

Využití fluorescence chlorofylu pro hodnocení fytotoxicity organických polutantů

THE USE OF CHLOROPHYLL FLUORESCENCE FOR EVALUATION OF PHYTOTOXICITY OF ORGANIC POLLUTANTS

Marie Kummerová, Štěpán Zezulka, Lucie Váňová – Masarykova univerzita

Na zvýšeném stupni antropogenního znečištění životního prostředí se nemalou měrou podílejí i polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs), toxické sloučeniny s potenciálními karcinogenními, mutagenními a teratogenními účinky. Jejich globální rozšíření v biosféře a schopnost akumulace v živočišných tkáních a rostlinných pletivech jsou významným rizikem pro lidskou populaci. Růstové, vývojové a morfologické změny rostlin rostoucích v silně znečištěném prostředí jsou dokladem toho, že v průběhu jejich ontogeneze mohou tyto persistentní polutanty a produkty jejich transformace ovlivňovat řadu biochemických a fyziologických procesů determinujících růst a vývoj rostlin. Je známo, že mnohé organické sloučeniny (např. pesticidy, herbicidy) ovlivňují procesy energetického metabolismu. Fotosyntetické asimilaci CO₂, vzhledem k jejímu výjimečnému postavení v životě rostliny, je věnována značná pozornost, a to zejména při hledání vnitřních a vnějších faktorů omezujících rychlost fotosyntézy. PAHs v důsledku své lipofily iniciují změny ve stavbě a funkci subcelulárních struktur, tedy i chloroplastů. Proto parametry indukované fluorescence chlorofylu mohou být využity jako indikátor vlivu kontaminace, která ovlivňuje fotochemické procesy a využití absorbovaného slunečního záření. Rozsah vyvolaných změn je však závislý na typu a koncentraci sloučeniny a na době jejího působení. Navíc rostlinné druhy mohou vykazovat rozdílnou citlivost na přítomnost PAHs v prostředí. Cílem studie bylo posouzení využití nedestruktivní metody měření fluorescence chlorofylu pro včasnou indikaci stresu vyvolaného jedním z nejrozšířenějších polycyklických aromatických uhlovodíků fluorantenu (FLT). Koncentrační gradient FLT byl zvolen tak, aby respektoval běžné až vyšší zatížení prostředí v České republice.

Materiál a metody

Rostliny bobu obecného (*Vicia faba*), kukuřice seté (*Zea mays*) a slunečnice roční (*Helianthus annuus*) byly kultivovány v Reid-Yorkově živném roztoku bez FLT (kontrola) a s FLT (1, 10 a 100 µg.l⁻¹). Fluoranten (Supelco, USA) byl rozpuštěn v systému aceton-voda v poměru 1:99, a poté aplikován do živného roztoku. Kultivace rostlin probíhala v růstové komoře se simulovanou sluneční radiací (max. ozářenost 400 µmol.m⁻².s⁻¹, fotoperioda 16/8, teplota 23 ± 2 °C, relativní vzdušná vlhkost 60–80 %) ve stacionární provzdušňované vodní kultuře po dobu 29 dní. Chlorofyl *a*, *b* a karotenoidy byly extrahovány 100% acetonem, jejich obsah byl měřen spektrofotometricky (662 nm, 646 nm a 470 nm, UV-VIS spektrofotometr, Shimadzu, Japonsko) a vypočítán. Parametry fluorescence chlorofylu byly měřeny na úrovni celého listu (PAM-2000 fluorometr, Walz, Německo) a hodnoty byly odečteny z pomalé indukční křivky. Obsah FLT byl stanoven v sušině pomocí GS-MS (Finnigan MAT, USA). Výsledky byly statisticky vyhodnoceny v programu STATISTICA 6.

Výsledky a diskuse

Prokázána přítomnost FLT ve všech orgánech sledovaných rostlinných druhů je dokladem jeho příjmu kořenovým systémem a následného akropetálního transportu do nadzemních částí rostlin, a tím i jeho možného vlivu na proces fotosyntézy. Prokazatelně nejvyšší obsah FLT ve všech orgánech rostlin slunečnice, oproti rostlinám bobu a kukuřice, nesporně souvisí s lipofilním charakterem FLT a jeho akumulací v pletivech bohatých na lipidy. Významná akumulace FLT zjištěná v kořenech všech sledovaných rostlinných druhů souvisí s primární interakcí FLT s kořenovým systémem. Ve studii bylo zaznamenáno poškození kořenového systému a následné ovlivnění příjmu, distribuce a utilizace živin vlivem FLT. Uvedená skutečnost se vedle přímého vlivu FLT, přítomného v nadzemních částech rostlin bobu, kukuřice a slunečnice, může podílet i na zjištěných změnách v obsahu chlorofylu *a*, *b* a karotenoidů. Významné snížení obsahu fotosyntetických pigmentů, prokázané také ve studii, se nesporně podílí na změnách funkce primárních procesů fotosyntézy. Ovlivnění FLT indukující poškození fotosyntetického aparátu je u sledovaných rostlinných druhů zřejmě z významného snížení hodnot základního fluorescenčního poměru (F_v/F_m) a kvantového výtěžku elektronového transportu PSII. Fluoranten a produkty jeho transformace způsobují změny v redoxním stavu primárního elektronového akceptoru Q_A. Produkty transformace FLT, chinony, vstupují do thylakoidní membrány chloroplastů, kde blokují elektronový transport v místě plastochinonového poolu a inhibují tak tok elektronů mezi PSII a PSI. Dalším možným místem jejich působení je Hillova reakce. Z uvedených výsledků je u všech rostlinných druhů zřejmý i významný nárůst hodnot základní fluorescence (F₀) v důsledku vlivu zvyšujícího se obsahu FLT v prostředí i listech. Vypovídá o možném ovlivnění antén PSII. Pravděpodobným mechanismem vedoucím ke zvýšení hodnoty F₀ je fosforylace světlosběrných komplexů a jejich odpojení od PSII. V důsledku toho klesá účinnost přenosu energie ze světlosběrných komplexů do jádra PSII a zvyšuje se hodnota F₀. Všechny tyto změny ve svém důsledku vedou ke snížení rychlosti fotosyntézy a následné snížené tvorbě biomasy.

Poděkování: Tato studie byla podpořena projekty GA ČR 522/09/0239 a 522/09/P167.

Kummerová M., Zezulka S., Váňová L.: The use of chlorophyll fluorescence for evaluation of phytotoxicity of organic pollutants

Polycyclic aromatic hydrocarbon fluoranthene (0–100 µg.l⁻¹) induced in faba bean, maize and sunflower plants after 29 days of cultivation a significant decrease of the content of photosynthetic pigments and

influenced parameters of induced chlorophyll fluorescence. Significant increase in F_0 value and decrease in F_V/F_M and Φ_{II} was found.

Key words: Fluoranthene, photosynthetic pigments, chlorophyll fluorescence, faba bean, maize, sunflower.

Kontaktní adresa – Contact address:

doc. RNDr. Marie Kummerová, CSc., Masarykova univerzita v Brně, Přírodovědecká fakulta, Ústav experimentální biologie, Kotlářská 2, 611 37 Brno, Česká republika, e-mail: kumerova@sci.muni.cz.