

**Egyetemi doktori (PhD) értekezés tézisei**

**A króm(VI) hatása békalencse-fajok axenikus tenyészeinek növekedési jellemzőire és fotoszintetikus aktivitására**

**Effects of chromium(VI) on growth and photochemical activity of axenic duckweed cultures**

**Oláh Viktor**

Témavezetők:

Dr. Mészáros Ilona tanszékvezető egyetemi docens

Dr. Lakatos Gyula tanszékvezető egyetemi docens



**DEBRECENI EGYETEM**  
Juhász-Nagy Pál Doktori Iskola  
Debrecen, 2009

## 1. Bevezetés és célkitűzések

Az emberi tevékenységek során környezetünkbe kerülő különböző anyagok mennyisége folyamatosan nő. Ezek egy része az élővilágra potenciálisan veszélyesnek tekinthető, egyesekről pedig az egyre részletesebb kutatások alapján sem tudható, hogy pontosan milyen hatásuk van.

A krómot az emberiség régóta használja különböző tevékenységei során, és ennek révén nagy mennyiségben kerülhet szennyező anyagként a környezetbe, ahol bekerülve a biogeokémiai ciklusokba az élőlényekre is veszélyt jelent. Veszélyessége ellenére a króm viselkedése az élő sejtben, illetve élettani hatásai a többi nehézfémhez képest még mindig kevésbé ismertek. A króm oxidációs állapota 0 és 6+ között változhat, a különböző formák viszonylag könnyen egymásba alakulnak. Stabillnak a Cr(III) és Cr(VI) formák tekinthetők. A Cr(VI) mérgező hatása sokszorosan nagyobb a Cr(III)-nál. A jelenlegi ismeretek szerint a Cr(VI) kromationként, a szulfátranzsport rendszeren keresztül jut be a növényi sejtbe, ahol elsősorban oxidáló ágensként, illetve közvetve elektron transzport rendszer befolyásolásával okoz oxidatív károsodást. Specifikus króm(VI)-rezisztencia mechanizmusok jelenleg nem ismertek a magasabb rendű növényekben, a kromátstressz kivédésében elsősorban az enzimatis és nem enzimatis antioxidánsok játszanak szerepet.

A természetes vizeket napjainkban érő antropogén terhelések, ezen belül is különösen a nehézfém- és peszticid szennyezések hatásainak feltárásában nagy segítséget nyújtanak az ökotoxikológiai tesztek. Segítségükkel feltárható az egyes anyagok viselkedése a természetben és a biológiai rendszerek ezekre adott válaszai. Egyre nagyobb az igény a mind érzékenyebb, illetve a nem destruktív eljárások bevezetésére és az erre alkalmas mérőrendszerek kialakítására. Folyamatosan kutatott téma az egyes természetbe kerülő kemikáliák potenciális hatása is az élő szervezetekre, köztük az emberre.

A (nem algákkal végzett) vízi ökotoxikológiai teszt-rendszerek egyik leggyakrabban alkalmazott teszt-szervezetei a békalencse-félék (Lemnoidae, Araceae, korábban Lemnaceae). A békalencse-fajok a természetes felszíni vizek fontos primer producensei. Gyorsan, főleg vegetatív módon szaporodnak, könnyen terjednek, alkalmazkodóképességük jó, így világszerte elterjedt fajok, amelyek legtöbbször kozmopolitának tekinthető. Kis méretük, aszeptikus körülmények közt való könnyű nevelhetőségük és gyors szaporodásuk alkalmassá teszi őket a mérgező anyagok hatásainak tanulmányozására. Az elterjedt használatuknak köszönhetően az utóbbi évtizedekben igen sokféle teszt-típus alakult ki. A rendkívül nagy változatosság miatt az eredmények is nehezen, vagy sok esetben egyáltalán nem vethetők össze. A különböző békalencse-fajok adott vegyületekkel szembeni érzékenységének az összehasonlítására ennek ellenére viszonylag kevés kutatás irányul.

Hazánkban elterjedten fordul elő a *Lemna gibba* L. (púpos békalencse), *Lemna minor* L. (apró békalencse), és a *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleiden (bojtos békalencse). Közülük a *Spirodela polyrrhiza* a többi hazai fajtól különbözik abban, hogy az abaxiális levélfelszíne közelében nagy mennyiségben akkumulál antociánokat. E vegyületeknek a növényekben betöltött szerepére a mai napig nincs egyértelmű magyarázat. Az antociánoknak számos funkciót tulajdonítanak, többek között fényvédő, antioxidáns, ozmoregulációs és rovarriasztó szerepük lehet.

#### **Az értekezés célkitűzései a következők voltak:**

- Három, Magyarország vizeiben általánosan elterjedt békalencse-faj, a *Lemna gibba* L., *Lemna minor* L., és a *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleiden akut és krónikus kromátkezelésekkel szembeni toleranciájának az összehasonlítása, fiziológiai illetve növekedési paraméterek alapján.
- A békalencse-tesztekben a kromát toxicitásának jellemzésére általunk vizsgált paraméterek érzékenységének az összehasonlítása.
- A *S. polyrrhiza* esetében az antocián-felhalmozás ökotípusok szerinti eltéréseinek tanulmányozása.
- A *S. polyrrhiza* antocián-felhalmozó képességének króm(VI)-, illetve más stresszhatások esetén biomarkerként való alkalmazhatóságának a vizsgálata.
- A *S. polyrrhiza* antocián-felhalmozásának vizsgálatára egy rutinszerűen használható, egyszerű módszer kidolgozása.

## **2. Anyag és módszer**

### **2.1. A teszt növények**

A vizsgálatokhoz három, világszerte, és a hazai vizekben is gyakori békalencse-fajt, a *Lemna gibba* L., *Lemna minor* L. és *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleiden steril tenyészetét használtuk.

#### **A törzstenyészetek létrehozása és fenntartása**

A *L. gibba* tenyészeteket a DE TTK Növénytan Tanszékén 1991 óta fenntartott axenikus törzstenyészetből nyertük.

A *L. minor* törzstenyészetekhez a növényegyedeket 2004-ben a Kis-Balaton II. ütem területéről gyűjtöttük.

A *S. polyrrhiza* törzstenyészetet tartottunk fenn. Az egyik a Kis-Balaton II. ütem területéről származott (AA-ökotípus). A másik a Pannónia Rt. Kunszentmártoni bányászati egykori szennyvízkezelő tórendszeréből származott (MA-ökotípus). Az utóbbi terület a korábbi bányászati tevékenységből eredően erősen krómszennyezettnek tekinthető. A két *S. polyrrhiza* ökotípus között a legnagyobb eltérés a növények antocián-felhalmozó képességében tapasztalható. A több antociánt felhalmozó MA-ökotípusnál „optimális”, nevelési körülmények között is lilás elszíneződés tapasztalható az abaxiális levélfelszíneken, míg a kevesebb antociánt

felhalmozó AA-ökotípus növényeinek abaxiális levélfelszíne zöld volt a nevelési feltételek mellett.

Az axenikus törzstenyészeteiket steril, 1/2 erősségű Hutner-táploldaton, a DE TTK Növénytan Tanszékén, Conviron E7/2 típusú fitotronban, illetve a Tanszék Növény és Szövettenyésztési laboratóriumában tartottuk fenn, 100  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  fényintenzitáson, 25/18°C hőmérsékleten, 16/8 h nappali/éjszakai periódus mellett.

