sup>	0,14±0,1a	0,15±0,03a	0,17±0,03a	0,15±0,02a	0,16±0,01b
50 µM Cd <sup>2+</sup>	0,14±0,1a	0,15±0,01a	0,15±0,02a	0,13±0,01a	0,16±0,02b
100 µM Cd <sup>2+</sup>	0,14±0,1a	0,14±0,03a	0,15±0,02a	0,15±0,02a	0,16±0,01b
300 µM Cd <sup>2+</sup>	0,14±0,1a	0,15±0,01a	0,14±0,01a	0,15±0,01a	0,18±0,01b

3. táblázat. Egy hetes kadmium kezelés hatása árpa csíranövények gyökér és levél gvajakol peroxidáz aktivitására.

Kadmium gyökér GPX aktivitás						
	0. nap	1. nap	4. nap	7. nap	10. nap	12. nap
kontroll	1,86±0,11a	1,74±0,18a	2,58±0,34a	2,88±0,14a	3,01±0,13a	3,12±0,27a
10 µM Cd <sup>2+</sup>	1,86±0,11a	2,79±0,6b	3,97±0,16a,b	4,50±0,22b	5,46±0,19b	5,43±0,21b
50 µM Cd <sup>2+</sup>	1,86±0,11a	2,92±0,4b	3,64±0,68a,b	6,1±0,26c	6,24±0,21c	6,41±0,22c
100 µM Cd <sup>2+</sup>	1,86±0,11a	3,33287±0,25b	4,33±0,85b	5,693±0,46c	6,37±0,23c,d	6,62±0,19c,d
300 µM Cd <sup>2+</sup>	1,86±0,11a	3,07±0,38b	4,33±1,21b	5,6±0,3c	6,6±0,31d	6,95±0,31d
Kadmium levél GPX aktivitás						
	0. nap	1. nap	4. nap	7. nap	10. nap	12. nap
kontroll	0,68±0,05a	0,79±0,86a	0,64±0,12a	0,53±0,0437a	0,68±0,05a	0,7±0,06a
10 µM Cd <sup>2+</sup>	0,68±0,05a	1,21±0,03b	0,9±0,32a	1,25±0,12b	1,79±0,14b	2,26±0,2b
50 µM Cd <sup>2+</sup>	0,68±0,05a	0,87±0,01a	1,5±0,209b	2,42±0,22c	2,2±0,08c	2,35±0,18b
100 µM Cd <sup>2+</sup>	0,68±0,05a	0,88±0,16a	1,93±0,18c	2,23±0,13c	2,8±0,2d	3,45±0,17c
300 µM Cd <sup>2+</sup>	0,68±0,05a	0,81±0,06a	2,7±0,5d	3,25±0,15d	3,37±0,21e	3,77±0,2d

4. táblázat. Egy hetes kadmium kezelés hatása árpa csíranövények gyökér és levél aszkorbát peroxidáz aktivitására.

Kadmium gyökér APX aktivitás				
	0. nap	1. nap	4. nap	7. nap
kontroll	0,23±0,02a	0,3±0,03a	0,32±0,08a	0,26±0,08a,b
10 µM Cd <sup>2+</sup>	0,23±0,02a	0,3±0,06a	0,28±0,07a,b	0,29±0,09a,b
50 µM Cd <sup>2+</sup>	0,23±0,02a	0,3±0,04a	0,42±0,06b	0,4±0,03c
100 µM Cd <sup>2+</sup>	0,23±0,02a	0,29±0,04a	0,32±0,02a,b	0,21±0,03b,c
300 µM Cd <sup>2+</sup>	0,23±0,02a	0,25±0,049a	0,25±0,03a	0,31±0,09a
Kadmium levél APX aktivitás				
	0. nap	1. nap	4. nap	7. nap
kontroll	0,16±0,01a	0,16±0,01a	0,14±0,02a	0,14±0,02a
10 µM Cd <sup>2+</sup>	0,16±0,01a	0,15±0,02a	0,18±0,01b	0,21±0,03b
50 µM Cd <sup>2+</sup>	0,16±0,01a	0,16±0,01a	0,2±0,02b,c	0,24±0,03b
100 µM Cd <sup>2+</sup>	0,16±0,01a	0,754±0,03a	0,22±0,01c	0,26±0,02b
300 µM Cd <sup>2+</sup>	0,16±0,01a	0,22±0,02b	0,26±0,03d	0,33±0,02c

5. táblázat. Egy napos nikkkel kezelés hatása árpa csíranövények gyökér és levél gvajakol peroxidáz aktivitására.

