

RESPONSE OF PRIMARY PROCESSES OF PHOTOSYNTHESIS IN LICHENS TO THE PRESENCE OF FLUORANTHENE

ODEZVA PRIMÁRNÍCH PROCESŮ FOTOSYNTÉZY U LIŠEJNÍKŮ NA PŘÍTOMNOST FLUORANTHENU

Zezulka Š., Kummerová M.

Katedra Fyziologie a anatomie rostlin, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita v Brně, Kotlářská 2, 611 37 Brno, Česká republika.

E-mail: zezulka@sci.muni.cz, kumerova@sci.muni.cz

ABSTRACT

Our objective was to evaluate the short-term effect of polycyclic aromatic hydrocarbon fluoranthene (FLT) and its increasing concentration (0.01, 1 a 5 mg.l⁻¹) on primary processes of photosynthesis in lichens. Responses of two foliose lichens, *Lasallia pustulata* and *Umbilicaria hirsuta*, both with green symbiotic algae *Trebouxia* sp., were studied using an induced chlorophyll fluorescence technique. The obtained results showed a negative affection of primary processes of photosynthesis. Higher FLT concentrations (1 and 5 mg.l⁻¹) caused already after 60 hours of exposure significant increase of basal fluorescence (F_0), decrease of potential quantum yield of photosystem II (F_v/F_m) and quantum yield of electron transport through photosystem II (Φ_{II}).

Keywords: PAHs, lichens, primary processes of photosynthesis, chlorophyll fluorescence.

ABSTRAKT

Cílem práce bylo zhodnotit krátkodobé působení polycyklického aromatického uhlovodíku fluoranthenu (FLT) a jeho zvyšující se koncentrace (0.01, 1 a 5 mg.l⁻¹) na primární procesy fotosyntézy u lišejníků *Lasallia pustulata* a *Umbilicaria hirsuta* metodou indukované fluorescence chlorofylu. Získané výsledky dokládají negativní ovlivnění primárních procesů fotosyntézy. Vyšší koncentrace FLT (1 a 5 mg.l⁻¹) vyvolaly už po 60 hodinách expozice statisticky významné zvýšení hodnot základní fluorescence (F_0) a snížení hodnot potenciálního kvantového výtěžku PSII (F_v/F_m) a kvantového výtěžku elektronového transportu PSII (Φ_{II}).

Klíčové slova: PAHs, lišejníky, primární procesy fotosyntézy, fluorescence chlorofylu.

ÚVOD

Terestrické ekosystémy jsou ovlivňovány různými toxickými látkami, včetně polycyklických aromatických uhlovodíků (PAHs). Tyto lipofilní organické polutanty reprezentují skupinu několika set sloučenin obsahujících nejméně dvě kondenzovaná benzenová jádra (Wilcke et al. 2002). Mnohé PAHs a jejich deriváty jsou vysoce toxické mutagenní a karcinogenní pro všechny živé organismy včetně člověka. Vznikají zejména během nedokonalého spalování a pyrolýzy organické hmoty. Jsou přírodního a zejména antropogenního původu. V atmosféře jsou PAHs transportovány na krátké i dlouhé vzdálenosti. Suchou nebo mokrou depozicí se dostávají do půd, vod, sedimentů a na vegetaci.

V různých studiích je vegetace využívána jako bioakumulátor vzdušných polutantů pro monitorovací studie (Simonish et Hites 1995; Tomaniová et al. 1998). Nejen listy a jehlice rostlin, ale také mechy a lišejníky jsou využívány jako bioakumulátory nebo bioindikátory látek znečišťujících životní prostředí – plyných polutantů a těžkých kovů (Bacci et al. 1990; Branquinho et al. 1997) i organických polutantů (Guidotti et al. 2003)

Lišejníky jsou asociace heterotrofní houby (mykobionta) a fotoautotrofního organismu (fotobionta), řasy nebo sinice. Vztah obou biontů se označuje nejčastěji jako symbióza. S biologií lišejníků souvisí jejich vysoká citlivost na škodlivé účinky různých polutantů (Gries 1996). Vysoká propustnost jejich stélky umožňuje rychlý průnik toxických látek z prostředí k fotosyntetizujícím buňkám. Reakce lišejníků na znečištění prostředí proto může být mnohem citlivější než u vyšších rostlin a lze předpokládat také druhově specifickou odezvu i na polutanty typu PAHs.