## 2.2. Az ökotoxikológiai tesztek összeállítása és kivitelezése

A kromátnak a vizsgált békalencse-fajokra gyakorolt hatásait, illetve az egyes békalencse-fajok egymáshoz viszonyított, kromáttal szembeni érzékenységét rövid- illetve hosszú-távú ökotoxikológiai tesztek során vizsgáltuk.

### A hosszú-távú tesztek körülményei

A vizsgált békalencse-fajok tenyésztéseinek növekedését 10 napos, hosszú-távú, statikus tesztekben követtük nyomon. Az előnevelés illetve a tesztek körülményei megfelelnek a törzstenyészetek fenntartási körülményeivel.

**A tenyészetek növekedését az alábbi növekedési paraméterekkel mértük:** kolónia- és össz-rametszám, biomassza, friss- és száraztömeg, levélfelület.

A tenyészetek fejlődését a 0. és 10. napon mért adatok alapján a relatív növekedési rátával jellemeztük:  $RGR = (\ln x_t - \ln x_0) / t$

A tenyészetek fejlődésének gátlását a következő képlet alapján számoltuk:  
 $I\% = [(RGR_{\text{kontroll}} - RGR_{\text{kezelt}}) / RGR_{\text{kontroll}}] * 100$

### A rövid-távú tesztek körülményei és a mért paraméterek

A rövid-távú króm(VI)-kezelések 48 órás, statikus tesztekben történtek. A rövid-távú vizsgálatokban alkalmazott teszt-tenyészetek és az azok előállításához használt törzstenyészetek fenntartása folyamatos, 100  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  fényintenzitáson történt. Minden egyéb tenyésztési körülmény a törzstenyészetek nevelési körülményeivel azonos volt.

**A klorofill fluoreszcencia paraméterek mérése:** A tesztek 48. órájában, a növények fiziológiai állapotának a jellemzéséhez mértük az *in vivo* klorofill fluoreszcencia paramétereket.

A sötétadaptált, illetve a folyamatos megvilágítás során egyensúlyi (steady state) fotoszintézist elért növények vizsgálata PAM-2000 fluorométerrel (Walz GmbH, Németország) történt. A növények 20 perces előzetes sötétadaptációja után mértük illetve számoltuk a maximális (potenciális) fotokémiai hatékonysággal arányos  $F_v/F_m$  és  $F_m/F_o$  klorofill fluoreszcencia paramétereket.

A „nem-telítő”, állandó intenzitású, ún. aktiváló fényvel történő megvilágítás során kialakuló egyensúlyi (steady-state) állapotú fotoszintézis jellemzéséhez mértük a PSII aktuális fotokémiai hatékonyságát ( $\Delta F/F_m'$ ), a fotokémiai ( $qP$ ) és nem-fotokémiai ( $qN$ ) fluoreszcencia kioltó mechanizmusokat egyensúlyi állapotban jellemző értékeket. Számoltuk a

teljes fotoszintézis hatékonyságával arányosnak tekintett relatív fluoreszcencia csökkenést (RFD). A károsodott PSII reakciócentrumok részarányának jellemzéséhez számoltuk a szabályozott -Y(NPQ)-, és a nem-szabályozott -Y(NO)- nem-fotokémiai fluoreszcencia kioltó mechanizmusok részarányát.

A fotoszintetikus apparátusnak a gyorsan változó erősségű megvilágításhoz való alkalmazkodóképességét ún. gyors elektrontranszport (ETR) fényválasz-görbék alapján értékeltük. A kromátkezelések hatásának a jellemzésére az elektrontranszport ráta (ETR) indukálhatóságát használtuk fel, mely az ETR emelkedésének kezdeti meredekségével (maximális fotonhasznosítási együttható,  $\alpha$ ), az ETR maximális értékével ( $ETR_{max}$ ), illetve a fényteltési együtthatóval ( $E_k$ ) jellemezhető.

**A fotoszintetikus pigmentek vizsgálata:** A fotoszintetikus pigmentek mennyiségi vizsgálata a kromátkezelések 48. órájában lefagyasztott minták 20-50 mg-jának 80 %-os acetonos kivonatából történt spektrofotométerrel.

### **A *S. polyrrhiza* ökotípusok vizsgálata során alkalmazott további módszerek**

#### **Az antocián-felhalmozás mérésének módszerei:**

A levélfelületek mérése során digitális képfeldolgozás segítségével a *S. polyrrhiza* esetében elkülönítettük a zöld, és a lila, „antociános” felületeket. A lila felületeket  $mm^2$ -ben, illetve a teljes levélfelület százalékában adtuk meg.

A tesztek 10. napján lefagyasztott *S. polyrrhiza* növényi minták antociántartalmát spektrofotometriásan, metanol:deszt.víz:HCl (79:20:1 v/v/v) arányú keverékével készült kivonatban mértük.

#### **Paraquat-kezelések az oxidatív stresszérzékenység méréséhez:**

A *S. polyrrhiza* AA- illetve MA-ökotípusánál az oxidatív stressz kiváltásához paraquatot alkalmaztunk. A kezelések során a tesztnövényeket három órán át,  $50 \mu mol m^{-2} s^{-1}$  fényintenzitáson, Pq-oldaton tartottuk.

Az oxidatív károsodást a háromórás Pq-kezelések végén, a fotokémiai hatékonyság csökkenésével ( $F_v/F_m$ ) illetve a lipid-peroxidáció mértékével jellemeztük. A lipid-peroxidációt közvetetten, a relatív elektrolitszivárgás („Relative Electrolyte Leakage” = REL%) alapján jellemeztük.

### **2.3. Az adatok feldolgozása**

A króm(VI) hatásait az adott fiziológiai paraméterben bekövetkező változás (gátlás illetve emelkedés) alapján jellemeztük, a változásokat a kontroll értékek százalékában kifejezve. Az eredmények feldolgozása és számolása (RGR, I%, átlag, szórás) Microsoft Excel 2003 szoftverrel, az eredmények ábrázolása Systat Sigmaplot 10.0 szoftverrel, az átlagok és standard hibák értékének feltüntetésével történt. A statisztikailag értékelhető eltéréseket Student-féle t-próbával (Systat Sigmaplot 10.0)  $^+p<0,1$ ,  $*p<0,05$ ,  $**p<0,01$ ,  $***p<0,001$  szinteken tekintettük szignifikánsnak.

### 3. Új tudományos eredmények

#### 3.1. A három vizsgált békalencse-faj kromátérzékenységének összehasonlítása

Az eredményeink alapján megállapítottuk, hogy a vizsgált békalencse-fajok króm(VI)-toleranciája eltérő.

A hosszú-távú tesztek során a növekedési rátákban 100  $\mu\text{M}$  Cr(VI) hatására tapasztalt gátlások alapján a következő érzékenységi sorrendet állapítottuk meg:

*L. minor* > *L. gibba*  $\approx$  *S. polyrrhiza*.

A rövid-távú tesztekben mért klorofill fluoreszcencia paraméterek alapján a vizsgált békalencse-fajok kromát-érzékenysége a következő sorrendben csökkent:

*L. minor* > *S. polyrrhiza* > *L. gibba*.