Nikkel gyökér GPX aktivitás						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
kontroll	2,81±0,65a	2,9±0,6a	2,77±0,57a	2,57±0,53 a	2,62±0,54a	2,68±0,55a
10 µM Ni <sup>2+</sup>	2,81±0,65a	3,75±0,77a	2,99±0,62a	3,11±0,64a,b	3,27±0,67a	3,23±0,67ab
50 µM Ni <sup>2+</sup>	2,81±0,65a	2,63±0,54a	0,25±0,46a	2,73±0,56a,b	3,16±0,65a	3,47±0,7a,b
100 µM Ni <sup>2+</sup>	2,81±0,65a	2,62±0,54a	3,15±0,65a	3,19±0,65a,b	3,91±0,81a	4,07±0,84a,b
500 µM Ni <sup>2+</sup>	2,81±0,65a	0,37±0,07b	2,84±0,58a	3,16±0,65a,b	3,53±0,79a	4,18±0,86b
1000 µM Ni <sup>2+</sup>	2,81±0,65a	3,75±0,77a	0,46±0,09b	3,91±0,81b	3,96±0,82a	4,21±0,87b
Nikkel levél GPX aktivitás						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
kontroll	0,32±0,06a	0,34±0,06a	0,32±0,06a	0,54±0,1a	0,51±0,1a,b	0,55±0,1a
10 µM Ni <sup>2+</sup>	0,32±0,06a	0,38±0,07a	0,48±0,09b	0,45±0,08a	0,43±0,08a	0,57±0,11a
50 µM Ni <sup>2+</sup>	0,32±0,06a	0,35±0,07a	0,43±0,08a,b	0,53±0,1a	0,89±0,16c	0,63±0,12a
100 µM Ni <sup>2+</sup>	0,32±0,06a	0,37±0,07a	0,4±0,07a,b	0,46±0,08a	0,57±0,1a,b	0,53±0,1a
500 µM Ni <sup>2+</sup>	0,32±0,06a	0,34±0,07a	0,46±0,09a,b	0,40±0,07a	0,73±0,14b,c	0,56±0,1a
1000 µM Ni <sup>2+</sup>	0,32±0,06a	0,4±0,07a	0,41±0,08a,b	0,57±0,11a	0,57±0,11a,b	0,48±0,88a

6. táblázat. Egy napos nikkkel kezelés hatása árpa csíranövények gyökér és levél aszkorbát peroxidáz aktivitására.

