DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS

PÁLFFY KÁROLY

MOSONMAGYARÓVÁR 2010

NYUGAT-MAGYARORSZÁGI EGYETEM MEZŐGAZDASÁG- ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI KAR

"PRECÍZIÓS NÖVÉNYTERMESZTÉSI MÓDSZEREK" Alkalmazott Növénytudományi Doktori Iskola

MIKROSZERVEZETEK A NÖVÉNY-TALAJRENDSZERBEN Alprogram

Doktori iskola vezető: **DR. NEMÉNYI MIKLÓS** Intézetigazgató, egyetemi tanár, az MTA doktora, tudományos és külügyi rektorhelyettes

> PROGRAM- ÉS TÉMAVEZETŐ: DR. ÖRDÖG VINCE INTÉZETIGAZGATÓ, EGYETEMI TANÁR, BIOLÓGIAI TUDOMÁNYOK KANDIDÁTUSA

> > DR. VÖRÖS LAJOS TUDOMÁNYOS TANÁCSADÓ, MTA DOKTORA

AZ ULTRAIBOLYA SUGÁRZÁS HATÁSA MIKROALGÁK SZAPORODÁSÁRA, PIGMENTÖSSZETÉTELÉRE ÉS HORMONTARTALMÁRA

Készítette: PÁLFFY KÁROLY

MOSONMAGYARÓVÁR 2010

AZ ULTRAIBOLYA SUGÁRZÁS HATÁSA MIKROALGÁK SZAPORODÁSÁRA, PIGMENTÖSSZETÉTELÉRE ÉS HORMONTARTALMÁRA

Értekezés doktori (PhD) fokozat elnyerése érdekében

Írta: Pálffy Károly

Készült a Nyugat-Magyarországi Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar "Precíziós növénytermesztési módszerek" Alkalmazott Növénytudományi Doktori Iskola "Mikroszervezetek a növény-talajrendszerben" programja keretében. Témavezető: Dr. Ördög Vince Elfogadásra javaslom (igen/nem) (aláírás) A jelölt a doktori szigorlaton%-ot ért el, Mosonmagyaróvár, a Szigorlati Bizottság elnöke Az értekezést bírálóként elfogadásra javaslom (igen/nem) Első bíráló (Dr.) igen/nem (aláírás) Második bíráló (Dr.) igen/nem (aláírás) A jelölt az értekezés nyilvános vitáján%-ot ért el. Mosonmagyaróvár, a Bírálóbizottság elnöke A doktori (PhD) oklevél minősítése

Az EDT elnöke

"AZ ULTRAIBOLYA SUGÁRZÁS HATÁSA MIKROALGÁK SZAPORODÁSÁRA, PIGMENTÖSSZETÉTELÉRE ÉS HORMONTARTALMÁRA"

Kivonat

A szerző az ultraibolya sugárzás mikroalgákra kifejtett hatását vizsgálta in situ, majd laboratóriumi körülmények között. A Balaton vizében végzett kísérletek során célul tűzte ki, hogy természetes fényviszonyok között megvizsgálja, mennyiben járul hozzá az UV-A ill. UV-B sugárzás a fitoplankton primér produkciójának felszínközeli gátlásához, és miképpen változik mindez a vízoszlop különböző mélységeiben. Laboratóriumi munkájának első lépéseként az UV-A sugárzás szaporodásra és fotoszintetikus pigmenttartalomra gyakorolt hatását tanulmányozta Desmodesmus armatus zöldalga tenyészeteiben. Kutatását számos más zöldalga és cianobaktérium törzsre, valamit az UV-B tartomány hatásának vizsgálatára is kiterjesztette. Az így kapott szaporodási görbékből és pigment összetételekből a vizsgált fajok között változatos UV-rezisztenciát talált. Külön figyelmet fordított az UV-abszorbeáló tulajdonságokkal bíró vegyületek, elsősorban a mycosporine-szerű aminosavak (mycosporine-like MAA-k) kimutatására, valamint HPLC-vel történő amino acids. beazonosítására. Vizsgálatainak gyakorlati szempontból leglényegesebb szakaszában egy Chlorella sp. zöldalga szinkrontenyészet hormontartalmának és sejtnövekedésének időbeli változását, ill. annak ultraibolya sugárzás általi módosulását követte nyomon.

"EFFECT OF UV RADIATION ON THE GROWTH, PIGMENT AND HORMONE CONTENT OF MICROALGAE"

Summary

The author's study focused on the effect of solar UV radiation on microalgae under laboratory conditions following preliminary in situ experiments. Experiments conducted in Lake Balaton aimed at studying the contribution of UV-A and UV-B radiation to the near-surface inhibition of phytoplankton primary production under natural lighting conditions and its changes at different depths within the water column. Next, batch cultures of the freshwater green alga Desmodesmus armatus were exposed to UV-A radiation in order to determin its effect on growth and photosynthetic pigment content. This reseach was extended to several other species of Chlorophytes and cyanobacteria, and over examining the effect of the UV-B waveband as well. Growth curves and pigment profiles obtained from the experiments revealed diverse UV-resistance among the species studied. Attention was particularly laid on detecting and analyzing UV-absorbing mycosporine-like amino acids (MAAs) with HPLC. In terms of practical use, monitoring temporal changes and UV effects on hormone content and cell growth in the synchronous cultures of a Chlorella sp. strain comprised an essential part of the research.

TARTALOMJEGYZÉK

1.	BEVEZETŐ	6
2.	IRODALMI ÁTTEKINTÉS	9
	2.1. A napsugárzás spektrális összetétele	9
	2.2. Az "ózonlyuk" jelenség	. 10
	2.3. A napsugárzás extinkciója felszíni vizekben	. 12
	2.4. Az UV sugárzás algákra gyakorolt közvetlen hatásai	. 14
	2.4.1. A fotoszintézis gátlása 2.4.2. Szaporodásra gyakorolt UV-hatások 2.4.3. Az UV-rezisztencia fajspecifikus jellege 2.4.4. További közvetlen hatások 2.4.5. UV sugárzás okozta morfológiai változások	. 15 . 18 . 21 . 22 . 24
	2.5. Az UV sugárzás in situ hatásai	. 25
	2.5.1. Eltérő UV-A és UV-B hatások 2.5.2. Közösségi szintű UV-hatások	. 29 . 31
	2.6. Az ultraibolya sugárzás hatásait befolyásoló környezeti tényezők	. 34
	2.6.1. Változó fényviszonyok 2.6.2. Tápanyagellátottság 2.6.3. A hőmérséklet módosító hatása	. 34 . 37 . 38
	2.7. Az UV sugárzás hatásait ellensúlyozó mechanizmusok, védekezési stratégiák	. 40
	2.7.1. A fotoszintézis helyreállása 2.7.2. DNS javítás 2.7.3. Adaptálódás	. 42 . 43 . 44
	2.8. UV-abszorbeáló vegyületek	. 45
	 2.8.1. Scytonemin 2.8.2. Mycosporine-szerű aminosavak (MAA-k) 2.8.3. Az MAA-k szerepe az UV sugárzás elleni védelemben 2.8.4. Az MAA-k másodlagos funkciói 2.8.5. További UV-abszorbeáló vegyületek 	. 45 . 47 . 51 . 55 . 56
3.	CÉLKITŰZÉS	. 58
4.	ANYAG ÉS MÓDSZER	. 59
	4.1. A Balatonban végzett in situ kísérletek	. 59
	4.1.1. A ¹⁴ C-módszer 4.1.2. Az elsődleges termelés számítása 4.1.3. Klorofill-a tartalom meghatározása 4.1.4. Fénymérés	. 61 . 62 . 63 . 65

	4.2. Desmodesmus armatus zöldalga vizsgálata PAR és UV-A sugárzás függvényébe	en 67
	4.2.1. A kísérleti berendezés és a kísérlet menete 4.2.2. A szaporodás mérése 4.2.3. Az UV-A sugárzás okozta gátlás meghatározása 4.2.4. Abszorpciós spektrumok felvétele, karotinoid-tartalom meghatározása	67 69 70 71
	4.2.5. Algaszámlálás fordított planktonmikroszkóppal	72
	4.3. Laboratóriumi tenyészetekkel végzett vizsgálatok	73
	 4.3.1. UV-A és UV-B sugárzásnak kitett zöldalga és cianobaktérium tenyészetek szaporodásának és pigmenttartalmának vizsgálata 4.3.2. Mycosporine-szerű aminosavak (MAA-k) HPLC-s meghatározása 4.3.3. Az UV-A sugárzás Chlorella szinkrontenyészet szaporodására és hormon tartalmára gyakorolt hatásának vizsgálata 4.3.4. Chlorella szinkrontenyészetek növényi hormon tartalmának meghatározása 	73 79 81
	ELISA teszttel	83
_	4.5.5. Statisztikai szamítasok	00
5.		87
	5.1. In situ vizsgálatok a Balatonban	87
	5.1.1. Fénymérések 5.1.2. A balatoni fitoplankton fotoszintézise	87 87
	5.2. Az UV-A sugárzás Desmodesmus armatusra (Chlorophyceae) gyakorolt hatása.	93
	5.2.1. Szaporodás 5.2.2. Fotoszintetikus pigmenttartalomban végbemenő változások 5.2.3. Morfológiai változások	93 94 97
	5.3. Laboratóriumi zöldalga és cianobaktérium tenyészetekre kifejtett UV-hatások	100
	5.3.1. Szaporodás 5.3.2. Fotoszintetikus pigmenttartalomban végbemenő változások	100 107
	5.4. Mycosporine-szerű aminosavak (MAA-k) indukciója	110
	5.5. Az UV-A sugárzás hatása Chlorella sp. szinkrontenyészetre (MACC-458,	
	Chlorophyceae)	116
	5.5.1. Sejtnövekedés 5.5.2. Hormontartalom	116 124
6.	MEGBESZÉLÉS	129
	6.1. Balatoni fitoplankton elsődleges termelésére gyakorolt UV-hatások	129
	6.2. Desmodesmus armatus zöldalgában végbement UV-A sugárzás által indukált	
	változások	133
	6.3. Laboratóriumi zöldalga és cianobaktérium tenyészetek szaporodására kifejtett U	V-
	hatások	141

	6.4. Laboratóriumi zöldalga és cianobaktérium tenyészetek fotoszintetikus pigmentje	ire
	gyakorolt UV-hatások	143
	6.5. Az UV sugárzás hatása Klebsormidium sp. (MACC-426) pigmenttartalmára	144
	6.6. Az UV sugárzás hatása Chlorella törzsek sejtnövekedésére és hormontartalmára	147
7.	ÖSSZEFOGLALÁS	149
8.	ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	152
9.	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	154
10). IRODALOMJEGYZÉK	155
11	. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT TUDOMÁNYOS	
K	ÖZLEMÉNYEK	176

1. BEVEZETŐ

Napjaink antropogén eredetű, globális környezeti problémái a bioszféra egészére hatást gyakorolnak, közösségi és egyedi szinten egyaránt befolyásolhatják a benne zajló folyamatokat. Az ózonréteg 1970-es évektől tapasztalt elvékonyodása, melynek kialakulását a sztratoszférába kerülő klórozott szénhidrogének okozták, a Napból a földfelszínre érkező UV sugárzás intenzitásának növekedését eredményezte. Az un. "ózonlyuk" jelenség legnagyobb mértékben a sarkvidékek környékén érezteti hatását, de az ebből fakadó intenzitásnövekedés bizonyos mértékben gyakorlatilag minden földrajzi szélességen kimutatható. E változásban rejlő környezeti kockázat már felfedezésének idején is mélyreható kutatási programok elindítására ösztönözte korunk kutatóit.