A fotokémiai klorofill fluoreszcencia kioltás (qP) az aktiváló megvilágítási időszak végére mindhárom vizsgált faj tenyészetében a króm(VI) koncentráció növelésével csökkent. Kimutattuk, hogy ugyanakkor a nem-fotokémiai fluoreszcencia kioltás részfolyamatai az alkalmazott króm(VI) koncentrációtól függően az egyes fajok esetében eltérő mintázatot mutatnak. A károsodott fotokémiai rendszerek mennyiségével arányosnak tekintett nem szabályozott nem-fotokémiai fluoreszcencia kioltás - Y(NO) - a *L. minor* illetve *S. polyrrhiza* tesztnövényeiben a króm(VI) koncentrációk növekedésével emelkedett a fotokémiai hatékonyság ( $\Delta F/F_m'$ ) rovására. A *L. gibba* esetében azonban inkább a szabályozott nem-fotokémiai kioltás - Y(NPQ) - részaránya növekedett, ez magyarázatot ad az utóbbi faj nagyobb kromát-toleranciájára.

Megállapítottuk, hogy a gyors ETR fényválasz görbékből származtatott maximális fotonhasznosítási együttható ( $\alpha$ ), illetve az ETR<sub>max</sub> értékek alapján a *S. polyrrhiza* tesztnövények fotoszintézise a többi két békalencse-fajhoz képest lassabban alkalmazkodott az aktiváló megvilágításhoz, illetve kimutattuk a *L. minor*nak a többi két fajhoz viszonyított nagyobb kromátérzékenységét.

#### 3.2. Az ökotoxikológiai tesztekben vizsgált növekedési és fiziológiai jellemzők érzékenységének az összehasonlítása

A krónikus, tíznapos kromátkezelések hatására mindhárom békalencse-faj tenyészetében a növekedési paraméterek visszaesését tapasztaltuk.

A teszt-tenyészetek kolóniaszáma nem tükrözte megfelelően a króm(VI) gátló hatását. A kolóniánkénti átlagos rametszám a kromátkezelések hatására azonban megváltozott. A *L. gibba* és *L. minor* tenyészetekben az oxidatív stressz hatására a kolóniák feldarabolódása, azaz a levélkék szétválása volt megfigyelhető a tesztek 10. napjára. A *S. polyrrhiza* tenyészetében ezzel ellentétes folyamat zajlott le, melynek eredményeként az egy kolóniára jutó átlagos rametszám megemelkedett.

A vizsgált növekedési paraméterek közül az össz-rametszámok viszonylag kis érzékenységet mutattak a kromátkezelésekkel szemben, míg a frisstömeg- és száraztömeg növekedési ráták nagyobb növekedésgátlást jeleztek. A biomassza-gyarápodásnak a rametszámhoz viszonyított erősebb gátlása egyben a rametek átlagos méretének a csökkenését is jelezte.

A kromátkezelések hatásai a vizsgált fiziológiai jellemzők segítségével már 48 óra alatt kimutathatóak voltak, szemben a 3-4 napos kezelést követően jelentkező növekedésgátlással.

A sötétadaptált növényekben mért, a maximális- és alapfluoreszcencia arányát kifejező  $F_m/F_o$  hányados nagyobb érzékenységgel jelezte a króm(VI) gátló hatását, mint a potenciális fotokémiai hatékonysággal arányos  $F_v/F_m$  klorofill fluoreszcencia paraméter.

Az eredményeink alapján a fényadaptált növényekben mért, aktuális fotokémiai hatékonysággal arányos  $\Delta F/F_m'$  nagyobb érzékenységgel jelezte a króm(VI)-stresszt, mint a sötétadaptált növényekben mért és hasonló módon számolt  $F_v/F_m$ .

Az ETR fényválasz görbék változása alapján a króm(VI)-kezelések hatására mindhárom faj tenyészetében csökkent az elektrontranszport indukálhatósága. A 48 órás kromátkezelések a maximális fotonhasznosítási együttható ( $\alpha$ ), illetve az  $ETR_{max}$  értékének jelentős csökkenését eredményezték.

A króm(VI) 48 óra alatt mindhárom békalencse fajban csökkentette a fotoszintetikus pigment tartalmát, de az egyes fajok között, illetve a kromátkoncentrációtól függően a rövid kezelési idő miatt nem jelentkeztek szignifikáns eltérések, illetve azok kisebbek voltak, mint a klorofill fluoreszcencia paraméterek esetében. Cr(VI) hatására a klorofilok közül a *kl-a* tartalom nagyobb mértékben csökkent a tesztnövényekben, mint a *kl-b* mennyisége, ami elsősorban a PSII reakciócentrumok sérülését valószínűsíti. Ez magyarázza a nem szabályozott nem-fotokémiai fluoreszcencia kioltás, a Y(NO) részarányának emelkedését is. A tesztnövényekben a karotinoid-tartalom csökkenése a klorofilokhoz képest kisebb volt, ami a karotinoidok kromátkezeléssel szembeni kisebb érzékenységét, valamint a fotoszintetikus apparátusoknak az oxidatív stressz kivédése miatt megnövekedett karotinoid-igényét jelzi. A sérült reakciócentrumok számának emelkedésével az egy működőképes reakciócentrumra jutó átlagos antennaméret is növekszik. A felesleges gerjesztési energia elvezetését, illetve a fotooxidatív stressz elleni védekezést jelzi a nem-fotokémiai fluoreszcencia kioltással arányos  $q_N$  és Y(NPQ) paramétereknek a kromátkezelések hatására jelentkező magasabb értéke.

### **3.3. Az eltérő antocián-felhalmozó képességű *S. polyrrhiza* ökotípusok vizsgálata és Cr(VI) érzékenysége**

A *S. polyrrhiza* általunk vizsgált két ökotípusa között különbséget tapasztaltunk az antocián-felhalmozásban. Az egyik ökotípust antociánt nagyobb mértékben akkumuláló MA-ökotípusként írtuk le, amelynél a tesztnövényekben mind a spektrofotometriás mérésekkel, mind az „antociános” levélfelület meghatározások során nagyobb antocián-tartalmat mutattunk ki. Ugyanezen módszerekkel nyert eredmények alapján a másik ökotípust az antociánt alacsonyabb koncentrációban akkumuláló AA-ökotípusként jellemeztük. Az „AA” illetve „MA” ökotípus azonos nevelési feltételek mellett eltérő sebességű növekedést mutatott. Az MA-ökotípus lassabb növekedését az antociánok termelésére fordított nagyobb szénforrás felhasználás és többletenergia magyarázza, ami „természetes” körülmények között kompetíciós hátrányt jelenthet e változat számára.

Kimutattuk, hogy az antociánoknak a kromát-stressz hatására erősödik a felhalmozása mindkét ökotípus esetében. A két, eltérő antocián-felhalmozású ökotípus kromátkezelései során kapott eredményeink az antociánoknak az antioxidáns védelemben betöltött szerepét valószínűsítik. Alacsonyabb (25-50  $\mu\text{M}$ ) króm(VI)-koncentrációk mellett, a több antociánt felhalmozó (MA) ökotípus tenyészetei a hatékonyabb védelemnek köszönhetően kisebb növekedési gátlást mutattak. A 100  $\mu\text{M}$  Cr(VI)-koncentráció már olyan magasnak bizonyult, hogy a két ökotípus érzékenysége közel megegyezett. Az eredmények arra is rámutatnak, hogy az antociánok felhalmozására fordított többlet szénforrás és energia e vegyületek védő szerepe miatt megtérül, és bizonyos termőhelyi feltételek (pl. nehézfém- vagy herbicid terhelések) mellett a faj számára előnyt biztosíthat. A *S. polyrrhiza* antocián felhalmozása, és annak Cr(VI) hatására történő felerősödése magyarázatot adhat arra, hogy a faj növekedési jellemzői és fiziológiai folyamatai a többi két fajhoz képest a rövid és hosszú-távú tesztekben eltérő érzékenységet mutattak.