Nikkel gyökér APX aktivitás						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
kontroll	0,263±0,05a	0,27±0,05a	0,29±0,06a	0,31±0,06a	0,29±0,06a	0,27±0,05a
10 µM Ni <sup>2+</sup>	0,263±0,05a	0,31±0,06a	0,41±0,08a	0,4±0,07a	0,4±0,08a	0,29±0,06a,b
50 µM Ni <sup>2+</sup>	0,263±0,05a	0,6±0,11b	0,43±0,08a	0,41±0,089a	0,32±0,06a	0,38±0,07a,b
100 µM Ni <sup>2+</sup>	0,263±0,05a	0,27±0,05a	0,3±0,06a	0,37±0,07a	0,34±0,06a	0,29±0,06a,b
500 µM Ni <sup>2+</sup>	0,263±0,05a	0,37±0,07a	0,35±0,07a	0,46±0,09a	0,4±0,08a	0,41±0,08b,c
1000 µM Ni <sup>2+</sup>	0,263±0,05a	0,33±0,06a	0,35±0,07a	0,46±0,09a	0,410,0778a	0,51±0,1c
Nikkel levél APX aktivitás						
	0.óra	3.óra	6.óra	9.óra	12.óra	24.óra
kontroll	0,18±0,02a	0,18±0,01a	0,17±0,01a	0,19±0,01a	0,16±0,02a	0,19±0,01a
10 µM Ni <sup>2+</sup>	0,19±0,22a	0,2±0,04a	0,22±0,04a,b	0,22±0,02a,b	0,23±0,02b,c	0,25±0,03b
50 µM Ni <sup>2+</sup>	0,18±0,01a	0,2±0,2a	0,22±0,23a,b	0,22±0,02a,b	0,21±0,02b	0,24±0,001b
100 µM Ni <sup>2+</sup>	0,19±0,03a	0,24±0,39a	0,27±0,04b,c	0,29±0,04b,c	0,29±0,03d	0,27±0,02b,c
500 µM Ni <sup>2+</sup>	0,18±0,019a	0,2±0,05a	0,25±0,04b,c	0,28±0,02c	0,26±0,02c,d	0,3±0,02c
1000 µM Ni <sup>2+</sup>	0,18±0,019a	0,24±0,05a	0,28±0,02c	0,26±0,01c	0,28±0,02d	0,26±0,02b,c

7. táblázat. Egy hetes nikkkel kezelés hatása árpa csíranövények gyökér és levél gvajakol peroxidáz aktivitására.

Nikkel gyökér GPX aktivitás				
	0. nap	1. nap	4. nap	7. nap
kontroll	3,54±0,71a	3,46±0,72a	3,41±0,71a	3,3±0,66a
100 µM Ni <sup>2+</sup>	3,43±0,66a	3,63±0,73a	3,8±0,66a	4,12±1,03a
500 µM Ni <sup>2+</sup>	3,38±0,65a	3,91±0,89a	3,23±0,39a	3,73±1,26a
1000 µM Ni <sup>2+</sup>	3,3±0,66a	3,91±0,6a	3,23±0,39a	3,25±0,65a
Nikkel levél GPX aktivitás				
	0. nap	1. nap	4. nap	7. nap
kontroll	0,71±0,13a	0,73±0,14a	0,55±0,10a	1,07±0,2a
100 µM Ni <sup>2+</sup>	0,76±0,14a	1,11±0,21b	2,2±0,41b	2,15±0,4b
500 µM Ni <sup>2+</sup>	0,7±0,13a	0,73±0,14a	2,05±0,39b	2,22±0,42b
1000 µM Ni <sup>2+</sup>	0,68±0,13a	0,77±0,15a	2,05±0,39b	2,45±0,46b

8. táblázat. Egy hetes nikkkel kezelés hatása árpa csíranövények gyökér és levél aszorbát peroxidáz aktivitására.

Nikkel gyökér APX aktivitás				
	0. nap	1. nap	4. nap	7. nap
kontroll	0,47±0,04a	0,44±0,09a	0,32±0,66a	0,47±0,09c
100 µM Ni <sup>2+</sup>	0,46±0,08a	0,45±0,09a	0,4±0,08a	0,4±0,08b,c
500 µM Ni <sup>2+</sup>	0,44±0,1a	0,43±0,09a	0,32±0,07a	0,3±0,06a,b
1000 µM Ni <sup>2+</sup>	0,47±0,06a	0,45±0,09a	0,26±0,06a	0,25±0,05a
Nikkel levél APX aktivitás				
	0. nap	1. nap	4. nap	7. nap
kontroll	0,21±0,05a	0,23±0,07a	0,22±0,09a	0,22±0,1a
100 µM Ni <sup>2+</sup>	0,23±0,05a	0,15±0,04a	0,3±0,06a,b	0,24±0,1a
500 µM Ni <sup>2+</sup>	0,23±0,04a	0,27±0,16a	0,19±0,05a	0,38±0,1a,b
1000 µM Ni <sup>2+</sup>	0,23±0,036a	0,24±0,05a	0,38±0,1b	0,47±0,12b

**M6. Az impedancia mérés és a hozzá kapcsolódó kiegészítő vizsgálatok eredményei  
táblázatosan, a statisztikai eredmények feltüntetésével**

1. táblázat. Elárasztott és levegőztetett zöldborsó csiranövények gyökér és hajtáshosszúság adatai (cm) 100 µM és 200 µM kadmios kezelés hatására, a kezelést követő 0., 4., 7. és 11. napon.