A napsugárzás intenzitásának és összetételének változása, az elsősorban stressztényezőként jelentkező UV sugárzás arányának növekedése közvetlen vagy közvetett módon minden élőlényre, életközösségre hat, ezáltal potenciális következményeinek felmérése, megítélése összetett, bonyolult feladat. A témában folytatott kísérletek behatároltak, általában egy adott területre, adott élőlénycsoportokra, és nem utolsó sorban adott körülményekre vonatkoznak. Ebből kifolyólag célszerű elválasztani a jelenséggel járó változások általános ismérveit, melyek a különböző kísérleti eredmények összevetéséből, összegzéséből adódnak, azoktól a hatásoktól, amelyek elsősorban egy-egy jellegzetes földrajzi helyen, egy bizonyos taxonómiai csoportra vagy életközösségre jellemzők. Az elsődleges termelők vizsgálata e vonatkozásban kiemelt figyelmet érdemel, hiszen azon túlmenően, hogy a táplálékhálón keresztül biomasszájuk változása a többi trofikus szintre is kihat, fotoszintézisükre

közvetlen hatást gyakorol a napsugárzás intenzitása, mely a szénmegkötésen keresztül a szén globális körforgására is befolyással bír.

Számba véve a különböző szerveződési szintű fotoszintetikus élőlényeket megállapíthatjuk, hogy a legősibb és egyben legegyszerűbb felépítésű organizmusokat magukba foglaló algák UV sugárzás tekintetében több okból is egyedi csoportnak számítanak. Ökológiai szempontból nézve, vízi környezetben a legfontosabb elsődleges termelők, kimondottan nyílt vízen, ahol a planktonikus algák az egyedüli fotoszintetikus szervezetek. Szintén érdemes leszögezni, hogy az óceánok fitoplanktonjának jelentősége több szempontból is globális mértékű, a légköri oxigén tekintélyes hányada fotoszintézisük révén termelődik. További szembeötlő sajátosságuk, hogy bizonyos képviselőik rendkívül szélsőséges, gyakran erős napsugárzásnak kitett élőhelyeken (pl. sziklák, sivatag felszínén) is előfordulnak. Ennek megfelelően az elmúlt mintegy két évtizedben számtalan kutatást végeztek, és végeznek ma is a témában. A kutatások egy része in situ körülmények között folyik, melyek elsősorban közösségi szintű hatások és válaszreakciók feltárására irányulnak, azonban a befolyásoló környezeti tényezők összetettsége miatt a kapott eredmények értelmezése nem egyszerű feladat. Ezen oknál fogva egyre több kísérletet végeznek laboratóriumi törzstenyészetekkel, ahol már szabályozott körülmények között tanulmányozhatók az UV sugárzás által kifejtett fiziológiai, biokémiai hatások. Ilven esetekben ugyanakkor felmerül a kérdés, hogy a beállított kísérleti körülmények milyen mértékben egyeznek meg a természetben tapasztalható állapottal. Feltételezhető, hogy az életközösségeket érő UV sugárzás által kiváltott változások egyértelmű megismeréséhez mindkét megközelítés alkalmazására szükség van. Sokrétűségüktől eltekintve, az eredményekből nagy általánosságban leszűrhető, hogy sejtszinten az UV

sugárzás fokozódásának következményei algákra nézve túlnyomórészt károsak, elsősorban fotoszintézisüket és szaporodásukat érik negatív hatások. Ugyanakkor a káros hatásokra adott válaszreakciók formájában számos védekezési mechanizmus létezik, melyek változó előfordulásából és hatékonyságából következően az egyes fajok, vagy akár törzsek közötti UV-rezisztenciabeli különbségek széles skálán mozoghatnak.

Az eddigi kutatások sok esetben tengeri környezetben, sarkvidéki, trópusi, illetve olyan élőhelyeken történtek, ahol a szélsőséges körülmények állandó stresszt jelentenek az ott megtelepedő algaközösségek számára. A mérsékelt égövön, édesvízben folytatott kísérletek száma jóval kevesebb, holott az itt előforduló közösségeket érő UV-hatások hasonlóképpen és részleteiben összetettek nem ismertek. Az ökológiai problémafelvetéseken túlmenően, a sugárzásviszonyok változása közvetve az algák ipari felhasználása szempontjából is hátrányos helyzetet teremthet, ugyanis számos tengeri makroalga fajból, illetve planktonikus édesvízi algából különböző termékeket állítanak elő elsősorban a kozmetikaipar és a mezőgazdaság számára. Makroalgákat e célból kivétel nélkül természetes körülmények között gyűjtenek, és a mikroalgák esetében is gyakran a laboratóriumi tenyésztésnél olcsóbb, nyitott medencékben, tavakban történik a tenyésztés. Ilyen esetekben az UV sugárzás változása az előállított termékek mennyiségi és minőségi jellemzőire, következésképp gazdasági értékére is kihathat.

Figyelembe véve a felvázolt környezeti probléma jellegzetességeit és hatásait, munkámmal a témában folyó eddigi kutatásokhoz kívántam hozzájárulni, elsősorban a hazai ökológiai viszonyok és néhány potenciálisan érintett biotechnológiai alkalmazás vonatkozásában.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A napsugárzás spektrális összetétele

A Napból a Földre érkező, a fotoszintetikus élet alapját képező elektromágneses sugárzás intenzitása és spektrális eloszlása a Nap emissziós jellemzőinek és távolságának a függvénye. Az atmoszféra felső határának a sugárzás haladási irányára merőleges egységnyi felületén időegység alatt áthaladó napsugárzásnak a teljes hullámhossztartományra integrált energiája közepes Nap-Föld távolságra vonatkoztatva a napállandó, melynek átlagos értéke 1360 W·m⁻². A Napból emittált energia spektrális eloszlásának jellegzetes alakja van, a rövidebb hullámhosszaktól meredeken nő, majd mintegy 480 nm-en elérve maximumát a nagyobb hullámhosszak felé fokozatosan mérséklődő csökkenést mutat. Az atmoszférán történő áthaladáskor a napsugárzás intenzitása jelentős mértékben csökken. Ez a csökkenés részben a gázmolekulák és az aeroszol részecskék fényszórásának, részben a víz, az oxigén, az ózon és a széndioxid abszorpciójának tulajdonítható. A szoláris fluxus veszteségének aránya a csökkenő napmagassággal nő, a napsugárzás atmoszférában megtett úthossz-növekedésének megfelelően. A fényszórási és fényelnyelési folyamatok nemcsak a sugárzás intenzitásának csökkenésében nyilvánulnak meg, hanem a spektrális eloszlás megváltozásában is (KIRK, 1994a).

A napsugárzás 400-tól 700 nm-ig terjedő hullámhossztartománya az un. fotoszintetikusan aktív sugárzás (PAR, photosynthetically active radiation), melyet az autotróf szervezetek fotoszintetikus apparátusukon keresztül hasznosítani képesek. 400 nm alatt található az ultraibolya sugárzás (UV, ultraviolet radiation) tartománya, melynek fluxusa az atmoszférában egyrészt a fényszórás, másrészt az ózon abszorpciója által csökken. Az UV

sugárzás további három komponensre bontható. A 200 és 280 nm közötti UV-C sugárzást a sztratoszférában 8-18 km-től mintegy 50 km-es magasságig húzódó ózonréteg teljes egészében elnyeli, így nem képezi részét a Föld felszínén mérhető napsugárzásnak. A 280-tól 320 nm-ig tartó UV-B sugárzás túlnyomó részét szintén az ózonréteg nyeli el, de bizonyos hányada még így is eléri a földfelszínt. A nagyobb hullámhosszakra eső UV-A sugárzást (320-400nm) az ózonréteg csak elenyésző mértékben abszorbeálja, így az ebbe a tartományba eső fluxus nagy része már eljut a földfelszínig. A napsugárzás intenzitása nagyban függ a földrajzi elhelyezkedéstől, hiszen a növekvő földrajzi szélességgel nő az atmoszférában megtett út hossza, ezáltal pedig csökken a felszínre érkező sugárzás fluxusa. Ezzel párhuzamosan csökken a felszínt érő UV sugárzás intenzitása is, vagyis a legnagyobb fluxus a trópusi és a magashegységi területeket éri, mivel a légkörön keresztül megtett út ilyen esetekben a legrövidebb.