Polycyklické aromatické uhlovodíky a produkty jejich transformace (metabolizace nebo fotomodifikace) ovlivňují struktury a funkce na buněčné i subbuněčné úrovni, což se může odrazit v růstu a vývoji rostlin (Kolb et Harms 2000). Prvním místem účinku na buněčné úrovni je cytoplazmatická membrána. Její narušení, narušení vnitřních membrán v buňce a následné změny v aktivitě enzymů mohou způsobit až inhibici důležitých fyziologických procesů, jako je fotosyntéza a respirace. U lišejníků se předpokládá vyšší citlivost fotobiontů oproti mykobiontu (Gries 1996).

Změny různých parametrů fotosyntézy jsou spolehlivými ukazateli působení různých stresorů na rostliny (Huang et al. 1997). Moderní metody studia primárních procesů fotosyntézy, zejména metody založené na sledování fluorescence chlorofylu, umožňují rychle a nedestruktivně zaznamenat změny ve funkci fotosystému II (PSII) a elektronovém transportním řetězci mezi PSII a PSI (Xiao et al. 1996).

Cílem této studie bylo zhodnotit vliv fluoranthenu (FLT) na parametry fluorescence chlorofylu u lupenitých lišejníků *Lasallia pustulata* a *Umbilicaria hirsuta*. Fluoranthen byl vybrán jako nejčastější polyaromát vyskytující se v prostředí České republiky (Holoubek 2000). Lze předpokládat, že zvyšující se koncentrace FLT a také doba expozice může vyvolat inhibici primárních procesů fotosyntézy u lichenizovaných symbiotických řas.

MATERIÁL A METODIKA

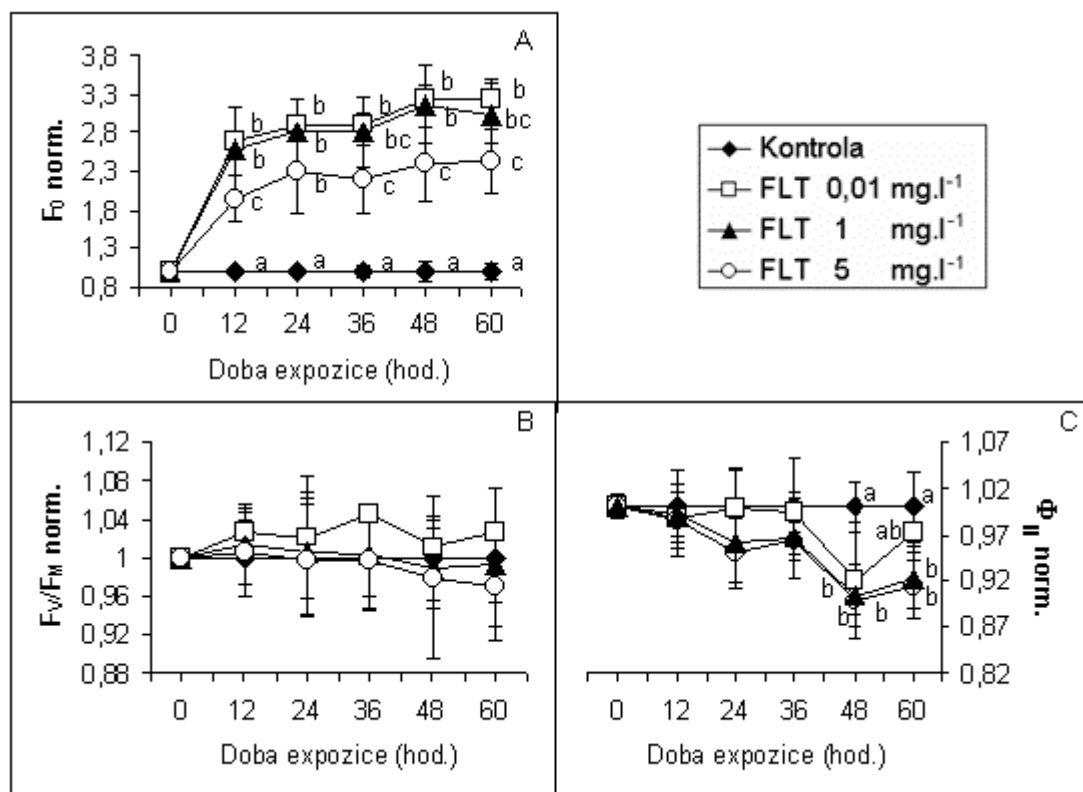
Rostlinným materiálem byly dva druhy lupeňových lišejníků, *Lasallia pustulata* (L.) Mérat. a *Umbilicaria hirsuta* (Sw. Ex Westr.) Hoffm., jejichž fotobiontem je zelená řasa rodu *Trebouxia*. Fluoranthén byl aplikován v koncentracích 0.01, 1 a 5 mg.l⁻¹, které reprezentují mírné až vysoké zatížení prostředí. Měření fluorescence chlorofylu bylo prováděno před expozicí a po 12, 24, 36, 48 a 60 hodinách expozice fluorometrem PAM 2000 (Walz, Německo). Z pomalé indukční (Kautského) kinetiky fluorescence chlorofylu byly stanoveny hodnoty základní fluorescence (F_0), potenciálního kvantového výtěžku PSII (F_v/F_m) a kvantového výtěžku elektronového transportu PSII (Φ_{II}) (viz Krause et Weis 1990 nebo Roháček et Barták 1999). Obsah FLT byl ve stélkách lišejníků stanoven chromatograficky pomocí GC-MS (Finnigan GCQ Ion Trap, Finnigan MAT, USA).