	Gyökérhosszúság			
	0. nap	4. nap	7.nap	11. nap
Anoxiás kontroll	5,6±0,5a	11,8±0,5c	12,5±0,9c	16,9±0,9c
Levegőztetett kontroll	5,6±0,5a	15,6±0,3d	22,1±0,4d	30,8±0,8d
Anoxiás 100 µM kadmium	5,6±0,5a	6,9±0,1b	6,6±0,3b	6,4±0,1b
Levegőztetett 100 µM kadmium	5,6±0,5a	5,6±0,1a	5,1±0,2a	5,6±0,1a
Anoxiás 200 µM kadmium	5,6±0,5a	6,4±0,1b	5,6±0,1a,b	5,3±0,1a,b
Levegőztetett 200 µM kadmium	5,6±0,5a	5,3±0,1a	4,8±0,1a	4,1±0,1a

	Hajtáshosszúság			
	0. nap	4. nap	7. nap	11. nap
Anoxiás kontroll	2,6±0,04a	3,4±0,1b	5,5±0,1d	8,3±0,3d
Levegőztetett kontroll	2,6±0,04a	3,5±0,1b	5,6±0,1d	9,2±0,1e
Anoxiás 100 µM kadmium	2,6±0,04a	3,4±0,1b	3,7±0,1c	4,1±0,05b
Levegőztetett 100 µM kadmium	2,6±0,04a	3,7±0,1b	4,02±0,2c	4,9±0,3c
Anoxiás 200 µM kadmium	2,6±0,04a	2,5±0,03a	1,8±0,05a	2,7±0,1a
Levegőztetett 200 µM kadmium	2,6±0,04a	2,6±0,02a	2,4±0,1b	3,6±0,1b

2. táblázat. Elárasztott és levegőztetett zöldborsó csiranövények gyökér és hajtás trachea szám x központi henger átmérő adatai 100 µM és 200 µM kadmios kezelés hatására, a kezelést követő 0., 1., 4., 7. és 11. napon.

	Gyökér trachea szám x központi henger átmérő				
	0. nap	1. nap	4. nap	7.nap	11. nap
Anoxiás kontroll	210,62±29,35a	433,76±38,8b	751,13±53,44b	1120,94±165,41b	1056,44±96,56b
Levegőztetett kontroll	210,62±29,35a	893,94±47,77c	1121,37±134,62c	1339,87±78,23b	1266,3±120,8b
Levegőztetett 100 µM kadmium	210,62±29,35a	251,25±60,51a	252,02±86a	356,17±150,52a	531,63±164,02a
Levegőztetett 200 µM kadmium	210,62±29,35a	196,72±35,66a	233,2±31,59a	372,53±40,07a	469,24±74,12a

	Hajtás trachea szám x központi henger átmérő				
	0. nap	1. nap	4. nap	7.nap	11. nap
Anoxiás kontroll	336,72±32,6a	467,75±23,94a,b	842,07±51,85c	1337,83±138,75c	1651,8±108,08c
Levegőztetett kontroll	336,72±32,6a	613,32±62,37c	1178,37±130,28d	1425,04±144,17d	1875,97±106,42c
Levegőztetett 100 µM kadmium	336,72±32,6a	447,21±53,75a	594,9±96,03b	940,81±98,75b	1225,83±166,04b
Levegőztetett 200 µM kadmium	336,72±32,6a	542,54±45,01b,c	398,1±20,84a	576,31±37,81a	922,7±93,27a

3. táblázat. Elárasztott és levegőztetett zöldborsó csíranövények gyökér és hajtás kadmium tartalom adatai 100 µM és 200 µM kadmiumos kezelés hatására, a kezelést követő 0., 2., 4., 7. és 11. napon.