2.2. Az "ózonlyuk" jelenség

Az ultraibolya sugárzás káros biológiai hatása a rövidebb hullámhosszak felé nő, ezért az ózonréteg létfontosságú a földi élet szempontjából. Az ózonréteg elvékonyodására az 1980-as évek elején figyeltek fel, amikor is az Antarktisz fölött az ózon koncentrációjában a korábbi adatokhoz képest jelentős csökkenést tapasztaltak. Az ózonlyuknak nevezett jelenség az Antarktisz fölött azóta minden évben megjelenik az antarktikus tavasz (szeptember-november) idején, mely során az ózon mennyisége ideiglenesen akár 60%-kal is lecsökkenhet (WMO, 1998). Az utóbbi mintegy két évtized során, tél végén és tavasszal az Északisarkvidéken szintén megfigyelték a jelenséget, továbbá közepes földrajzi szélességeken is kismértékű csökkenést tapasztaltak. Az ózonréteg

elvékonyodása egy katalitikus láncreakció eredménye, antropogén eredetű vegyületek, halogénezett szénhidrogének okozzák. E molekulák a sztratoszférába jutva fotolitikus bomláson mennek keresztül, az így keletkező klór gyökök pedig az ózon bomlását idézik elő (MOLINA és ROWLAND, 1974). A vékonyodó ózonréteg folyományaként megnőtt felszíni UV-B sugárzást számos esetben, a Föld több pontján is kimutatták (BLUMTHALER és AMBACH, 1990; CRUTZEN, 1992; KERR és MCELROY, 1993). Ugyanakkor el kell ismerni, hogy az ózonréteg nem egyedüli tényezője a felszínre érkező UV-B sugárzás intenzitásának. A troposzféra ózonkoncentrációja, a felhőzet, az aeroszol részecskék és egyes gázok, mint a nitrogéndioxid és a kéndioxid szintén szerepet játszanak benne (MADRONICH, 1993). Minthogy az UV-A és PAR sugárzás sávjában az ózon nem abszorbeál, az ózonréteg elvékonyodása egyben az egyes hullámhossztartományok fluxusának arányeltolódását is maga után vonja.

Az UV-B intenzitásnövekedéséből kifolyólag egyre nagyobb UVstressz érheti a szárazföldi és vízi élőlényeket egyaránt, és az ökoszisztémákra kifejtett potenciális negatív hatás is számottevő következményekkel járhat. Mindez az ultraibolya sugárzás biológiai hatásának mélyrehatóbb tanulmányozására ösztönözte korunk kutatóit. Az UV sugárzás hatásának vizsgálatára már számos élőlény esetében sor került, melyek közül vízi környezetben az algák, mint elsődleges termelők kiemelkedő fontosságúak. A hatások megítélésekor érdemes figyelembe venni, hogy az élet ózonréteg nélkül alakult ki a Földön, annak képződése csak a fotoszintézis és az általa kialakult oxidatív légkör kifejlődése után ment végbe.

2.3. A napsugárzás extinkciója felszíni vizekben

Az abszorpció (fényelnyelés) és a fényszórás jelenségéből adódóan egyértelmű, hogy felszíni vizekben a növekvő vízmélységgel csökken a sugárzás fluxusa. A napsugárzás transzmissziója, vagyis a fényáteresztő képesség tekintetében a felszíni vizek nagymértékű változatosságot mutatnak. Eltekintve a vízfelszínről visszavert kis mennyiségű sugárzástól, a napfény extinkciója (kioltódása) a víztestben abszorpció útján történik, bár adott mélységen belül a fényelnyelés mértékét nagyban fokozhatja a fényszórás. A víz fényelnyelésén túl az oldott szerves anyag (DOM, dissolved organic matter), a lebegőanyag és maga a fitoplankton is fontos abszorbeáló tényezők lehetnek (KIRK, 1994*a*). Az oldott szerves anyag nagy részét a huminvegyületek alkotják, melyek édesvízben főleg a szárazföldi növények elhalt szövetének bomlásából származnak, szemben a nyílt óceánnal, ahol a fitoplankton lebomlása lehet e vegyületek fő forrása. A huminanyagok fényelnyelési karakterisztikája döntő jelentőségű az UV sugárzás intenzitásának alakulásában. Abszorpciójuk a vörös fény hullámhossztartományában mérhető alacsony értékektől a hullámhossz csökkenésével exponenciálisan emelkedik. A második tényezőként jelenlévő lebegőanyagot ülepedőképes illetve kolloid méretű részecskék alkotják. A talajból erózió útján a vízbe mosódó, vagy az üledékből felkavart kolloid szemcsék felületén adszorbeált oldhatatlan szerves abszorpciós spektruma nagyjából hasonló az huminanyag oldott huminvegyületekéhez. Így zavaros vizekben a lebegő huminanyag az oldottnál nagyobb fényelnyelést eredményezhet. A fényelnyelés harmadik fontos komponensét, a fitoplanktont képező algák az ultraibolya tartományban, főleg az UV-B-ben erősen abszorbeálnak. Ezért fontossá válhat az önárnyékolás, a felszínhez közelebb lévő sejtek fényelnyelése UV-

B-vel szemben bizonyos védelmet nyújt a mélyebben elhelyezkedő sejtek számára. Számos tóban a fitoplankton UV-B abszorpcióból való részesedése általában kicsi a huminanyagokéhoz képest, ugyanakkor a tengerek vizében a huminanyagok alacsony koncentrációja miatt ez a részesedés jóval nagyobb lehet. Nagy fitoplankton biomassza esetén annak elbomlása növeli a huminanyagok mennyiségét, tehát az abszorpció két összetevője között szoros kapcsolat is előfordulhat.

Az extinkció a szoláris spektrum különböző tartományai esetében eltérő mértékű. Ennek köszönhetően a napsugárzás spektrális összetétele a mélységgel változik. Míg a tengerekben általában a vörös fény extinckiója a legnagyobb, addig a tavak többségéban a kék fény nyelődik el a legerősebben. Mint azt a legkülönfélébb természetes vizekben végzett vizsgálatok eredményei mutatják, ultraibolya tartományban a sugárzás extinkciója a rövidebb hullámhosszak felé nő, vagyis a vízoszlopba hatoló napsugárzás UV-B komponense oltódik ki a legkisebb mélységben, ezt követi az UV-A, a legmélyebbre pedig a PAR sugárzás hatol (pl. MORRIS et al., 1995; VILLAFAÑE et al., 1999; ZIEGLER és BENNER, 2000).

A vízfelszínre érkező UV-B sugárzás egy része visszaverődik, de dél tájban, maximális napmagasság mellett ez csupán 2-3%-ot tesz ki (KIRK, 1994*b*), a felszínre érkező UV-B túlnyomórészt áthatol a levegő-víz határfelületen. Az UV-B sugárzás extinkciójában SCULLY és LEAN (1994) szerint fontos szerepet játszik az oldott szerves szén (DOC, dissolved organic carbon) koncentrációja, ugyanakkor a klorofill-a és a lebegőanyag jóval kisebb jelentőségű e tekintetben. Ezzel szemben SMITH et al. (1999) az észak-amerikai Erie-tóban végzett vizsgálatai alapján megállapította, hogy az ultraibolya sugárzás extinkciójában a lebegőanyag dominál, melyben a fényszórás is fontos szerepet játszhat. Hegyvidéki tavakban kevés az oldott

szerves szén, ezért ezekben a vizekben a tengerekhez hasonlóan a fitoplankton lebegőanyagként vagy a kromofor oldott szerves anyag (CDOM, chromophoric dissolved organic matter) forrásaként nagymértékben hozzájárul az UV sugárzás extinkciójához. Ilyen esetekben a CDOM-pool dinamikája és a fitoplankton produkciója erősen befolyásolja az UV extinkció időbeli változását (LAURION et al., 2000). MORRIS és HARGREAVES (1997) szerint bizonyos tavaknál az epilimnion átlátszósága UV sugárzás szempontjából szezonális változékonyságot mutat. Az epilimnionban az UV extinkciós koefficiens esetleges csökkenése összefüggésben van az oldott anyag abszorpciójának csökkenésével, melyet egyrészt a DOC koncentráció, másrészt a DOC-specifikus UV-abszorpciós kapacitás csökkenése okoz. Az UV sugárzás alapvető szerepet vállal a DOC fotodegradációjában, ami az epilimnion UV-átereszető képességének növekedését eredményezi. Az oldott UV-abszorbeáló anyagok fotokémiai degradációja így szinergikusan fokozhatja a sugárzáshoz kapcsolódó szezonális változékonyságot.

2.4. Az UV sugárzás algákra gyakorolt közvetlen hatásai

Fotoszintetikus szervezeteknél a napsugárzás intenzitásában és spektrális összetételében fellépő változások számtalan aspektusban éreztethetik hatásukat, melyek közül algológiai vonatkozásban leggyakrabban a fotoszintézis és a szaporodás változása áll a vizsgálódás középpontjában. Ultraibolya sugárzás tekintetében a téma széleskörű kutatásnak örvend, számtalan faj és életközösség esetében kivizsgálásra került.

2.4.1. A fotoszintézis gátlása

A fotoinhibíciónak, azaz a fotoszintézis fénygátlásának elsődleges célpontja a PSII fotokémiai rendszer. A folyamat során az elnyelt fotonok száma és fotoszintetikus hasznosításuk közötti egyensúly megbomlik. Ilyenkor az autotróf szervezet által elnyelt többlet energia káros folyamatokat válthat ki. A PSII sérülékenységének alapját képező molekuláris folyamatok a fotokémiai rendszer azon egyedi tulajdonságából adódnak, amely révén képes a víz bontásához szükséges erős oxidáló vegyületek előállítására. A fény által indukált károsodás kétféle lehet, akceptor illetve donor oldali fotoinhibícióról beszélhetünk. Mindkét mechanizmus általános jellemzője, hogy a káros fotokémiai folyamatok következtében módosul reakciócentrum a fehérje (D1 fehérje) konformációja, ami annak proteolitikus degradációját váltja ki (ANDERSSON és BARBER, 1996).

UV-B sugárzással szemben a PSII fotokémiai rendszer rendkívül érzékeny, elsősorban a D1 fehérje UV-B abszorbeáló komponensein keresztül. A PSII donor oldalán a vízbontás reakciójának UV-B okozta gátlása sok esetben kimutatásra került, az akceptor oldal módosulása pedig a kinon kötési helyek aktivitásának és számának változását vonja maga után (TERAMURA és ZISKA, 1996).

A molekulák szintjén keletkező gátlás sejtszinten a fotoszintézis hatékonyságának csökkenéséhez vezet. Így például egy *Anabaena* cianobaktérium törzs vizsgálata során azt találták, hogy UV sugárzásnak kitett tenyészetekben jelentős a fotoinhibíció, mely az inkubáció kezdeti szakaszában az effektív fotoszintetikus kvantum hozam nagymértékű csökkenésében nyilvánul meg (HAN et al., 2003*c*). Az UV-kezelést követően a kvantum hozam viszonylag gyorsan helyreáll, mely a PSII

reverzibilis károsodására utal. A megfigyelt jelenség azt is jelzi, hogy a sejtek dinamikus fénygátláson mennek keresztül, mely az erős PAR sugárzás hatását ellensúlyozó, az UV sugárzás jelenlététől független védekező mechanizmus. Planktonikus algák mellett bentikus kovaalgáknál is kimutatták, hogy az UV-B sugárzás intenzitásának növekedése az elsődleges termelés szignifikáns csökkenésével járhat (WULFF et al., 2000).