### **3.4. A *S. polyrrhiza* antocián-felhalmozásának, mint potenciális biomarkernek az alkalmazhatósága**

A spektrofotometriás mérések az alkalmazott Cr(VI)-koncentrációval arányosan emelkedő antocián-tartalmat mutattak ki mindkét *S. polyrrhiza* ökotípus teszt-tenyészetében a hosszú-távú tesztek 10. napján. Mivel a saját eredményeken kívül a *S. polyrrhiza* növényekben az antocián-felhalmozást más stressztényezők felléptekor is megfigyelték és leírták, vizsgálatokat végeztünk arra vonatkozóan, hogy alkalmas lehet-e a stressz mértékét jellemző, nem specifikus biomarkernek.

A vizsgálataink során kidolgoztunk egy digitális képfeldolgozási módszert a *S. polyrrhiza* tenyészetekben az „antociános” levélfelületek *in vivo* mérésére. A digitalizált abaxiális levélfelszínek értékelése a

spektrofotometriás antocián-tartalom meghatározásokkal jól egyező eredményeket adott. A módszer továbbfejlesztésével, a korlátainak a pontos megismerésével egy „nem destruktív”, *in vivo*, sorozatmérésekre alkalmas és olcsó mérőrendszer állítható össze. A módszer alkalmazásával a *S. polyrrhiza* felhasználó ökotoxikológiai tesztekben a nehézfémek és más stresszorok hatásai a növekedési paramétereknél nagyobb érzékenységgel mutathatók ki.

### **3.5. Az eredmények gyakorlati szempontból való alkalmazhatósága**

A *L. gibba*, *L. minor* és *S. polyrrhiza* axenikus tenyészeivel végzett vizsgálataink eredményei alapján a békalencse-fajok króm(VI)-kezelésekkel szembeni érzékenysége eltérőnek bizonyult azonos tesztkörülmények között. Mivel az ökotoxikológiai és fiziológiai kutatásokban elterjedten alkalmazott modellszervezetekről van szó, az eredményeink rámutatnak arra, hogy a rutintesztek tervezésekor szükséges az egyes fajok illetve ökotípusok eltérő stressz-toleranciájának a figyelembevétele.

Az eredményeink alapján a klorofill fluoreszcencia indukció módszer alkalmas a békalencse-tesztekben a szennyező anyagok toxikus hatásainak megállapítására. A klorofill fluoreszcencia indukcióban bekövetkező változások a növekedési paraméterekhez viszonyítva hamarabb jelzik a növényeket érő stressz-hatásokat. Ez a rövidebb vizsgálati idő különösen a gyors beavatkozást igénylő (pl. havária-jellegű szennyezések) esetekben járhat jelentős előnyökkel.

A növények fényakklimált állapotában mérhető klorofill fluoreszcencia paraméterek alkalmazásával *in vivo* jellemezhetők a fotoszintézis egyes részfolyamatai. Ez lehetővé teszi az adott szennyező anyagok hatásainak részletes, nem destruktív vizsgálatát, illetve a kapott eredmények alapján a későbbi specifikus vizsgálatok tervezését, és az új biomarkerek megtalálását.

A *S. polyrrhiza* vizsgálata során kapott eredmények alátámasztják azt a feltételezést, hogy az antociánok nem-enzimatisz oxidánsként kiegészítő szerepet töltenek be az oxidatív stressz elleni védelemben. Az antociánoknak a stressz hatására felerősödő akkumulációja alkalmas és ajánlható lehet a *S. polyrrhiza*-val végzett tesztekben nem specifikus biomarkerként való felhasználásra. A békalencse-tesztekben hagyományosan használt növekedési paraméterekhez képest a növényi kivonatok antocián-tartalmának spektrofotometriás vizsgálata illetve az antociános abaxiális levélfelszínének mérése a gyengébb stresszhatásokat érzékenyebben jelzi.

## 1. Introduction and aims of study

Since chemicals released by human activities have considerable risk on ecosystems environmental protection research pays marked attention to this field. Being widely used and strongly toxic elements heavy metals constitute a particularly harmful group of contaminants.

Chromium due to its strong cytotoxicity and because of its large amounts being released into biogeochemical cycles is especially in the focus of interest. Oxidation form of Cr varies between 0 and +6 and it could be readily changed depending on redox circumstances. Under normal conditions only Cr(III) and (VI) forms are stable. Hexavalent chromium - the most toxic Cr-form - usually exists as chromate ( $\text{CrO}_4^{2-}$ ) or dichromate ( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ) ion. Following the uptake of chromate ion which is similar to that of other chemically homologous ions destroying effects take place within short time period. Likewise other heavy metals Cr(VI) triggers oxidative burst and causes several damages in functioning of plants by alterations in biological membranes and by consequent disorders which triggers decrease in pigment content and photosynthetic capacity. Specific chromate tolerance mechanisms have not been revealed yet. Defence against Cr(VI) induced stress mainly contributed to enzymatic and non-enzymatic antioxidants.

Duckweed species (*Araceae*) are free-floating small plants which are widely spread in natural waters. Duckweeds can be grown axenically very easily in suitable medium which made them widely used test-organisms in scanning the potential effects of contaminants to plants. Duckweed test methods use various growth parameters or physiological and biochemical changes to estimate possible toxic effect of contaminants. Although these methods offer a rapid way of knowledge about general toxicity of chemicals, biomarkers used in these tests may respond differently and show differences of sensitivity in the case of various chemicals.

A large variety of duckweed test methods have evolved during the past few decades resulting in hardly comparable data. However, comparative studies on the sensitivity of various duckweed species to toxicants are still more or less lacking.

In Hungary the most widely distributed duckweed species are *Lemna gibba* L., *Lemna minor* L. and *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleiden. Among them *S. polyrrhiza* accumulates considerable amount of anthocyanins on its abaxial frond surface. This pigment accumulation takes place even under natural conditions and increases to multifold levels due to various environmental constraints. Despite the frequent appearance of anthocyanins in plants their actual physiological role is still unclear. This pigment group may have multifold role, e.g. photoprotective, antioxidant and osmoregulative functions but pros and contras make hard to definitely answer this question. Elevation of their concentration in certain plant tissues under stress suggests the probability of their participation in the antioxidant defence.

In our study we compared the sensitivity of *Lemna gibba*, *Lemna minor* and *Spirodela polyrrhiza* grown in axenic cultures against hexavalent chromium and screened for physiological properties which could potentially influence their tolerance against chromate stress.