	Gyökér kadmium tartalom				
	0. nap	2. nap	4. nap	7. nap	11. nap
Anoxiás kontroll	0,51±,0,74a	0,56±0,27a	0,48±0,26a	0,71±0,53a	0,503±0,41a
Levegőztetett kontroll	0,51±,0,74a	0,39±0,05a	0,31±0,07a	0,74±0,25a	0,32±0,06a
Anoxiás 100 µM kadmium	0,51±,0,74a	105,44±29,31a	334,49±50,94a	1648,19±375,51b	2542,42±494,6b
Levegőztetett 100 µM kadmium	0,51±,0,74a	3452,27±441,14b	4243,85±522,2b	5278,17±463,52c	6091,01±582,91c
Anoxiás t 200 µM kadmium	0,51±,0,74a	3463,61±606,24b	5357,58±867,91c	8148,28±1227,91d	8252,43±958,1d
Levegőztetett 200 µM kadmium	0,51±,0,74a	2840,13±627,03b	5334,78±669,92c	8128,4±1054,18d	9432,43±905,35e

	Hajtás kadmium tartalom				
	0. nap	2. nap	4. nap	7. nap	11. nap
Anoxiás kontroll	1,27±0,02a	5,17±6,01a	3,77±1,98a	3,88±1,31a	4,97±2,48a
Levegőztetett kontroll	1,27±0,02a	1,82±0,84a	3,08±2,55a	3,49±3,03a	3,15±1,12a
Anoxiás 100 µM kadmium	1,27±0,02a	11,48±4,75a	30,31±4,45b	124,18±25,58b	171,68±42,18c
Levegőztetett 100 µM kadmium	1,27±0,02a	27,30±7,2b	45,19±5,13b,c	100,6±11,52b	144,17±32,08b,c
Anoxiás 200 µM kadmium	1,27±0,02a	37,13±8,41b,c	84,84±16,27d	129,61±30,04b	110,18±29,48b
Levegőztetett 200 µM kadmium	1,27±0,02a	46,38±11,4c	54,96±11,33c	115,45±27,62b	156,08±29,14b,c

4. táblázat. Elárasztott, levegőztetett és perliten nevelt zöldborsó csiranövények sejtközötti ellenállás (Ra), sejten belüli ellenállás (Rs) és membrán kapacitás (Cm) értékeinek változása a kísérlet beállítását követő 0., 2., 4., 7. és 11. napon a gyökérben és a hajtásban.

	Gyökér Ra		
	Anoxiás kontroll	Levegőztetett kontroll	Perlites kontroll
<b>0. nap</b>	22837,67±2077,69a	22717,67±1173,45a	23088,67±1391,2a
<b>2. nap</b>	17072±2011,55a	15857,33±2610,5a	18062,67±1423,69a
<b>4. nap</b>	11666,33±1025,02a	14737,67±1790,7a	19636,67±3636,4b
<b>7. nap</b>	9941±1227,86a	12914±2408,69a	18407,67±1540,33b
<b>11. nap</b>	6789,67±1555,86a	6906±727a	15385±1348,53b

	Gyökér Rs		
	Anoxiás kontroll	Levegőztetett kontroll	Perlites kontroll
<b>0. nap</b>	2619,74±145,59a	2671,7±206,06a	2452,71±194a
<b>2. nap</b>	1675,89±272,59a	1563,03±201,33a	2190,76±201,56b
<b>4. nap</b>	1258,95±179,18a	1208,43±202,57a	1991,12±201,14b
<b>7. nap</b>	704,19±190,02a	1065,5±65,7b	1665,55±88,6c
<b>11. nap</b>	443,81±30,7a	828,98±152,89b	1351,32±103,03c