A fotoszintézis UV-B sugárzás okozta gátlása makroalgáknál is sok esetben bebizonyosodott (pl. CORDI et al., 1997). Antarktikus makroalgáknál arra a megállapításra jutottak, hogy a fotoszintézis felszínhez közeli gátlását elsősorban a látható fény okozza, az UV sugárzás pedig a fotoszintézis délutáni, esti helyreállásának folyamatában okoz késést (HANELT et al., 1997). Gracilaria chilensis (Rhodophyta) tengeri makroalgában szintén nagyobb fotoszintetikus gátlást és lassabb helyreállást tapasztaltak UV-B sugárzás jelenlétében, mely feltételezhetően az élőhelyére jellemző alacsony fényintenzitáshoz való alkalmazkodásnak köszönhető (GÓMEZ et al., 2005). FLORES-MOYA et al. (1999) kutatásai szerint számtalan gátlást okozó hatása mellett az UV-B sugárzás bizonyos estekben a helyreállás folyamatát is fokozhatja. А tanulmányozott Dictyota dichotoma barnaalga fotoszintézisének délben tapasztalt gátlása a délutáni órákban csak akkor szűnt meg, amikor a telepek vagy csak látható fény, vagy teljes spektrumú napsugárzás alatt voltak inkubálva. Ha a kezelés során az UV tartományból csak az UV-B tartományt szűrték ki, a fotoszintézis helyreállása jóval alacsonyabb volt. E hatás mögött rejlő fiziológiai mechanizmusok jelenleg nem ismertek, de felmerül a kérdés, miszerint erős fényhez adaptálódott algákban káros mértékű sugárzás mellett az UV-B esetleg egyfajta szignálként működhet a javítási folyamatok indukálásában.

A fotoszintézis kvantitatív jellemzőin túl a megkötött szén allokációja módosulhat az ultraibolya sugárzás intenzitásának változása is következtében. Bentikus kovaalgáknál a természeteshez képest 15%-kal megnövelt intenzitású UV-B sugárzás mellett csökkent egyes szénhidrát frakciók (kolloidális szénhidrátok, glukán, exopolimerek) mennyisége, melyek nagyban befolyásolhatják a biomassza alakulását, valamint a fotoszintézissel és a mozgóképességgel is kapcsolatban állhatnak (UNDERWOOD et al., 1999). Megfelelő tápanyag ellátottság mellett, UV-B hatására az általános csökkenésen túl a szénhidrát frakciók egymáshoz viszonyított aránya is megváltozhat, így például a glukán relatív mennyisége szignifikánsan nagyobb értéket mutat. Ezen túlmenően UV-B mellett megnőhet a fehérjékbe allokálódó szén százalékos aránya is, ami azt jelzi, hogy a szén-dioxid fixálás csökkenésével egy időben a megkötött szén nagyobb arányban használódik fel a sejt növekedésére (WULFF et al., 2000). Hasonlót figyeltek meg a sejtek szénhidrát anyagcseréje és összetétele vonatkozásában is. UV sugárzás jelenlétében tengeri fitoplanktonban a lecsökkent fotoszintézis mellett csökkenhet a sejtek szénhidrát tartalma, de a különböző frakciók arányai is módosulnak (GOES et al., 1996). Így a raktározó szénhidrát frakció neutrális monoszacharid összetevőinek bioszintézise és "pool" mérete határozottan csökken, míg a sejtfalhoz kapcsolódó monoszacharidoké, az un. strukturális szénhidrátoké nő. Az összszénhidrát tartalom csökkenését nagyrészt az előbbi csoportban végbemenő változás okozta, melyen belül a glükóz szintézis visszaesése volt az egyik legszembeszökőbb jelenség. SKERRATT et al. (1998) a lipidtartalom alakulását kísérte figyelemmel antarktikus környezetből izolált planktonikus fajokban. Alacsony UV-B intenzitás mellett a vizsgált kovaalgákban szignifikáns változás nem ment végbe a kontrollhoz képest. Ugyanakkor a

Haptophyta *Phaeocystis antarctica*-ban csökkent a tartalék és nőtt a strukturális lipidek mennyisége, mely a sejt növekedésének és anyagcseréjének fokozását jelzi, továbbá nagyobb arányban tartalmazott többszörösen telítetlen zsírsavakat. A fajspecifikus hatás az intenzitás növelésével szembeötlőbbé vált. A kovaalgák celluláris lipidtartalma fajtól függően nőtt vagy csökkent, a Haptophyta fajban pedig a fejlődési stádium függvényében eltérő hatásokat, érzékenységet tapasztaltak. Nevezetesen, a megnőtt összlipid, triacil-glicerol és szabad zsírsav koncentráció a koloniális alakkal kapcsolható össze, ezzel szemben a flagellátás alak erős UV-B sugárzás alatt elpusztul.

2.4.2. Szaporodásra gyakorolt UV-hatások

Az osztódást és biomassza gyarapodást magába foglaló szaporodás és növekedés a sejten belül zajló biokémiai folyamatok összességének eredménye, így az UV sugárzás közvetlen és közvetett módon is befolyásolhatja. Fontos szempont megállapítani a fotoszintézist és a szaporodást érő hatások mennyiségi és minőségi jellemzőit, ill. a köztük összefüggéseket. fennálló esetleges Selenastrum capricornutum (Chlorophyta) viszonylag alacsony intenzitású fényviszonyok közti kezelésekor például a szaporodási ráta a fotoszintézis aktivitásánál határozottan érzékenyebb UV-stressz mutatónak bizonyult (WEST et al., 2003). Ettől eltérően CORDI et al. (1997) úgy véli, hogy a klorofill fluoreszcenciából meghatározható fotoszintetikus hatékonyság, valamint az in vivo abszorpció változása makroalgáknál biomarkerként szolgálhatna az UV-B káros hatásainak kvantitatív előrejelzésére.

Egy Antarktiszról izolált *Phormidium murrayi* cianobaktérium törzs esetében azt találták, hogy szaporodása UV sugárzás jelenlétében csökkenést mutat, az alkalmazott UV-B sugárzás azonban UV-A-hoz

¹⁸

viszonyítva kilencszer nagyobb mértékű gátlást okoz (QUESADA et al., 1995). Az UV-B által kiváltott csökkenés ugyanakkor erősen függött az UV-B/UV-A aránytól. A megnövelt UV-A sugárzással egyenes arányban a szaporodási ráta is nőtt, mely alátámasztja azon nézetet, mely szerint az UV-B okozta gátlás mértéke a különböző hullámhossz tartományok által előidézett károsodási és javítási folyamatok közötti egyensúly függvénye. Bentikus kovaalgák vizsgálata során a természetesnél 15%-kal nagyobb intenzitású UV-B sugárzás a beinduló védekezési válaszreakciók (vertikális migráció, megnövelt β -karotin koncentráció) ellenére szignifikáns csökkenést eredményezett mind a fotoszintetikus aktivitás, mind a sejtszám tekintetében (UNDERWOOD et al., 1999). Az UV-A szaporodást befolyásoló jellege elég változatos képet mutat a kapcsolódó irodalom alapján, a sótűrő *Dunaliella bardawil* szaporodására nincs káros hatással (JAHNKE, 1999).

Bizonyos makroalgák növekedése érzékeny és megbízható biológiai UV-B indikátornak tekinthető. A Delesseria sanguinea vörös makroalga növekedése például teljes spektrumú napsugárzás alatt akár 50%-kal is alacsonyabb lehet az UV-mentes környezetben mérhetőhöz képest, ezzel szemben UV-B sugárzás hiányában a csökkenés elenyésző mértékű (PANG et al., 2001). Az UV besugárzás időtartama és intenzitása a növekedés helyreállásának folyamatát is befolyásolta. Szükséges azonban megjegyezni, hogy a kísérletek során a napsugárzás intenzitását semleges szűrőkkel 11-19%-ra csökkentették, a hullámhossztartományok így eltolódott arányai pedig módosíthatják a válaszreakciók lefolyását. Ulva pertusa (Chlorophyta) makroalgában a thallus különböző részei között határozott rezisztenciabeli eltéréseket találtak: a marginális részek UV-B-vel szemben érzékenyebbek a bazális részhez képest (HAN et al., 2003a). Nagy intenzitású UV sugárzás alkalmazása a növekedés gátlását okozta,

ugyanakkor 20-40 perces időtartamú 1,0 W·m⁻²-es UV-B kezelés a kontrollhoz képest 18-21%-kal növelte az alga méretét (HAN et al., 2003*b*). Az UV-B intenzitás növelésével csökkent a spóraképzés előfordulásának gyakorisága, azonban a gátlás erősebb látható fény hatására jelentősen kisebb volt, melyből úgy tűnik, hogy a károsodás mértékének vonatkozásában a PAR sugárzás is szerepet játszik. *In situ* körülmények között az UV-B spóraképzésre kifejtett negatív hatása nem valószínű, mivel 1 m-es vízmélységtől az 50%-os gátlás kialakulásához szükséges idő túl hosszú ahhoz, hogy kárt okozzon a spóraképzési folyamatokban. A vizsgált faj intenzív UV-B sugárzásnak kitett területeken való ökológiai sikere így részben azzal magyarázható, hogy a látható fény által indukált önjavítási rendszernek, valamint a fajra jellemző szőnyegképzésnek köszönhetően képes ellenállni vagy akár hasznosítani is a vízben és az egymást árnyékoló telepeken keresztül lecsökkent intenzitású UV sugárzást.

Minden élő szervezetet érintő, UV sugárzás által kiváltott, biológiai kockázatot jelentő hatás a DNS károsodása, mely során a kettős hélixben egymáshoz közel elhelyezkedő pirimidin bázisok ciklobután gyűrű kialakításával kovalens kötést létesítenek. A termékként keletkező ciklobután-pirimidin dimerek (CPD-k) akadályozzák az adott DNS-szakasz replikációját ill. a génexpressziót. UV-érzékeny makroszkópikus vörösalgákban felszíni UV-B sugárzás mellett a DNS-károsodás akkumulációja tapasztalható, míg a fotoinhibíció nem haladja meg az ellenállóbb fajokra jellemző mértéket. Ebből feltételezhető, hogy az érzékeny fajok esetében fellépő teljes szaporodásgátlás egyedül a sérült DNS szegmensek felhalmozódásának a következménye (VAN DE POLL et al., 2001).