**The objectives of our research were as follows:**

- Comparing the sensitivity of three widely distributed duckweed species in Hungary namely *Lemna gibba* L., *L. minor* L., and *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleiden against chromate treatments in axenic cultures by means of growth and physiological parameters.
- Comparing the sensitivity of studied parameters against chromate treatments.
- Investigating the physiological responses of two ecotypes of *S. polyrrhiza* differing in their anthocyanin accumulating capacity to Cr(VI).
- Screening for possible functions of anthocyanins in *S. polyrrhiza*
- Testing the applicability of anthocyanin content as potential biomarker of environmental stresses in *S. polyrrhiza*.

## **2. Materials and Methods**

Axenic stock cultures of *Lemna gibba* L. *Lemna minor* L., and two ecotypes of *Spirodela polyrrhiza* L. (Schleiden) were maintained in ½ strength Hutner's medium (pH 6.3) under controlled conditions (PFD=100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  16/8h photoperiod, 25/18°C day/night temperature). The two ecotypes of *S. polyrrhiza* differed in their anthocyanin accumulating capacity.

### **2.1. Conditions of long-term chromate exposures**

10 days long static growth tests were carried out. Other culturing conditions corresponded to the maintenance of stock cultures.

**The calculated growth parameters as test endpoints were as follows:**

number of colonies and number of fronds, fresh and dry weights, total frond area.

**Relative growth rates and growth inhibition** of cultures were calculated as follows:

$$\text{RGR} = (\ln x_t - \ln x_0) / t$$

$$\text{I\%} = [(\text{RGR}_{\text{control}} - \text{RGR}_{\text{treated}}) / \text{RGR}_{\text{control}}] * 100$$

### **2.2. Conditions of short-term chromate exposures**

Short-term chromate exposures were performed in 48h long static tests maintained under 100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  continuous white light illumination. Other culturing conditions correspond to the maintenance of stock cultures.

Chlorophyll fluorescence parameters were monitored after 48 h Cr(VI) treatments with PAM 2000 chlorophyll fluorometer (WALZ GmbH, Germany). Potential photochemical efficiency (Fv/Fm and Fm/Fo) was measured after 20 min dark adaptation. Actual photochemical efficiency ( $\Delta F/Fm'$ ), relative fluorescence decrease (RFD), photochemical (qP) and non-photochemical fluorescence quenching (qN) of light adapted plants were determined by saturation pulse method. In illuminated plants values expressing the proportion of regulated (NPQ) and non-regulated (NO) non-photochemical quenching mechanisms were also calculated.

Performance of photosynthetic **electron transport rate (ETR)** was investigated by means of rapid light curves (RLC) obtained with 1 min light steps using Mini-PAM chlorophyll fluorometer (WALZ GmbH, Germany). Initial slope ( $\alpha$ ), maximal performance ( $ETR_{max}$ ) and light saturating coefficient ( $E_k$ ) of RLCs were calculated.

**Photosynthetic pigment content** of plants was measured in 80% acetonic extracts of frozen plant samples by spectrophotometric method (Shimadzu UV/VIS 1601).

#### **Other methods used in study of two *S. polyrrhiza* ecotypes**

**Anthocyanic abaxial surface area** of plants was analyzed on the same way as total frond area measurement and the red ('anthocyanic') and green ('non anthocyanic') leaflet segments were distinguished.

**Anthocyanin content** of plant samples was determined spectrophotometrically after MEOH:dH<sub>2</sub>O:HCl (79:20:1 v/v/v) extractions, expressed per unit biomass.

#### **Paraquat-treatments**

In order to compare the sensitivity of *S. polyrrhiza* ecotypes against oxidative damage test plants were treated with Paraquat (Pq) for 3h under PFD 50  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  at 20 °C. Subsequently potential photochemical activity (Fv/Fm see above) was determined and relative electrolyte leakage (REL%) of treated plants was measured.

### **2.3. Data evaluation**

Effects of chromate were characterized by resulted changes in growth and physiological traits and expressed as percentage of control values. Data processing (RGR, I%, mean, SD) was carried out by MS Excel 2003. Differences in chromate-induced changes were analysed by Student's t-test and significant differences were indicated at <sup>+</sup>p<0,1 \*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001 (Systat Sigmaplot 10.0).

### **3. New scientific results**

#### **3.1. Differences in sensitivity of the tested duckweed species to Cr(VI) treatments**

Our results revealed that the three studied duckweed species differed in sensitivity against chromate.

On the basis of growth rate inhibitions at 100  $\mu\text{M}$  Cr(VI) in long-term tests the order of sensitivity was: *L. minor* > *L. gibba*  $\approx$  *S. polyrrhiza*.

On the other hand short-term exposures to Cr(VI) resulted in different order of sensitivity on the basis of chlorophyll fluorescence parameters: *L. minor* > *S. polyrrhiza* > *L. gibba*.

Photochemical quenching of fluorescence (qP) showed a Cr(VI)-concentration dependent decrease in all tested duckweed species at the end of continuous illumination by actinic light. However, components of non-photochemical quenching (qN) showed a species-dependent pattern at the end of chromate treatments: proportion of non-regulated non-photochemical quenching (NO) increased in Cr(VI)-concentration dependent manner in *L. minor* and *S. polyrrhiza* cultures indicating the rising number of damaged PSII reaction centres. On the other hand in *L. gibba* cultures the decrease in photochemical efficiency ( $\Delta F/F_m'$ ) was mainly the consequence of increase in regulated non-photochemical quenching (NPQ) which explains the higher tolerance of this species to short-term chromate exposure.

Similarly to the chlorophyll fluorescence parameters rapid light curves confirmed slower induction of electron transport in *S. polyrrhiza* compared to *L. gibba* and *L. minor* as well as the higher sensitivity of *L. minor* cultures to Cr(VI).

#### **3.2. Differences in sensitivity of measured parameters to Cr(VI) treatments**

Although all measured growth parameters decreased due to 100  $\mu\text{M}$  Cr(VI) treatments by the end of tests we obtained differences in their sensitivity. Change in colony number of test cultures proved not to be a good indicator of Cr(VI) toxicity. Counting colonies could be, however, useful because changes in frond/colony ratios indicate different response of tested duckweed species to Cr(VI). Decreasing frond/colony ratios (i.e. disintegrating colonies) of treated *L. gibba* and *L. minor* cultures reflected oxidative damage in tested plants while *S. polyrrhiza* responded in the opposite way to chromate treatments exhibiting higher frond/colony ratios by the end of tests.

Among growth parameters frond numbers of test cultures proved to be less sensitive indicator compared to fresh and dry weights. Stronger inhibition in biomass indicated decrease in average size of fronds due to Cr(VI) treatments.

By means of chlorophyll fluorescence method effects of chromate could be detected even within 48h, in contrast with the 3-4 days when growth inhibition started in long term tests.

Between the chlorophyll fluorescence parameters of dark adapted plants  $F_m/F_o$  showed higher sensitivity compared to  $F_v/F_m$ .

Our results showed that the actual photochemical efficiency ( $\Delta F/F_m'$ ) of illuminated plants was more sensitive to Cr(VI) stress than its dark adapted analogue  $F_v/F_m$ .

Rapid light responses of the electron transport showed concentration-dependent inhibition by chromate in test plants. Both maximal light use efficiency ( $\alpha$ ) and  $ETR_{max}$  decreased strongly due to Cr(VI)-treatments.