	Gyökér Cm		
	Anoxiás kontroll	Levegőztetett kontroll	Perlites kontroll
<b>0. nap</b>	1,02E-06±1,052E-07a	1,163E-06±1,817E-07a	1,028E-06±6,7188E-08a
<b>2. nap</b>	4,94E-07±7,416E-08b	3,637E-07±7,829E-08a	9,921E-07±1,954E-08c
<b>4. nap</b>	3,481E-07±6,486E-08a	3,117E-07±7,520E-08a	8,748E-07±7,369E-08b
<b>7. nap</b>	1,22E-07±4,069E-08a	1,77E-07±9,982E-08a	3,497E-07±6,448E-08b
<b>11. nap</b>	1,618E-07±2,811E-08a	1,742E-07±2,465E-08a	1,904E-07±2,939E-08

**5. táblázat. Elárasztott, levegőztetett és perliten nevelt zöldborsó csíranövények sejtközötti ellenállás (Ra) értékeinek változása a kísérlet beállítását követő 1., 3., 5., 8. és 12. napon a hajtásban.**

	<b>Hajtás Ra</b>		
	<b>Anoxiás kontroll</b>	<b>Levegőztetett kontroll</b>	<b>Perlites kontroll</b>
<b>0. nap</b>	16795±3341,48a	14692±637,31a	15238±999,82a
<b>2. nap</b>	17754±700,6b	15587±348,62a,b	14115±2550,16a
<b>4. nap</b>	16698±2466,25a	16144±1226,8a	16532±3383,19a
<b>7. nap</b>	12808±1142,43a	7923±599b	14752,33±2034,14a
<b>11. nap</b>	8927±2370,1a	5451±1228,84b	11718±1109,6a

	<b>Hajtás Rs</b>		
	<b>Anoxiás kontroll</b>	<b>Levegőztetett kontroll</b>	<b>Perlites kontroll</b>
<b>0. nap</b>	1216,1±87,55a	1304,2±24,5a	1249,3±75,06a
<b>2. nap</b>	1207,3±71,6a	1288,5±56,3a	1276,96±102,3a
<b>4. nap</b>	1264,51±34,71a,b	1130,6±53,3a	1289,18±110,96b
<b>7. nap</b>	665,7±59,03b	517,1±35,64a	1048,8±42,3c
<b>11. nap</b>	541±119,5a	427,65±69,48a	788,92±15,9b

	<b>Hajtás Cm</b>		
	<b>Anoxiás kontroll</b>	<b>Levegőztetett kontroll</b>	<b>Perlites kontroll</b>
<b>0. nap</b>	2,373E-07±2,879E-08a	2,594E-07±2,303E-08a	3,132E-07±6,506E-08a
<b>2. nap</b>	1,54E-07±2598E-08a	2,176E-07±2,393E-08a	3,285E-07±5,964E-08b
<b>4. nap</b>	1,502E-07±3,344E-08a	5,335E-08±2,105E-08b	3,109E-07±6,791E-08c
<b>7. nap</b>	3,789E-08±8,385E-09a	4,404E-08±1,233E-08a	2,246E-07±5,112E-08b
<b>11. nap</b>	5,21E-08±1,207E-08a	5,003E-08±1,629E-08a	1,544E-07±5,180E-08b



6. táblázat. Az elárasztás és a kadmium kezelés hatása zöldborsó csiranövények gyökerének Ra, Rs és Cm értékeire.