2.4.3. Az UV-rezisztencia fajspecifikus jellege

Megannyi abiotikus környezeti tényezőhöz hasonlóan az ultraibolya sugárzás esetében is említést érdemel a fajspecifikus jelleg. Egyazon nemzetség fajai is rendkívül különböző módon reagálhatnak (pl. DÖHLER és LOHMANN, 1995; ARÁOZ et al., 1998), és a különbség gyakran az élőhelyekre jellemző eltérő fényviszonyokra vezethető vissza. Az esetlegesen előforduló fajon belüli eltérések elsősorban mutációk eredményei. Ugyanakkor feltételezhető, hogy egyes fajok életciklusuk különböző stádiumaiban eltérő UV-rezisztenciával bírnak. Így például a Phaeophyta divízióba tartozó *Ectocarpus rhodochondroides* esetében azt találták, hogy míg a spórák érését az UV-B sugárzás jelentősen gátolja, addig a sporofiton telepek képesek az UV-B-stresszhez bizonyos fokig adaptálódni (SANTAS et al., 1998).

Az UV-B sugárzással szembeni rezisztencia kompetitív előnyt is jelenthet. Egyazon élőhelyen előforduló vörös makroalgák esetében bebizonyosodott, hogy egy a napsugárzásnak jobban kitett, felső intertidális zónában előforduló faj fotoszintetikus reakciói alapján ellenállóbb UV-Bvel szemben, továbbá jelentősen több UV sugárzás elnyelésére képes vegyületet tartalmaz eltérő összetételben, mint egy mélyebb rétegekbe kényszerülő faj (BISCHOF et al., 2000). Ezzel szemben két arktikus vörös makroalgánál azt találták, hogy az UV sugárzás mindkét fajban megnöveli az UV-abszorbeáló vegyületek szintézisét és akkumulációját, azonban az így megnőtt koncentráció csak az egyiknél vált ki nagyobb fotoszintetikus toleranciát (KARSTEN et al., 2003). Ez azt jelenti, hogy a megnyilvánuló fajspecifikus fiziológiai előnyök nem minden esetben tulajdoníthatók pusztán az UV-abszorbeáló vegyületek jelenlétének. A két faj reakciói közötti különbségek vertikális előfordulásukat is meghatározzák. A nagyobb

fotoinhibícióval terhelt, kisebb akklimatizációs potenciállal rendelkező faj a mélyebb vízrétegeket részesíti előnyben, ami viszonylag alacsony fiziológiai plaszticitásra utal. Hasonló érzékenységbeli különbségek más fajoknál is előfordulnak, így például az intertidális *Enteromorpha intestinalis* (Chlorophyta) az ugyanazon élőhelyen élő szublitorális *Palmaria palmata*hoz (Rhodophyta) képest nagyobb toleranciával rendelkezik UV-B-vel szemben (CORDI et al., 1997). Ugyanerre az következtetésre jutottak HANELT és munkatársai (1997) is antarktikus makroalgáknál.

2.4.4. További közvetlen hatások

Laboratóriumi kísérletekben több ízben is megállapításra került, hogy az UV sugárzás algákban és magasabb rendű növényekben egyaránt oxidatív stresszt válthat ki. HIDEG és VASS (1996) lóbab leveleiben és spenótból izolált tilakoid membránokban UV-B hatására szabad gyökök keletkezését figyelte meg, eltérően az erős PAR sugárzás okozta károsodástól, melyre elsősorban szinglet oxigén képződése jellemző. Hasonló folyamatok algákban és cianobaktériumokban is előfordulnak, egy *Anabaena* fajban UV-B kezelés hatására reaktív oxigén gyökök képződése volt megfigyelhető (HE és HÄDER, 2002). Egy planktonikus kovaalgában az alkalmazott UV-A és UV-B sugárzás egyaránt reaktív oxigén gyökök termelődését, és az általuk okozott lipid peroxidáció fokozódását eredményezte (RIJSTENBIL, 2002).

A különböző anyagcsere folyamatokon keresztül a sejtek tápanyag gazdálkodását is érhetik UV sugárzás okozta hatások. Makroalgáknál bebizonyosodott, hogy az ammónium-N felvétele UV-B sugárzás hatására csökken, ugyanakkor az UV-A sugárzás egyes fajoknál növekedést, míg másoknál az UV-B-nél nagyobb mértékű csökkenést okozhat (DöHLER et al., 1995). A nitrogén anyagcsere részét képező aminosav szintézist szintén

²²

jelentős UV-hatás érte. A felvett nitrogén aminosavakba való beépülése és az aminosav pool-ok méretének mintázata nagymértékű változatosságot mutatott a vizsgált faj és az alkalmazott hullámhossz tartomány függvényében. A sugárzás a sejtek foszfortartalmára is bizonyos mértékű befolyással bírhat, egyes fitoplankton közösségekben UV sugárzás hatására csökkent a szeszton C:P aránya (XENOPOULOS et al., 2002). A szaporodásban és a C:P arányban ily módon bekövetkező változások maguk után vonhatják a táplálékháló dinamikájának módosulását is.

Fotoszintetikus szervezetek pigmentjeinek abszolút és relatív mennyisége egyaránt függ a napsugárzás intenzitásától és spektrális összetételétől. Egy HAN et al. (2003c) által vizsgált Anabaena fajban az alkalmazott UV sugárzás pigment csoportonként más-más hatást váltott ki: míg a klorofill-a koncentráció változatlan maradt, a karotinoidok koncentrációja megnőtt, továbbá jelentős mértékben csökkent a fikocianin/klorofill-a arány. Hasonló irányú változások következtek be a cianobaktérium szőnyeget képező, sarkvidéki Phormidium murrayi karotinoid/ klorofill-a ill. fikocianin/klorofill-a arányában is (QUESADA et al., 1995). Ennél mélyrehatóbb eredményre jutottak egy Synechocystis törzs esetében (RINALDUCCI et al., 2006). Mérsékelt UV-B-vel történt besugárzás a biliproteinek eltérő sebességű szétbomlását eredményezte: a β-fikocianint érő károsodás az α-fikocianinhoz ill. α- és β-allofikocianinhoz képest gyorsabban végbement. A károsodás során az UV-B fő támadási pontját jelentő bilin kromofor szerkezeti változásokon megy keresztül, mely reakcióba lép a légköri oxigénnel. Az így képződő szabad gyökök a protein polipeptid láncát károsítják, annak degradációjához vezetnek.

A sugárzás pigmentspecifikus hatása a hullámhossz függvényében is eltérést mutat. Haptophyceae fajokban kimutatták, hogy míg a rövidhullámú

UV-B sugárzás az összes pigment szintézisére gátló hatással van, UV-A sugárzás mellett jelentősebb változás gyakorlatilag nem észlelhető, kivéve a neofukoxantin és a klorofill-c esetében, melyek mennyiségében bizonyos mértékű növekedést figyeltek meg (DÖHLER és LOHMANN, 1995). Hasonló serkentő hatás más fajoknál is előfordul, Dunaliella bardawil-ban az UV-A sugárzás, eltérően az UV-B sugárzástól, intenzív karotinoid akkumulációt indukál (JAHNKE, 1999). A karotinoidok egységnyi fehérjére vonatkoztatott mennyiségének megduplázódása a klorofill 0-35%-os csökkenésével párosult, mely a karotinoid/klorofill arány 80-310%-os növekedéséhez vezetett. A jelenség különböző PAR intenzitások (30-1500 μ mol·m⁻²·s⁻¹) mellett is végbement, azonban a megemelt karotinoid koncentráció szinten tartásához folyamatos UV-A sugárzásra volt szükség. Fitobentoszt alkotó kovaalgák esetében is kiderült, hogy a természetes UV-B sugárzás 15%-kos növelése a klorofill-a mennyiségének szignifikáns csökkenését, ugyanakkor a béta-karotin/klorofill-a arány növekedését eredményezi (UNDERWOOD et al., 1999; WULFF et al., 2000).

2.4.5. UV sugárzás okozta morfológiai változások

Míg fotoszintézissel és szaporodással kapcsolatban számos tanulmány látott napvilágot, az algák morfológiájában, strukturális felépítésében végbemenő UV sugárzás okozta változások kevésbé kutatott területnek számítanak. A sejtek struktúrájában fellépő módosulások teljesebb képet adhatnak a fiziológiai változások természetéről, a morfológia pedig kihathat a vertikális migrációra éppúgy, mint az elsődleges fogyasztók viselkedésére. E tekintetben alapos vizsgálatnak vetették alá a *Micrasterias denticulata* zöldalgát, mely még az UV-B tartomány jelentős részével szemben is ellenálló fajnak bizonyult. A teljes UV-B tartománnyal való besugárzás ill. az expozíció időtartamának növelése azonban már a sejtfejlődés fokozódó

²⁴

gátlását, a citoplazma áramlás lassulását, vakuólumok képződősét és a kloroplasztiszok eloszlásának módosulását okozta (MEINDL és LÜTZ, 1996). Emellett drasztikus elváltozásokat okozott a diktioszómákban és az endoplazmatikus retikulum ciszternáiban is, ugyanakkor a mikrotubulusok alkotta citoszkeletonra nem volt hatással. A kloroplasztisz ultrastruktúrájára gyakorolt hatás nagymértékű változást eredményezhet a membránösszetételben és a gránum és sztróma tilakoidok szétbomlásához vezethet (LÜTZ et al., 1997). Szintén a tilakoid membránokban végbemenő változásokról számol be a Spirulina platensis cianobaktérium esetében RAJAGOPAL et al. (2000). Mérsékelt intenzitású UV-B sugárzás kihatott a PSII klorofill-a-fehérje komplexeire és azok antennáira, mely a komplexek fluoreszcens emissziós spektrumának módosulásában is megnyilvánult. Cianobaktériumok tilakoid membránjában egyéb elváltozások is bekövetkezhetnek UV-B sugárzás hatására, a Nostoc nemzetség két fajában a fikobiliszómák degradációját, számuknak csökkenését okozta (ARÁOZ et al., 1998).

2.5. Az UV sugárzás in situ hatásai

Az ultraibolya sugárzás alga együttesekre gyakorolt hatása erősen változó, összetett képet mutat. Ez a változékonyság az eltérő földrajzi elhelyezkedésnek, vízmélységnek, a víz változó kémiai összetételének, az általuk meghatározott víz alatti fényviszonyoknak és nem utolsó sorban az életközösség fajösszetételének a következménye. Mindebből általában véve megállapítható, hogy az UV-B sugárzás intenzitásának esetleges emelkedésére adott közösségi szintű válaszreakciók nem becsülhetők az egyéb környezeti tényezőkkel való kölcsönhatások figyelembevétele nélkül.