By the end of short-term exposures the applied chromate concentrations induced slight decrease in photosynthetic pigment content of test plants but 48h long treatments were not long enough to result in such distinct species or concentration dependent differences as chlorophyll fluorescence parameters indicated. Stronger reduction in concentration of chl-*a* compared to that of chl-*b* suggested chromate-induced oxidative damage mainly affecting the PSII reaction centres which also explained the rise in Y(NO) values. Concentrations of carotenoids decreased less than that of chlorophylls indicating their higher stability to chromate-induced damages and the need for efficient antioxidative protection in coping with emerging oxidative stress. These results also indicated that parallel with decreasing number of operating PSII reaction centres increase of average antenna size per reaction centre appeared. The need for quenching the excess excitation energy can explain the measured increase of qN and NPQ values.

### **3.3. Differences in growth and anthocyanin accumulating capacity of *S. polyrrhiza* ecotypes and their responses to Cr(VI)**

The two ecotypes of *S. polyrrhiza* exhibited differences in accumulation of anthocyanins. One of them have been described as MA-ecotype accumulating anthocyanins in large amount, as revealed by both spectrophotometric method and digitalized photo evaluation procedure. The other one have been characterized as AA-ecotype after its low anthocyanin accumulating capacity. The two ecotypes showed different growth under same culturing conditions. The MA-ecotype with large anthocyanin accumulation had lower growth rate due to the utilization of surplus carbon and energy in anthocyanin production which may be disadvantageous under 'natural' competitive conditions. AA-ecotype exhibited tenfold lower anthocyanin accumulating capacity than MA-ecotype did.

The induction of anthocyanin accumulation due to chronic chromate stress and differences in Cr(VI) tolerance of two *S. polyrrhiza* ecotypes suggests the probability of antioxidative role of anthocyanins in test plants. Based on the results of growth inhibition the MA-ecotype proved to be less

sensitive within 0-50  $\mu\text{M}$  Cr(VI) concentration range than AA-ecotype. 100  $\mu\text{M}$  Cr(VI) proved to be high enough to diminish the development of additional protection by anthocyanins against chromate. At this concentration reduction of growth rates were more or less the same in both ecotypes. These results suggested that anthocyanin accumulation under certain conditions such as in heavy metal or pesticide contaminated habitats could be profitable. Accumulation of anthocyanins and the induction of this accumulation in *S. polyrrhiza* under chromate stress could explain the different sensitivity of growth and chlorophyll fluorescence parameters of this species compared to those of *L. gibba* and *L. minor* in short- and long-term treatments.

### **3.4. Testing the applicability of anthocyanin accumulation as potential biomarker in *S. polyrrhiza***

Spectrophotometric measurements confirmed the increase of anthocyanin contents in both ecotypes of *S. polyrrhiza* parallel with increase of Cr(VI) concentrations by the 10<sup>th</sup> day of chromate treatments. Similarly to our results accumulation of anthocyanins in *S. polyrrhiza* was observed under other stress conditions therefore we studied whether anthocyanin content can be used as a nonspecific biomarker.

An image processing method has been worked out for *in vivo* measurement of anthocyanic leaf segments in the cultures of *S. polyrrhiza*. This *in vivo* technique has made possible the estimation of anthocyanin accumulation with a good accordance to results of spectrophotometric method. Further improvements of the method could take closer to development of a non-destructive, *in vivo*, easy to use and cheap measuring system which can be used for detection of the effects of heavy metals and other stressors with higher sensitivity than the growth parameters.

### **3.5. Implementation of the most important results in practice**

On the basis of our results *L. gibba*, *L. minor* and *S. polyrrhiza* cultured under the same conditions differed in sensitivity against Cr(VI) treatments. Being widely used model organisms in ecotoxicology and physiological research there is a growing need for knowledge about the differences among species in order to get comparable data by duckweed tests.

Chlorophyll fluorescence induction method proved to be a suitable tool in assessing general toxicity of contaminants in duckweed tests. Changes in chlorophyll fluorescence parameters appear faster in comparison with growth inhibition. The shorter response time of these parameters could be particularly important in the case of accidental contaminations. Use of chlorophyll fluorescence parameters of light acclimated plants allows us to characterize separate processes of photosynthesis. Data obtained by this way makes possible specific non-destructive analyses of the effect of various contaminants and search for possible new biomarkers.

Results of our experiments with *S. polyrrhiza* confirmed the supposed role of anthocyanins in coping with oxidative damage as non-enzymatic antioxidants. Stress-induced anthocyanin accumulation in *S. polyrrhiza* could be a suitable non-specific biomarker in ecotoxicological studies e.g. on water quality. Both spectrophotometric measurements of plants' extracts and digital analysis of 'anthocyanic' leaflet segments proved that anthocyanin accumulation can be used as more sensitive process to stress factors than growth.

## 4. A tudományos tevékenység jegyzéke

### 4.1. Az értekezés témakörében megjelent referált közlemények jegyzéke

- Oláh, V.,** Gáspár, A., Láposi, R., Cseke, G., Veres, Sz., Lakatos, Gy., Mészáros, I. 2003: A klorofill-fluoreszcencia indukció módszer alkalmazása Lemna-tesztekben vízszennyezések ökotoxikológiai hatásainak tanulmányozására. Hidrológiai Közlöny, 83: 110-111.
- Oláh, V.,** Hörsik, T.Zs., Cseke, G., Láposi, R., Veres, Sz., Gáspár, A., Lakatos, Gy., Mészáros, I. 2004: A Cr(VI) hatása a *Chlorella pyrenoidosa* és a *Lemna gibba* növekedésére és fotoszintézis aktivitására. Hidrológiai Közlöny, 84: 112-114.
- Oláh, V.,** Cseke, G., Hörsik, T.Zs., Veres, Sz., Lakatos, Gy., Mészáros, I. 2005: A króm(VI) hatásának vizsgálata békalencse-tesztekben a klorofill fluoreszcencia indukció paraméterek alapján. Hidrológiai Közlöny, 85: 108-110.
- Oláh, V.,** Szöllősi, E., Varga, É., Kiss, T., 2008: Chromium (VI) induced inhibition of photosynthesis and growth in duckweed. Cereal Research Communications, 36: 319-322. IF: 1,190 (2007)
- Oláh V.,** Tóth, Gy.D., Szöllősi, E., Kiss, T. 2008: Comparative study on sensitivity of different physiological properties of *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleiden to Cr(VI) treatments. Acta Biologica Szegediensis, 52: 181-182.
- Oláh, V.,** Kiss, T., Tóth, Gy.D., Surányi, Gy., Szöllősi, E. 2008: Bojtos békalencse (*Spirodela polyrrhiza*) ökotípusok króm(VI)-toleranciájának vizsgálata. Hidrológiai Közlöny, 88: 147-149.
- Oláh, V.,** Combi, Zs., Szöllősi, E., Kanalas, P., Mészáros, I., 2009: Anthocyanins: possible antioxidants against Cr(VI) induced oxidative stress in *Spirodela polyrrhiza*. Cereal Research Communications, 37: 533-536. IF: 1,190 (2007)
- Oláh, V.,** Szöllősi, E., Szabó, Sz., Gyulai, I., Mészáros, I. 2009: A *Spirodela polyrrhiza* antocián-felhalmozása, mint lehetséges biomarker ökotoxikológiai tesztekben. Hidrológiai Közlöny, 89: 158-160.
- Oláh, V.,** Bertók, Cs., Kanalas, P., Szöllősi, E., Lakatos, G., Mészáros, I. 2010: Short term chromate stress induces different photosynthetic responses in two duckweed species. Photosynthetica, közlésre benyújtva.