Výsledky byly statisticky zpracovány programem STATISTICA 6 (StatSoft, Inc.[®]). Průměry byly vypočteny z 10 opakování. Statistická významnost rozdílů byla po ověření normality dat a homogenity rozptylu vyhodnocena jednocestnou analýzou rozptylu (ANOVA, $P = 0.05$) nebo neparametrickým Kruskal-Wallis testem a průměry byly porovnány pomocí Scheffé a Tukey testů.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Získané výsledky dokládají, že zejména vyšší aplikované koncentrace FLT (1 a 5 mg.l⁻¹) vyvolaly statisticky významné zvýšení hodnot základní fluorescence chlorofylu (F_0) již po 12 hodinách expozice (viz obr. 1A a 2A). V souladu s jinými autory lze předpokládat, že FLT ovlivnil přenos energie ze světlosběrných komplexů do jádra PSII, vyvolal inaktivaci jádra PSII nebo např. destrukci molekul chlorofylu (Huang et al. 1996, Mallakin et al. 2002). Nelze však určit, který z těchto mechanismů se u studovaných lišejníků uplatňuje.

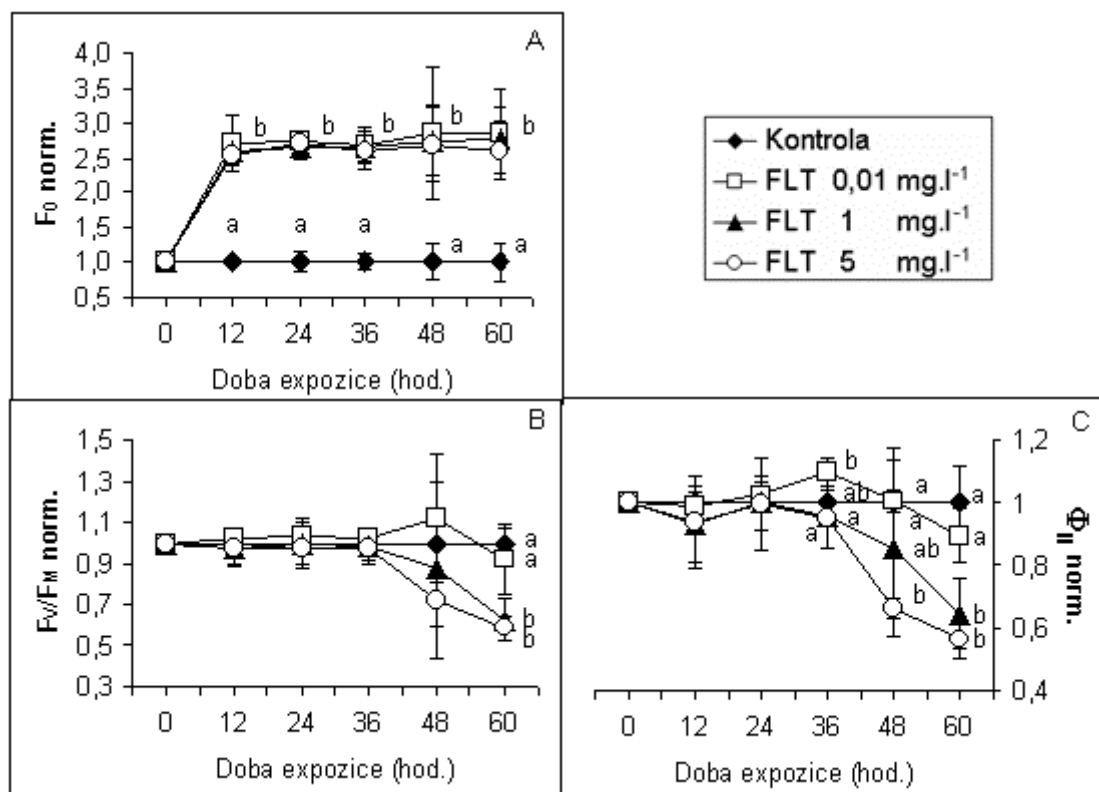
Obr. 1 Vliv koncentrace fluoranthenu a doby expozice na (A) základní fluorescenci chlorofylu (F_0), (B) potenciální kvantový výtěžek PSII (F_V/F_M) a (C) efektivní kvantový výtěžek elektronového transportu PSII (Φ_{II}) u lišejníku *Lasallia pustulata*. Hodnoty parametrů byly normalizovány k hodnotě kontrolního vzorku, změřené v témže čase. Chybové úsečky indikují směrodatné odchylky. Hodnoty označené různými písmeny jsou statisticky významně rozdílné ($P = 0.05$).