LORENZEN (1979) az elsők között mutatta ki az UV-B sugárzás tengeri fitoplankton fotoszintézisre kifejtett hatását. Statisztikai összefüggést talált

²⁵

az UV-B dózis és a szénfelvétel csökkenése között. Ez a hatás az eufotikus zóna jelentős részén érzékelhető volt, de leginkább a felső vízréteget érintette. Minthogy az elsődleges termelés túlnyomó része valamivel a felszín alatt történik, LORENZEN (1979) szerint az UV-B sugárzás csupán minimálisan befolyásolhatja az óceánok elsődleges termelésének jelenleg becsült értékeit, és az UV-B intenzitás esetleges emelkedésének hatása csak a vízoszlop felszínhez közeli rétegeire korlátozódna. A fitoplankton populációk vertikális szerkezetének tárgyalásakor ugyanakkor ez a hatás is figyelmet érdemel.

Az UV sugárzás alga közösségekre kifejtett hosszú távú hatásai jelentős mértékben eltérhetnek a rövid távú hatásoktól az akklimatizációs folyamatok és a taxonómiai összetételben bekövetkező változások eredményeképpen (VILLAFAÑE et al., 1995). Az akklimatizáció eredményeként, mely UV-elnyelő vegyületek fokozott szintézisével is együtt járhat, csökkenhet az UV sugárzással szembeni kezdeti érzékenység. YAKOVLEVA és TITLYANOV (2001) szerint a Chondrus crispus makroalga erős napsugárzáshoz való akklimatizálódása során a következő alapvető fiziológiai stratégiák lépnek működésbe: egy megnyúlt indukciós fázis, dinamikus fotoinhibíció, megnőtt karotinoid koncentráció és az UVabszorbeáló vegyületek akkumulációja. Az idő előrehaladtával kifejlődő akklimatizálódás több ízben is kimutatásra került, egyes vörös makroalgáknál például a kísérlet folyamán csökkent a PSII optimális kvantumhozamára kifejtett UV-hatás (VAN DE POLL et al., 2002). Szintén erre utal egy az Erie-tó fitoplanktonjával foglalkozó tanulmány, mely az elsődleges termelés UV-B-függő gátlásának gyors kinetikájáról számol be (HIRIART et al., 2002).

Vízvirágzáskori és az azt megelőző, ill. követő időszakra jellemző fitoplankton együttesekben, eltérő érzékenységük következtében, különböző mértékű fotoszintetikus gátlás tapasztalható, ami azt jelenti, hogy a taxonómiai összetétel és a sejtméret különösen fontos lehet az UV sugárzás közösség szintű hatása tekintetében (VILLAFAÑE et al., 2004). E feltevést támasztja alá SUGAWARA et al. (2003) munkája, mely szerint az általuk vizsgált tengerparti fitoplankton együttes 10 µm alatti sejtméretű frakciójának évszakosan változó abundanciája fontos szerepet játszhat az UV-B sugárzás elsődleges termelésre gyakorolt hatásának alakulásában. Már a sejtméret befolyásoló ereje is arra enged következtetni, hogy az ultraibolya sugárzás változása hozzájárulhat az alga közösségek fajösszetételének változásaihoz. Így például földközi-tengeri perifitikus kovaalga közösségek fajösszetétele UV-B hatására bizonyított változásokon megy keresztül, mely a közösséget alkotó fajok UV-érzékenységében rejlő különbségek eredménye (SANTAS et al., 1997). Az így indukált különbségek időben is változást mutattak. Későbbi szukcessziós állapotban az UV sugárzás fajösszetételre kifejtett hatása eltompult, melynek oka részben a közösségek UV-stresszhez való alkalmazkodási képessége. Hasonló tendenciát fonalas algaközösségek vizsgálatakor is megfigyeltek (SANTAS et al., 1998).

XENOPOULOS et al. (2002) boreális antarktikus fitoplankton vizsgálatakor azt találta, hogy az UV-B sugárzás erősebben hatott a közösség szaporodására tavasszal, mint nyáron, mely mögött valószínűleg a domináns fajok arányainak eltolódása rejlik. Későbbi kutatások során arra is fény derült, egyes taxonok mekkora rezisztenciával bírnak (XENOPOULOS és FROST, 2003). Így például míg a kisméretű Chrysophyta fajok biomasszája UV sugárzás hatására nagymértékben csökkent, más fajok csak az UV-A

tartományban, egyesek pedig egyáltalán nem mutattak érzékenységet. UV-B sugárzás hatása alatt a közösségben csupán néhány faj dominált, ugyanakkor a fajszám viszonylag változatlan maradt. Domináns antarktikus fitoplankton fajok között elsődleges termelésben és szaporodásban megnyilvánuló eltérések szintén a fajösszetételben fellépő változásokhoz vezethetnek (DAVIDSON és MARCHANT, 1994). Fontos ugyanakkor megjegyezni, hogy a megnőtt UV-B intenzitás hatásának korlátozott mértékéből adódóan a feltételezett változások sebessége és mértéke túlságosan kicsi lehet ahhoz, hogy a térbeli és éves variabilitástól elkülöníthető legyen. Mindez egyben azt jelenti, hogy az UV sugárzás intenzitásában fellépő változások nem feltétlenül gyakorolnak hatást az ökoszisztéma szintű nettó folyamatokra, inkább a fajösszetételben idéznek elő finom módosulásokat az UV sugárzásra érzékeny és ellenálló fajok fiziológiai folyamataira gyakorolt hatások közti különbségek révén. Édesvízi perifitonnál azt találták, hogy az UV sugárzás nem befolyásolja szignifikáns mértékben a biomassza alakulását, ugyanakkor az egyes taxonok mennyiségi arányaiban eltolódást okozhat (HIGLEY et al., 2001). Így például UV sugárzás hiányában csökkent a kovaalgák biomasszája. Hasonló taxonómiai eltolódásokat antarktikus fitoplankton közösségeknél is megfigyeltek (VILLAFAÑE et al., 1995). Emellett ugyanakkor fontos megemlíteni, hogy a sejtszintű reakciókhoz hasonlóan ezek a közösség szintű válaszok is dinamikus, esetenként reverzibilis jelleget tükröznek. Fonalas algaközösségeknél, a természetesnél 20%-kal erősebb UV-B sugárzás megszűnését követően a biomassza produkcióval együtt egy-két héten belül a közösség fajösszetétele is helyreállt (SANTAS et al., 1998).

2.5.1. Eltérő UV-A és UV-B hatások

Mivel az ózonréteg elvékonyodásának következménye az UV-B sugárzás intenzitásának növekedése, a témához kapcsolódó szakirodalom is túlnyomórészt az UV-B hatásaival foglalkozik, holott az UV-A sugárzás az ózonréteg abszorpciója hiányában az UV-B-hez képest mintegy egy nagyságrenddel nagyobb intenzitással éri el a földfelszínt. Az ultraibolya sugárzás biológiai hatása a rövidebb hullámhosszak felé nő, így az UV-B nagyobb stresszt válthat ki fotoszintetikus szervezetekben, viszont számos folyamatot az UV-A sugárzás is jelentős mértékben befolyásol, továbbá nagyobb intenzitása következtében in situ körülmények között bizonyos anyagcsere folyamatokra nagyobb hatást gyakorolhat. Ezt támasztja alá többek között DAVIDSON és MARCHANT (1994) munkája is, mely szerint az antarktikus fitoplanktonban domináns *Phaeocystis c.f.* pouchetii (Prymnesiophyta) életciklusának ostoros szakaszában a természetes UV sugárzás bizonyos fokú mortalitást okoz, melyért túlnyomórészt az UV-A tartomány felelős.

Az UV-A sugárzás használata laboratóriumi körülmények között a hatások megállapításán túl konkrét fiziológiai folyamatok tanulmányozására is alkalmassá válhat. Egy *Synechocystis* (Cyanobacteria) törzs rendkívül erős (2600 µmol·m⁻²·s⁻¹) UV-A-val történő besugárzása rövid idő alatt inaktiválta a PSII reakciócentrumot, mely során nem indult be rögtön a javítási folyamat első lépése, a D1 fehérje degradációja (ZSIROS et al., 2006). Így ezzel a módszerrel külön vizsgálhatóvá válnak a fotoinhibíció egyébként szimultán végbemenő folyamatai, a PSII fény által indukált inaktiválása és javítása. A besugárzást követően a sejteket gyenge látható fényben inkubálva a PSII aktivitása fél órán belül teljesen helyreállt, melyhez elsősorban fehérje szintézisre volt szükség. Ha a besugárzás után a

sejteket egy órára sötétben inkubálták, végbement az inaktivált PSII reakciócentrumok D1 fehérjéinek degradációja, majd látható fényben a PSII aktivitás is gyorsan helyreállt.

Természetes fitoplankton közösségek esetében több szerző is megállapította, hogy a fotoszintézis gátlását elsősorban az UV-A sugárzás okozza (BÜHLMANN et al., 1987; VILLAFAÑE et al., 1995; BERTONI és CALLIERI, 1999; VILLAFAÑE et al., 1999; OLESEN és MABERLY, 2001). Egy észak-amerikai fitoplankton közösség fotoszintetikus gátlására meghatározott un. biológiailag súlyozott függvény (biological weighting function) alapján a vizsgált közösség egész évben érzékenynek mutatkozik az UV-A és UV-B sugárzással szemben is, a látható fény viszont nem okozott gátlást (BANASZAK és NEALE, 2001). Ez a közepes érzékenység pedig inkább rövid távú, mint sem évszakos időlépték szerint ingadozott. Különböző PAR és UV extinkcióval bíró tavakból származó epilimnetikus algáknál bebizonyosodott, hogy míg az UV-A sugárzás jelentős mértékben hozzájárult a fotoszintézis gátlásához, addig az UV-B sugárzás a fotoinhibícióban és a klorofill-a kilúgozódásában egyaránt szerepet játszott (MOELLER, 1994). A legátlátszóbb tóból származó algák a többi mintához képest valamelyest kisebb mértékű érzékenységet mutattak a PAR és hosszabb hullámú UV-A sugárzással szemben, viszont az UV-B és rövidhullámú UV-A sugárzásra való érzékenység tekintetében nem volt különbség. Mindez feltételezhetően arra utal, hogy e szervezetek nem rendelkeznek a rövidebb hullámú UV sugárzáshoz való hatékony adaptálódás képességével, melynek lehetőségét a tápanyag limitáltság is eleve kizárhatta.