#### **4.2. Az értekezés témaköréhez kapcsolódó közlemények jegyzéke**

- Hörcsik, T.Zs., Szalay, G., Pál, M., **Oláh, V.**, Mészáros, I., Lakatos, Gy., Balogh Á. 2004: Fitokelatinok előfordulása *Chlorella pyrenoidosa* zöldalgában Cr(VI) stressz hatására. Hidrológiai Közlöny, 84: 50-52.
- Hörcsik, T.Zs., **Oláh, V.**, Domina, R., Mészáros, I., Lakatos, Gy., Balogh, Á. 2005: Szénhidrát-anyagcsere változása *Chlorella pyrenoidosa*-ban Cr(VI) és Cd stressz hatására. Hidrológiai Közlöny, 85: 47-49.
- Hörcsik, T.Zs., **Oláh, V.**, Balogh, Á., Mészáros, I., Simon, L., Lakatos, Gy. 2006: Effect of Chromium(VI) on growth, element and photosynthetic pigment composition of *Chlorella pyrenoidosa*. Acta Biologica Szegediensis, 50: 19-23.
- Szikszai, Z., Kertész, Zs., Kocsár, I., **Oláh, V.** 2008: Quantitative elemental localisation in plants using ion beam microprobe analysis. Acta Biologica Szegediensis, 52: 81-83.

#### **4.3. Az értekezés témakörében konferencia kiadványokban megjelent teljes közlemények jegyzéke**

- Oláh, V.**, Kiss, T., Tóth, Gy.D., Lakatos, Gy., Mészáros, I. 2008: Hazai békalencse-fajok nehézfém-toleranciája. In: Orosz, Z., Szabó, V., Molnár, G., Fazekas, I., (eds.): IV. Kárpát-Medencei Környezettudományi Konferencia, Debrecen, 2008. március 28-29. (előadás) Konferenciakiadvány II. kötet, 160-166. ISBN 978-963-06-4625-3
- Oláh, V.**, Szöllősi, E., Kanalas, P., Lakatos, Gy., Mészáros, I. 2009: Magyarországi békalencse-fajok stressz-toleranciája. In: Mócsy, I., Szacsvai, K., Urák, I., Zsigmond, A.R. (eds.): V. Kárpát-Medencei Környezettudományi Konferencia, Kolozsvár, 2009. március 26-29. (poszterbemutató) Konferenciakiadvány, 263-267. ISSN 1842-9815

#### **4.4. Egyéb megjelent vagy közlésre elfogadott közlemények jegyzéke**

- Koncz, P., Gáspár, A., **Oláh, V.**, Elek, L., Lakatos, Gy., Mészáros, I. 2005: Variability of leaf growth characteristics in the canopy of sessile oak and Austrian oak. Acta Biologica Szegediensis, 49: 149-150.
- Mészáros, I., Láposi, R., Veres, Sz., Sárvári, É., Gáspár, A., Bai, E., **Oláh, V.**, Lakatos, Gy. 2005: Effects of supplemental UV-B radiation on photosynthesis performance and UV-B absorbing compounds in leaves of two oak species. Acta Biologica Szegediensis, 49: 165-166.
- Veres, Sz., Tóth, V.R., Láposi, R., **Oláh, V.**, Lakatos, G., Mészáros, I., 2006: Carotenoid composition and photochemical activity of four sandy grassland species. Photosynthetica, 44: 255-261. IF: 0,782
- Mészáros, I., Veres, Sz., Kanalas, P., **Oláh, V.**, Szöllősi, E., Sárvári, É., Lévai, L., Lakatos, Gy. 2007: Leaf growth and photosynthetic performance of two co-existing oak species in contrasting growing seasons. Acta Sylvatica et Lignaria Hungarica, 3: 7-20.

- Czudar, A., G6r, D., Varga,  ., **Ol h, V.**, 2008: Role of vegetation in the functioning of a constructed wetland for wastewater treatment. *Cereal Research Communications*, 36: 1127-1130. IF: 1,190 (2007)
- Kanalas, P., Sz6ll6si, E., **Ol h, V.**, Borovics, A., M6sz ros, I. 2008: Small-scale variability in phenological, leaf morphological properties and isoenzyme pattern of sessile oak complex (*Lepidobalanus* sub-genus) in a sessile oak-Turkey oak forest stand. *Acta Biologica Szegediensis*, 52: 221-223.
- Kanalas, P., Borovics, A., Cseke, K., Sz6ll6si, E., **Ol h, V.**, Fenyvesi, A., M6sz ros, I. 2008: Taxon6miai, popul ci6genetikai  s fenol6giai vizsg latok egy s kf6k ti erd6 feher t6lgyeinek k6r6ben. *Term6szetv6delmi K6zlem6nyek*, (megjelen6s alatt)
- M6sz ros, I., Veres, Sz., Sz6ll6si, E., Koncz, P., Kanalas, P., **Ol h, V.** 2008: Responses of some ecophysiological traits of sessile oak (*Quercus petraea*) to drought stress and heat wave in growing season of 2003. *Acta Biologica Szegediensis*, 52: 107-109.
- Sz6ll6si, E., Veres, Sz., Kanalas, P., **Ol h, V.**, Solti,  ., S rv ri,  ., M6sz ros, I. 2008: Effects of UV-B radiation and water stress on chlorophyll fluorescence parameters and activity of xanthophyll cycle in leaves of sessile oak (*Quercus petraea*) seedlings. *Acta Biologica Szegediensis*, 52: 241-242.
- Varga,  ., Czudar, A., **Ol h, V.**, Gyulai, I. 2008: Changes of vegetation on the stony shore of lake Balaton under the influence of fluctuating water level. *Cereal Research Communications*, 36: 1123-1126. IF: 1,190 (2007)
- L posi, R., Veres, Sz., Lakatos, Gy., **Ol h, V.**, Fieldsend, A., M6sz ros, I. 2009: Responses of leaf traits of European beech (*Fagus sylvatica* L.) samplings to supplemental UV-B radiation and UV-B exclusion. *Agricultural and Forest Meteorology*, 149: 745-755. IF: 3.668 (2008)

#### **4.5. Egy b konferencia kiadv nyokban megjelent teljes k6zlem6nyek jegyz6ke**

- M6sz ros, I., Koncz, P., Kanals, P., Veres, Sz., S rv ri,  ., **Ol h, V.**, Sz6ll6si, E., 2006: A kocs nytalan t6lgy  s a csert6lgy 6kofiziol6giai saj toss gai kontrasztos id6j r s   vekben. In: M ty s, Cs., V g, P., (eds.) *Erd6  s Kl ma V.* pp. 183-197. ISBN 978-963-9364-88-2

#### **4.6. Angol nyelv  konferencia el6ad sok, poszterek jegyz6ke**

- Ol h, V.**, Veres, Sz., Lakatos, Gy., M6sz ros, I. 2005: Applicability of *in vivo* chlorophyll fluorescence induction method to detect the effects of trace pollutants on aquatic plants. 5th International Symposium on the ecology and management of Shallow Lakes. 5-9 June 2005, Dalfsen, Hollandia,. *Book of Abstracts*, p. 48. (el6ad s)