Po delší době expozice (48 až 60 hodin) bylo zaznamenáno významné snížení hodnot potenciálního kvantového výtěžku (F_V/F_M) i kvantového výtěžku elektronového transportu mezi fotosystémy II a I (Φ_{II}) (obr. 1B, 1C, 2B a 2C). Tyto výsledky dokládají, že fotochemické reakce obou lišejníků (reakce na PSII a následný elektronový transportní řetězec) jsou fluoranthenem inhibovány. Marwood et al. (2003) uvádí podobný pokles hodnot těchto parametrů u *Myriophyllum spicatum* po aplikaci kreosotu.

Lze předpokládat, že poškození fotosyntetického aparátu fluoranthenem nebo produkty jeho transformace nemusí být výsledkem jen ovlivnění funkce fotosystému II nebo biosyntézy fotosyntetických pigmentů, ale také možných změn ve stavbě a funkci fosfolipidových membrán a dalších částí rostlinné buňky, vyvolaných přítomností toxikantu. (Duxbury et al. 1997).

Obr. 2 Vliv koncentrace fluoranthenu a doby expozice na (A) základní fluorescenci chlorofylu (F_0), (B) potenciální kvantový výtěžek PSII (F_v/F_m) a (C) efektivní kvantový výtěžek elektronového transportu PSII (Φ_{II}) u lišejníku *Umbilicaria hirsuta*. Hodnoty parametrů byly normalizovány k hodnotě kontrolního vzorku, změřené v témže čase. Chybové úsečky indikují směrodatné odchylky. Hodnoty označené různými písmeny jsou statisticky významně rozdílné ($P = 0.05$).



Z výsledků analýzy obsahu fluoranthenu ve stélkách obou lišejníků (Tab.1) je zřejmé, že oba druhy jsou schopné FLT přijímat z prostředí a akumulovat. Vyšší akumulaci schopnost byla zaznamenána u druhu *Umbilicaria hirsuta*.

Tab. 1 Obsah fluoranthenu (mg.kg^{-1}) v sušině stélek lišejníků *Lasallia pustulata* a *Umbilicaria hirsuta* po 60 hodinách expozice v roztoku se zvyšující se koncentrací FLT.

Koncentrace FLT (mg.l^{-1})	Obsah FLT (mg.kg^{-1} sušiny)	
	<i>L. pustulata</i>	<i>U. hirsuta</i>
0.01	0.12	0.13
1	0.47	1.36
5	2.36	6.38

Hodnoty představují průměr 2 opakování.