Míg többnyire az UV-A sugárzás a felszínhez közeli fotoszintetikus gátlás fő okozója, az ultraibolya sugárzás által indukált DNS károsodást

elsősorban az UV-B sugárzás idézi elő, mint azt egy mérsékelt égövi tengeri pikofitoplankton együttes esetében is találták (BUMA et al., 2001b). Az UV-B hatásából eredő DNS károsodás mértéke jól tükrözi a fitoplankton különböző populációinak és sejtméret frakcióinak UV-B-re való érzékenységét. A trópusi övben, nagy magasságban fekvő Titicaca-tó fitoplanktonját érő károsodás mértéke más földrajzi fekvésű területekről származó adatokhoz képest viszonylag alacsonynak mutatkozott, így valószínű, hogy az UV-B sugárzás intenzitásának esetleges növekedése az itt kialakult közösségre elenyésző hatással lenne (HELBLING et al., 2001b). A bakterioplankton és a fitoplankton kis sejtméretű frakciói CPD felhalmozódás tekintetében érzékenyebbnek tűnnek, mint a nagyobb, kovaalgákat is tartalmazó méretcsoportok (BUMA et al., 2001a; HELBLING et al., 2001a; BOELEN et al., 2002). UV-B hatása alatt, vagy azt követően a javítási folyamatok nem elegendőek a károsodás felszámolására, így az erős napsugárzás okozta mortalitás egy potenciális veszteségi paraméter lehet planktonikus közösségekben. Ebből következik, hogy a megnőtt UV-B intenzitás által indukált nagyobb arányú CPD felhalmozódás nem csak a közösségek szaporodását fogja mérsékelni, hanem a biomassza mennyiségét érő veszteséget is növelni fogja. Egyes fonalas algaközösségeknél azt találták, hogy míg az UV-B sugárzás némileg csökkenti a biomassza produkciót és módosítja a fajösszetételt, addig az UV-A sugárzás ezekre a közösségi paraméterekre nincs hatással (SANTAS et al., 1998).

2.5.2. Közösségi szintű UV-hatások

Közösségi szinten a környezeti stressztényezők közvetlen és közvetett módon is hatást gyakorolhatnak az élő szervezetekre. Ez a megállapítás az ultraibolya sugárzás esetében is helytálló, mely az elsődleges termelőkre kifejtett hatásán keresztül az egész vízi táplálékhálózatra kihathat. UV-B

³¹

alatt szaporított algákkal táplált zooplankton vizsgálata során azt találták, hogy táplálékfelvétel tekintetében a kezelés rövidtávon fajtól függően csökkenést és növekedést is eredményezhet, ez viszont nehezebben becsülhetővé teszi az UV-B fito- és zooplankton közösségekre kifejtett hosszú távú hatását (DE LANGE és LÜRLING, 2003). A szerzők szerint az UV-B sugárzás fitoplankton-zooplankton kölcsönhatások vonatkozásában mennyiségében és inkább a táplálék minőségében bekövetkező változásokon keresztül, mint sem a táplálékbevitel és az emésztés mértékének változása révén érezteti hatását. Erre utal a fitoplanktont alkotó sejtek lipidtartalmának és összetételének a sugárzás változása által okozott módosulása is, mely a magasabb trofikus szintek számára hozzáférhető táplálék minőségére is rányomhatja bélyegét (SKERRATT et al., 1998). UV sugárzással kezelt planktonikus algák a zooplankton szervezetek egyedfejlődésének jellemző vonásaira és életképességére is negatív hatással lehetnek, mint például a Daphnia magna vízibolha esetében, mely arra utal, hogy az UV-B az első és második trofikus szint közti energiaáramlás akadályozására is kihathat (DE LANGE és VAN REEUWIJK, 2003). A zooplanktont érő közvetlen hatások által szintén érheti UV-hatás a trofikus Ezt jól példázza bizonyos tengeri nanoflagelláták kapcsolatokat. Synechococcus pikocianobaktériummal való táplálkozása, mely UV sugárzás mellett, elsősorban a táplálékfelvételi ráta csökkenésének köszönhetően, csökkenést mutatott (OCHS, 1997). Mindezek értelmében a trofikus szintek közti kölcsönhatások épp úgy figyelembe veendők, mint a trofikus szinteket külön-külön érő hatások.

Az UV-B sugárzás intenzitásának növekedése a vízi táplálékhálózatok struktúráját és dinamikáját is módosíthatja. Erre utalnak egy tengeri planktonikus közösségen folytatott kutatás eredményei, mely szerint az UV-

B intenzitás növekedésének megnyilvánulásaként a mikrobiális táplálékháló került előtérbe a növényevők alkotta táplálékhálózat helyett. (MOSTAJIR et al., 1999). Sekély és tiszta vizekben a napsugárzás kulcsszerepet játszhat az alga-baktérium viszony szabályozásában, mivel az UV-stressz hatásának kitett algák által kibocsátott nagyobb mennyiségű szerves szén stimulálhatja a baktériumok szaporodását, ha a baktérium közösség viszonylag jól adaptálódott a fényviszonyokhoz (CARRILLO et al., 2002). Másfelől, hideg és terméketlen rendszerekben az UV sugárzás inkább közvetlen hatást gyakorol a sekélyvízi életközösségekre, mint indirekt módon, a táplálékhálózat szintjén működő folyamatokon keresztül (VINEBROOKE and LEAVITT, 1999). E rendszerekben a fizikai refúgiumok elérhetősége meghatározó tényező lehet az UV sugárzásra adott élőhely-specifikus válaszreakciók alakulásában.

Magukban az alga közösségekben szintén jelentkezhetnek bizonyos közvetett UV-hatások, például a víz kémiai paramétereinek módosulásán keresztül. WEST et al. (2003) szerint egyes tavakban az ultraibolya sugárzás és az oldott szerves szén kölcsönhatása növelheti a réz biológiai hozzáférhetőségét, mely kihathat az algák szaporodására is. Eredményeik szignifikáns hatásról ugyanakkor nem árulkodnak, ami viszont a kísérletben alkalmazott viszonylag alacsony intenzitású sugárzási beállításokból is következhet.

Az említett gátló hatások ellenére bizonyos ökofiziológiai folyamatok optimális működéséhez nélkülözhetetlen a természetes ultraibolya sugárzás jelenléte. Hiányában egyes cianobaktériumok alkotta mikrobiális szőnyegek (biofilmek) háromdimenziós struktúrája rövid időn belül felbomlik, és nitrogénkötésük is nagymértékben csökken (SHERIDAN, 2001). A csak PAR és UV sugárzás együttes hatása alatt fennmaradó struktúrában a felszínt UV-
rezisztens fajok (pl. Nostoc commune) borítják, ily módon pedig csökken a szőnyeg belsejében élő érzékenyebb fajokat érő káros hatás. Az így kialakult felépítésnek köszönhető UV tolerancia és a sejtszintű folyamatok károsodása közötti egyensúly elősegíti a közösség életben maradását és nitrogén fixálását, hozzájárulva ezzel környezetük nitrogén utánpótlásához. Ugyanakkor sósvizű tavak mikrobiális szőnyegében megfigyelték, hogy a napsugárzás intenzitása és spektrális összetétele hatással van a cianobaktériumok vertikális mozgására is (KRUSCHEL és CASTENHOLZ, 1998). Az UV-A és UV-B sugárzás, ill. a nagy intenzitású látható fény egyaránt kiválthat lefelé irányuló migrációt, ami azt jelzi, hogy az UV sugárzás elég mélyen a szőnyeg belsejébe hatolhat. Ezek a vertikális mozgásra képes fajok így képesek elkerülni a felszín közelében érvényesülő nagyobb intenzitású, károsabb UV sugárzást. Bentikus kovaalgáknál is megfigyelhető UV-B által kiváltott vertikális mozgás, azonban ez a rövid idejű válaszreakció nem elégséges ahhoz, hogy segítségével elkerülhető legyen a fotoszintetikus potenciálban, valamint a biofilm szénhidrát koncentrációjában és biomasszájában fellépő hosszú távú csökkenés (UNDERWOOD et al., 1999). Az is megállapításra került, hogy egy ilyen kovaalga szőnyegben az UV-B sugárzás szelekciós erőként működik a szaporodás és a szukcesszió korai szakaszában, ugyanakkor a közösségre az általános erős fény is stresszhatással van, nem csak kifejezetten az UV-B (WULFF et al., 2000).

2.6. Az ultraibolya sugárzás hatásait befolyásoló környezeti tényezők

2.6.1. Változó fényviszonyok

Vízi élőhelyeken a fényviszonyok rendkívül változatos képet mutatnak, ez pedig alapvetően meghatározza az ott élő szervezeteket, életközösségeket

érő napsugárzás intenzitását és spektrális összetételét, következésképp a potenciális fiziológiai és ökológiai hatásokat is. Arktikus környezetben a nap alacsony zenit szöge miatt még napsütéses nyári napokon is viszonylag alacsony PAR és UV sugárzás mérhető, melyhez ha még a vízoszlop alacsony UV transzmittanciája is hozzájárul, makroalgák esetében UV stressz csak az intertidális zónában ill. sekély vízben előforduló fajokon mutatkozik (HANELT et al., 1997). Más a helyzet hegyvidéki és trópusi területeken, ahol általában véve jóval erősebb UV sugárzás éri a szervezeteket, közösségeket. Egy a Hawaii szigeteken, nagy magasságban fekvő tó fotoszintetikus közösségeit például erős negatív UV-hatás éri az itt érvényesülő nagy fényintenzitás következtében (KINZIE et al., 1998). A tó bentikus szőnyegét alkotó közösségek főként az általuk nagy mennyiségben termelt UV-abszorbeáló vegyületeknek köszönhetően bizonyos fokú védelmet élveznek a káros hatásokkal szemben. A fitoplanktonban ugyanakkor e vegyületek jóval kisebb mennyiségben fordultak elő, így a felszínhez közeli maximális UV intenzitás mellett e közösségben nettó fotoszintézis egyáltalán nem volt kimutatható. Érdekes ugyanakkor, hogy UV sugárzástól mentes körülmények között, a bentosz klorofill-a-ra vonatkoztatott fotoszintetikus hatékonyága a planktonikus közösség fotoszintézisének mindössze 4%-át érte el.