- Mészáros, I., Veres, Sz., Koncz, P., **Oláh, V.**, Sárvári, É., Lévai, L., Szöllősi, E., Lakatos, G. 2006: Leaf growth, photochemical efficiency and pigment composition in sun and shade canopy layers of co-existing *Quercus petraea* L. and *Quercus cerris* L. trees during contrasting growing seasons. XV FESPB Congress, Lyon, 17-21 July 2006, Book of Abstracts, p. 90. (poszterbemutató)
- Mészáros, I., Láposi, R., Veres, Sz., Sárvári, É., **Oláh, V.**, Lakatos, G. 2006: Physiological responses of sessile oak and pedunculate oak to supplemental UV-B radiation. 3rd EPSO Conference: Plant Dynamics: from molecules to ecosystems. 28 May – 1 June 2006, Visegrád, Hungary, p.116. (poszterbemutató)
- Oláh, V.**, Szöllősi, E., Varga, É., Kiss, T., 2008: Chromium (VI) induced inhibition of photosynthesis and growth in duckweed. 7th Alps-Adria Scientific Workshop, 28 April – 1 May 2008, Stará-Lesná, Szlovákia (előadás)
- Oláh, V.**, Combi, Zs., Szöllősi, E., Kanalas, P., Mészáros I., 2009: Anthocyanins: possible antioxidants against Cr (VI) induced oxidative stress in *Spirodela polyrrhiza*. 8th Alps-Adria Scientific Workshop, 27 April – 2 May 2008, Neum, Bosznia-Hercegovina (előadás)

#### **4.7. Magyar nyelvű konferencia előadások, poszterek jegyzéke**

- Oláh, V.**, Gáspár, A., Láposi, R., Cseke, G., Veres, Sz., Lakatos, Gy., Mészáros, I. 2002: A klorofill-fluoreszcencia indukció módszer alkalmazása Lemna-tesztekben vízszennyezések ökotoxikológiai hatásainak tanulmányozására. XLIV. Hidrobiológus Napok, Tihany, 2002. október 2-4. (poszterbemutató)
- Oláh, V.**, Hörcsik, T.Zs., Cseke, G., Láposi, R., Veres, Sz., Gáspár, A., Lakatos, Gy. Mészáros, I. 2003: A Cr (VI) hatása a *Chlorella pyrenoidosa* és a *Lemna gibba* L. növekedésére és fotoszintetikus aktivitására. XLV. Hidrobiológus Napok, Tihany, 2003. október 1-3. (poszterbemutató)
- Oláh, V.**, Cseke, G., Veres, Sz., Gáspár, A., Lakatos, Gy., Mészáros, I. 2003: Cd, Cr (VI), és glifozát hatása a növekedési és klorofill fluoreszcencia paraméterekre békalencse-tesztekben. V. Magyarországi Fotoszintézis Konferencia, Noszvaj. Program- és Összefoglaló kötet P. 9. (poszterbemutató)
- Hörcsik, T.Zs., Szalay, G., Pál, M., **Oláh, V.**, Mészáros, I., Lakatos, Gy., Balogh Á. 2003: Fitokelatinok előfordulása *Chlorella pyrenoidosa* zöldalgában Cr(VI) stressz hatására. XLV. Hidrobiológus Napok, Tihany, 2003. október 1-3. (poszterbemutató)
- Oláh, V.**, Cseke, G., Hörcsik, T.Zs., Veres, Sz. és Mészáros, I. 2004: A króm (VI) hatásának vizsgálata békalencse-tesztekben a klorofill fluoreszcencia indukció paraméterek alapján. XLVI. Hidrobiológus Napok, Tihany, 2004. október 6-8. (poszterbemutató)

- Oláh, V.,** Lakatos, Gy., Mészáros, I. 2005: Békalencse-fajok krómérzékenysége. A „Magyar Tudomány Napja” alkalmából megrendezett TTK Biológiai Tanszékcsoport tudományos ülése, Debrecen, 2005. október 16. (előadás)
- Oláh, V.,** Cseke, G., Lakatos, Gy., Mészáros, I. 2005: A króm(VI) hatása különböző békalencse-fajok tenyészetének növekedésére. Magyar Hidrológiai Társaság XXIII. Országos Vándorgyűlése, Nyíregyháza, Konferenciakiadvány (CD) 3/b/7: 1-6. (előadás)
- Oláh, V.,** Kiss, T., Zádori, J., Lakatos, Gy., Mészáros, I. 2006: Adatok hazai békalencse-fajok króm (VI)-érzékenységéhez. XLVIII. Hidrobiológus Napok, Tihany, 2006. október 4-6. (poszterbemutató)
- Koncz, P., Gáspár, A., **Oláh, V.,** Elek, L., Lakatos, Gy., Mészáros, I. 2006: Gyapjaslepke (*Lymantria dispar*) dominanciájú gradáció hatása cserestölgyes erdő lombkorona-szintjében a síkfőkúti ILTER területen. In: Szentesi, Á., Szövényi, G., Török, J. (szerk.): 7. Magyar Ökológus Kongresszus, Budapest, 2006. szeptember 4-6., Előadások és poszterek összefoglalói. p. 110. (poszterbemutató)
- Mészáros, I., Láposi, R., Veres, Sz., **Oláh, V.,** Koncz, P., Szöllősi, E., Lakatos, Gy. 2006: UV-B sugárzás hatása a kocsánytalan és a kocsányos tölgy leveleinek fotoszintetikus aktivitására és flavonoid tartalmára. V. Erdő és klíma konferencia, Mátrafüred, 2006. október 25-27. (poszterbemutató)
- Veres, Sz., Láposi, R., **Oláh, V.,** Lévai, L., Koncz, P., Szöllősi, E., Mészáros, I. 2006: Eltérő bükk származások összehasonlító ökofiziológiai jellemzése. V. Erdő és klíma konferencia, Mátrafüred, 2006. október 25-27. (poszterbemutató)
- Zádori, J., **Oláh, V.,** Kiss, T., Lakatos, Gy., Mészáros, I. 2006: A *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleiden króm (VI)-érzékenységének változása eltérő szulfát-koncentrációjú tápközegekben. XLVIII. Hidrobiológus Napok, Tihany, 2006. október 4-6. (poszterbemutató)
- Oláh, V.,** Kiss, T., Tóth, Gy.D., Surányi, Gy., Szöllősi, E., Mészáros, I. 2007: Bojtos békalencse (*Spirodela polyrrhiza*) ökotípusok króm (VI)-toleranciájának vizsgálata. XLIX. Hidrobiológus Napok, Tihany, 2007. október 3-5. (poszterbemutató)
- Oláh, V.,** Szöllősi, E., Kiss, T., Szabó, Sz., Lakatos, Gy., Mészáros, I. 2008: Az antocián-felhalmozódás, mint lehetséges biomarker *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleiden tenyészetekben. XLIX. Hidrobiológus Napok, Tihany, 2008. október 1-3. (poszterbemutató)
- Oláh, V.,** Tóth, Gy.D., Szöllősi, E., Kiss, T., 2008: Comparative study on sensitivity of different physiological properties of *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleiden to Cr (VI) treatments. Magyar Növénybiológiai Társaság IX. Kongresszusa, Szeged, 2008. július 7-9. (poszterbemutató)