<b>Gyökér</b>				
<b>Ra</b>	<b>0. nap</b>	<b>4. nap</b>	<b>7. nap</b>	<b>11. nap</b>
Anoxiás kontroll	25008±3514a	17823±2262b	16543±5145b,c,d	11805±2827a,b
Levegőztetett kontroll	25008±3514a	20072±2417c	14899±3139a,b	11362±2822a
Anoxiás 100 µM kadmium	25008±3514a	14552±3655a	16948±3744c,d	13557±2946b,c
Levegőztetett 100 µM kadmium	25008±3514a	17177±4250b	15255±2334a,b,c	12718±2687a,b,c
Anoxiás 200 µM kadmium	25008±3514a	14293±2573a	13692±3423a	14691±3360d
Levegőztetett 200 µM kadmium	25008±3514a	19699±2495c	18075±3058d	13584±3195b,c
<b>Rs</b>	<b>0. nap</b>	<b>4. nap</b>	<b>7. nap</b>	<b>11. nap</b>
Anoxiás kontroll	2788±683a	1172±379a,b	1039±216b	480±107a
Levegőztetett kontroll	2788±683a	1070±132a	582±106a	6456±205a
Anoxiás 100 µM kadmium	2788±683a	1216±297a,b	1011±244b	868±145b
Levegőztetett 100 µM kadmium	2788±683a	1325±384b	113±215b	962±190b
Anoxiás 200 µM kadmium	2788±683a	1239±146a,b	1495±313c	1515±390c
Levegőztetett 200 µM kadmium	2788±683a	2155±576c	2081±580d	2448±755d
<b>Cm</b>	<b>0. nap</b>	<b>4. nap</b>	<b>7. nap</b>	<b>11. nap</b>
Anoxiás kontroll	9,76±1,23a	3,26±1,07a	1,11±0,27a	1,21±0,79a
Levegőztetett kontroll	9,76±1,23a	2,5±0,82a	1,02±0,62a	1,21±0,69a
Anoxiás 100 µM kadmium	9,76±1,23a	3,36±1,77a	3,18±1,78b	2,58±0,89a
Levegőztetett 100 µM kadmium	9,76±1,23a	5,62±6,13b,c	3,05±1,42b	2,45±2,6a
Anoxiás 200 µM kadmium	9,76±1,23a	5,17±2,91b	5,68±2,68c	6,02±1,71b
Levegőztetett 200 µM kadmium	9,76±1,23a	7,07±3,39c	9,17±4,07d	9,17±4,07c

7. táblázat. Az elárasztás és a kadmium kezelés hatása zöldborsó csíranövények hajtásának Ra, Rs és Cm értékeire.

<b>Hajtás</b>				
<b>Ra</b>	<b>0. nap</b>	<b>4. nap</b>	<b>7. nap</b>	<b>11. nap</b>
<b>Anoxiás kontroll</b>	17608±689a	11365±1855a	20727±830c	19591±1806d
<b>Levegőztetett kontroll</b>	17608±689a	16485±2954c	18688±2932a,b	12079±1069a
<b>Anoxiás 100 µM kadmium</b>	17608±689a	14692±1587b	19474±3867b,c	15449±3075b,c
<b>Levegőztetett 100 µM kadmium</b>	17608±689a	15821±32812b,c	18934±3784b	14011±1280b
<b>Anoxiás 200 µM kadmium</b>	17608±689a	16526±1965c	17310±1400a	18249±2923d
<b>Levegőztetett 200 µM kadmium</b>	17608±689a	18622±1685d	19217±2150b,c	16696±2736c
<b>Rs</b>	<b>0. nap</b>	<b>4. nap</b>	<b>7. nap</b>	<b>11. nap</b>
<b>Anoxiás kontroll</b>	1513,8±279a	1366±178e	1022,0489±93,1992a	543,1422±181,9695a
<b>Levegőztetett kontroll</b>	1513,8±279a	797,21±133,33a	1106,4956±110,0413a	738,9419±68,0084b
<b>Anoxiás 100 µM kadmium</b>	1513,8±279a	896,33±85,93861	974,1526±351,1759a	944,9569±301,5248c
<b>Levegőztetett 100 µM kadmium</b>	1513,8±279a	822,2632±105,9677a,b	1043,0343±199,1025a	1249,0941±170,3467d
<b>Anoxiás 200 µM kadmium</b>	1513,8±279a	999,5404±162,4146c	1028,3081±139,2917a	1136,1365,255,2021d
<b>Levegőztetett 200 µM kadmium</b>	1513,8±279a	1095,2600±193,7806d	1432,6077±720,8330b	1153,5143±211,7517d
<b>Cm</b>	<b>0. nap</b>	<b>4. nap</b>	<b>7. nap</b>	<b>11. nap</b>
<b>Anoxiás kontroll</b>	3,01524±1,1523a	2,9769±1,4968c	1,2205±0,4118a	0,4054±0,2708a
<b>Levegőztetett kontroll</b>	3,01524±1,1523a	1,4363±0,3852a,b	0,7520±0,3583a	0,4877±0,1416a
<b>Anoxiás 100 µM kadmium</b>	3,01524±1,1523a	1,3994±0,5316a,b	0,8047±0,4740a	0,8820±0,4506b
<b>Levegőztetett 100 µM kadmium</b>	3,01524±1,1523a	1,7242±0,5610a,b	0,9518±0,5139a	1,4003±0,4387c
<b>Anoxiás 200 µM kadmium</b>	3,01524±1,1523a	1,560±0,4816a	0,7328±0,1932a	0,5494±0,2147a
<b>Levegőztetett 200 µM kadmium</b>	3,01524±1,1523a	1,3518±0,4112a,b	2,3646±4,2444b	0,6145±0,2134a

## KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom témavezetőmnek Prof. Dr. Végvári Györgynek, aki a doktori munkámat szakmailag és emberileg is segítette, anyagi háttérét pályázatokból megteremtette és a kísérletes rész elvégzésében, illetve a dolgozat szerkesztésében is nagy segítségemre volt.

Köszönettel tartozom Dr. Droppa Magdolnának, korábbi témavezetőmnek, munkám során nyújtott minden szakmai támogatásáért és segítségéért, valamint a munka anyagi háttérének biztositásáért.

Hálával tartozom Dr. Vozáry Eszternek a BCE Fizika és Automatika Tanszék docensének a módszertani segítségért, a dolgozat elkészítésekor a formai és tartalmi tanácsokért és támogatásáért.

Tisztelettel és hálával tartozom Prof. Dr. Horváth Gábornak, aki a kutató munkához való helyes hozzáállást számomra megmutatta és emléke a mai napig példával jár előttem.

Köszönöm Dr. Lukács Noéminek, a BCE Növényélettan és növényi biokémia tanszék nyugalmazott vezetőjének a támogatását, ami lehetővé tette a kísérleteim elvégzését. Köszönöm Dr. Bóka Károlynak, az ELTE Növény szerzettan Tanszék docensének a növényi metszetek készítésében nyújtott segítségét. Köszönöm Dr. Sándor Gergőnek a statisztikai elemzéshez nyújtott segítségét.

Köszönettel tartozom a BCE Növényélettan és növényi biokémia tanszék jelenlegi és volt dolgozóinak a szakmai és emberi támogatást, különösen Dr. Szegő Anitának, Dr. Pós Veronikának, Kissné Dr. Bába Erzsébetnek, Dr. Halász Krisztiánnak és Pázmándi Ildikónak.

Köszönettel tartozom a SZIE Növénytani és Ökofiziológiai Intézete jelenlegi és volt dolgozóinak, hogy segítették munkámat. Külön köszönet illeti Dr. Rabecz Gyulát a dolgozat szerkesztéséhez nyújtott tanácsaiért.

Hálásan köszönöm továbbá a Prof. Dr. Berzsényi Zoltánnak a MTA MGKI nyugalmazott osztályvezetőjének, hogy támogatásával lehetőséget kaptam kísérleteim befejezésére és a dolgozat írására.

Külön köszönet illeti a családomat: édesapámat, édesanyámat, az ő együttes ösztönzésük indított el ezen a pályán. Hála és köszönet a családom többi tagjának, főként férjemnek a szeretetteljes támogatásáért és hitéért, és gyermekeimnek, a lelkesedésért és türelemért, amit a dolgozat írása során tanúsítottak.

Végezetül köszönetet mondok mindenkinek, aki munkám során támogatott.