ZÁVĚR

Změny v hodnotách parametrů fluorescence chlorofylu u symbiotických řas obou druhů lišejníků dokládají negativní vliv polycyklického aromatického uhlovodíku fluoranthenu na primární procesy fotosyntézy. Odezva lišejníků byla zaznamenána již po 48 hodinách expozice. Oba druhy lišejníků jsou schopné akumulovat FLT a bioindikovat jeho přítomnost v prostředí s rozdílnou mírou citlivosti.

LITERATURA

Bacci E., Calamari D., Gaggi C., Vighi M. (1990): Bioconcentration of organic chemical vapours in plant leaves. Experimental measurements and correlation. *Environmental Science & Technology*, 24: 885-889.

Branquinho C., Brown D.H., Máguas C., Catarino F. (1997): Lead (Pb) uptake and its effects on membrane integrity and chlorophyll fluorescence in different lichen species. *Environmental and Experimental Botany*, 37: 95-105.

Duxbury Ch.-L., Dixon D.G., Greenberg B.M. (1997): Effects of simulated solar radiation on the bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by the duckweed *Lemna gibba*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 8: 1739-1748.

Gries C. (1996): Lichens as indicators of air pollution. In *Lichen biology* (T.H. Nash III, ed): 240-254. Cambridge University Press.

Guidotti M., Stella D., Owczarek M., De Marco A., De Simone C. (2003): Lichens as polycyclic aromatic hydrocarbons bioaccumulators used in atmospheric pollution studies. *Journal of Chromatography A*, 985: 185-190.

Holoubek I. (2000): Persistent, bioaccumulative and toxic chemicals in Central and Eastern Europe - levels and risks. *Central European Journal of Public Health*, 2: 3-4.

Huang X.-D., Zeiler L.F., Dixon D.G., Greenberg B.M. (1996): Photoinduced toxicity of PAHs to the foliar regions of *Brassica napus* (canola) and *Cucumis sativus* (cucumber) in simulated solar radiation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 35: 190-197.

Huang X.-D., McConkey B.J., Babu T.S., Greenberg B.M. (1997): Mechanisms of photoinduced toxicity of photomodified anthracene to plants: Inhibition of photosynthesis in the aquatic higher plant *Lemna gibba* (duckweed). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 8: 1707-1715.

Kolb M., Harms H. (2000): Metabolism of fluoranthene in different plant cell cultures and intact plants. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19: 1304-1310.

Krause, G. H. and Weis, E. (1991) Chlorophyll fluorescence and photosynthesis. The basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42: 313-349.

Mallakin A., Babu T.S., Dixon D.G., Greenberg B.M. (2002): Sites of toxicity of specific photooxidation products of anthracene to higher plants: Inhibition of photosynthetic activity

and electron transport in *Lemna gibba* L. G-3 (Duckweed). Environmental Toxicology, 17: 462-471.

Marwood C.A., Solomon K.R., Greenberg B.M. (2001): Chlorophyll fluorescence as a bioindicator of effects on growth in aquatic macrophytes from mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons. Environmental Toxicology and Chemistry, 20: 890-898.

Roháček K., Barták M. (1999): Technique of the modulated chlorophyll fluorescence: basic concept, useful parameters, and some applications. Photosynthetica, 37: 339-363.

Simonich S.L., Hites R.A. (1995): Organic pollutant accumulation in vegetation. Environmental Science and Technology, 12: 2905-2914.

Tomaniová M., Hajšlová J., Pavelka J., Kocourek V., Holadová K., Klímová I. (1998): Microwave-assisted solvent extraction - a new method for isolation of polynuclear aromatic hydrocarbons from plants. Journal of Chromatography A, 827: 21-29.

Wilcke W., Krauss M., Amelung W. (2002): Carbon isotope signature of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): evidence for different sources in tropical and temperate environments? Environmental Science and Technology, 36: 3530-3535.

Xiao R.S., Ghosh A.R., Tanaka B.M., Greenberg B.M., Dumbroff E.B. (1996): A rapid spectrophotometric method for measuring photosystem I and photosystem II in a single sample. Plant Physiology and Biochemistry, 85: 411-417.