Az ultraibolya sugárzás *in situ* érvényesülő hatásainak tárgyalásakor elkerülhetetlen szempont az élőhely jellegzetességeinek vizsgálata. Egy adott környezet attribútumai alapvető irányt szabhatnak az abban végbemenő fotobiológiai folyamatoknak. Vörös makroalgáknál sikeresen mutattak ki élőhelyhez köthető, UV-B toleranciabeli különbségeket. A fényben gazdagabb littorális zónában élő fajokban ugyanazon UV-B intenzitás mellett elhanyagolható DNS-károsodás, valamint jelentősen

kisebb mértékű növekedés- és fotoszintézisgátlás volt mérhető, mint az alacsonyabb fényintenzitáshoz szokott szublitorális fajokban (VAN DE POLL et al., 2001). Az élőhely és az ökofiziológiai folyamatok jellege közötti összefüggések további bizonyítéka, hogy a passzív védelmet nyújtó UVelnyelő vegyületek indukálására csak a litorális fajok bizonyultak képesnek. Az élőhely által nyújtott kémiai, fizikai környezet a fitoplanktont érő UVhatások mértékét, jellegét is meghatározza. Egy svédországi mérsékelt égövi tóban például kimutatták, hogy a magas huminanyag tartalomnak és a magas szoláris zenit szögnek köszönhetően az UV-B sugárzás fitoplanktonra gyakorolt negatív hatásai csak kis mértékben jelentkeznek (DANILOV és EKELUND, 2001).

A napsugárzás extinkciójához hozzájáruló vegyületek mennyisége és minősége közvetett módon a fotoszintetikus szervezetek fotobiológiájára is kihat. Ily módon az UV-abszorbeáló tulajdonsággal bíró oldott szerves szén (DOC) mennyisége is némiképpen módosítja a sugárzás effektív biológiai hatását, magasabb huminanyag tartalmú tavakban kisebb mértékű az algák fotoszintézisének és szaporodásának UV-okozta gátlása, mint a kevesebb huminanyagot tartalmazó tavak esetében (pl. WEST et al., 2003).

A napsugárzás planktonikus szervezetekre gyakorolt hatásának sarkalatos pontja a vízoszlopon belüli turbulencia mértéke. Mivel az ultraibolya sugárzás túlnyomó része a vízi élőhelyek felső rétegében elnyelődik, hatása nagyban függ a vertikális keveredés kiterjedésétől és sebességétől, mely jelentős mértékben módosíthatja a hatás időtartamát. Így például egyes szubarktikus tavakban képződő felszín közeli termoklinek markánsan megjelenő UV hatást eredményezhetnek azáltal, hogy megnövelik a fitoplankton tartózkodási idejét a felső, erős napsugárzásnak kitett rétegben (MILOT-ROY és VINCENT, 1994).

2.6.2. Tápanyagellátottság

Környezetünk abiotikus tényezői az élő szervezeteken, mint közös érintkezési felületen keresztül, kölcsönösen befolyásolhatják egymás hatását. A napsugárzásra szűkítve a kört megállapítható, hogy a vizekben mérhető fizikai és kémiai tényezők mindegyike befolyásolhatja közvetlen vagy közvetett módon a napsugárzás, így értelemszerűen az UV sugárzás hatását. Az algák számára fontos ásványi tápanyagok hozzáférhetősége nagymértékben módosíthatja az UV sugárzással szembeni rezisztenciát és válaszreakciókat. Az Erie-tó fitoplanktonjával kapcsolatban megállapításra került, hogy az elsődleges termelés UV-B-függő gátlásának hatékonysága nagyobb nitrogénhiányban szenvedő, mint nitrogénnel jól ellátott együttesekben (HIRIART et al., 2002). Ammónium esetében kimutatták, hogy vörös makroalgákban nagyobb koncentrációja mellett mérséklődik a fotoszintetikus aktivitás UV sugárzás általi csökkenése (KORBEE et al., 2005*b*). Hasonlóképp, egy kovaalgák által dominált fitobentikus közösségben megfelelő tápanyag utánpótlás (N, P, Si) mellett csökkent az UV-B sugárzás hatása, bár ennek mértéke az alkalmazott sugárzás intenzitásától is függött (WULFF et al., 2000). Tápanyag utánpótlás hiányában a közösség fajösszetétele is UV-B okozta változáson ment édesvízi perifiton közösségre vonatkozó vizsgálat keresztül. Egy eredményeiből is kölcsönhatás valószínűsíthető tápanyagok a hozzáférhetősége és az UV-érzékenység között (HIGLEY et al., 2001). HUOVINEN et al. (2006) eredményei szerint az ammónium hozzáférhetősége főként a helyreállási folyamatokon keresztül, koncentrációfüggő módon módosítja az erős fényre adott fiziológiai választ. Kísérletük érdekes megállapítása volt, hogy ha a vizsgált makroalgát erős látható fény mellett UV sugárzás is érte, az inkubációt követő alacsony fényintenzitású

periódusban a fotoszintetikus aktivitás és a fikobiliproteinek fokozott helyreállása volt tapasztalható. Ez a megfigyelés azt sugallja, hogy bőséges nitrogén ellátottság mellett az UV sugárzás pozitív hatással is bírhat az erős fény hatására működésbe lépő védekezési, helyreállási folyamatokra. A másik fontos limitáló tápelem, a foszfor mennyisége is kihat az UV sugárzás által kiváltott gátlásra. Sikerrel mutattak ki foszfor-UV kölcsönhatást boreális égövben élő édesvízi fitoplankton közösségekben, ahol a várakozásoknak megfelelően a legnagyobb szaporodási rátát magas foszfor koncentráció és alacsony UV sugárzás mellett mérték (XENOPOULOS et al., 2002).

2.6.3. A hőmérséklet módosító hatása

Algákra gyakorolt UV-hatások tekintetében a hőmérséklet szintén jelentős befolyásoló tényezőként léphet fel, mint azt számos kutatási eredmény is alátámasztja. Egy észak-amerikai hegyvidéki tó fitoplanktonja esetében például összefüggést találtak a hőmérséklet, a tápanyag-utánpótlás és az UV sugárzás szaporodásra kifejtett hatása között (DOYLE et al., 2005). A kísérletben alkalmazott legalacsonyabb, 6°C-os hőmérsékleten az UV sugárzás minden fajnál, a tápanyag-hozzáférhetőségtől függetlenül, a szaporodás visszaesését váltotta ki. Ezzel szemben 14°C-on, tápanyaghozzáadás hiányában, negatív UV-hatást nem figyeltek meg, ugyanakkor tápanyag-utánpótlás mellett, UV sugárzás jelenlétében egyes fajok szaporodása csökkenést mutatott. A szerzők szerint így erős UV sugárzásnak kitett rendszerekben az éghajlatváltozás és a légköri nitrogén fokozott kiülepedése valószínűleg megváltoztatja e három abiotikus tényező fitoplanktonra gyakorolt hatásában megnyilvánuló viszonyát. Korallokkal szimbiózisban élő barázdásostorosoknál megfigyelték, hogy UV sugárzás és magas hőmérséklet (31°C) mellett a megemelkedett antioxidáns enzim

aktivitás sem nyújt kellő védelmet a sejteket érő oxidatív stresszel szemben (LESSER, 1996). A stresszkörülmények következményeként csökkent a PSII fluoreszcenciájának kvantum hozama és a Rubisco-enzim fehérjespecifikus aktivitása. Magas hőmérsékletnek és UV sugárzásnak kitéve a fotoszintézis gátlásának akcióspektrumában 290 és 375 nm között szignifikánsan nagyobb UV-hatások jelentkeztek, mint pusztán UV sugárzás hatására.

Makroalgáknál a kérdés több ízben is feltárásra került. VAN DE POLL et al. (2002) szerint az általuk vizsgált vörösalgákban a hőmérséklet befolyása az UV sugárzás hatásaira kismértékű. A kísérleteikben vizsgált szaporodás, CPD felhalmozódás és a PSII optimális kvantum hozama közül csak az utóbbi esetében vált bizonyossá, hogy csökkenése, ill. helyreállása hőmérsékletfüggő jelleget mutat. A szerzők megállapították, hogy a mérsékelt égövi területeken jellemző nyári hőmérsékletek az arktikus hőmérsékleti viszonyokhoz képest nagyobb mértékben segíthetik elő az UV-okozta károsodások javítását és az akklimatizálódást. Ugyanazon faj mérsékelt égövi és arktikus élőhelyről izolált egyedei között viszont csak kisebb különbségek voltak fellelhetők, vagyis az eltérő élőhelynek köszönhetően UV-érzékenység vonatkozásában nem alakultak ki különbségek. Három Fucus fajnál (Phaeophyceae) az UV-B-érzékenység szaporodás tekintetében határozottan hőmérsékletfüggőnek mutatkozott (ALTAMIRANO et al., 2003). A legérzékenyebb fajnál a magas hőmérséklet és a nagy dózisú UV-B sugárzás kombinációja az újonnan kifejlődött egyedek elpusztulásához vezetett, míg alacsonyabb hőmérsékleten az egyedek képesek voltak túlélni a sugárzás hatásait. A két tényező szaporodásgátlásának fajspecifikus jellege összefüggést mutatott a fajok vertikális előfordulásával. A hőmérséklet kapcsán HOFFMAN et al. (2003) utaltak, globális változások várható hogy а hatásainak arra

előrejelezhetősége a környezeti változók közötti kölcsönhatások megértésén múlik. Ez a felismerés szűk korlátokat szab az egytényezős kísérletekből levonható következtetésekre nézve. Szaporodásra, ill. mortalitásra vonatkozó kísérleti eredményeik, az előbbihez hasonlóan, különböző hőmérsékleteken más-más mértékű UV-hatásról tanúskodtak. A hatások becsülhetősége így különösen olyan területeken ütközhet problémákba, ahol gyakori az intenzív hőingadozás. A kölcsönhatás vica-versa is érthető: erősebb UV sugárzásnak kitett földrajzi helyeken a hőmérséklet adott mértékű változásakor jelentősebb élettani hatás valószínűsíthető.

2.7. Az UV sugárzás hatásait ellensúlyozó mechanizmusok, védekezési stratégiák

A természet nem teljesen védtelen a nagy intenzitású napsugárzás káros hatásaival szemben. Feltételezhetően minden élő szervezetben léteznek olyan folyamatok, melyek az ily módon keletkező károsodások, gátlások mérséklésére, eliminálására vagy megelőzésére hivatottak. UV sugárzás tekintetében ezek a védekező mechanizmusok passzív vagy aktív módon is érvényre juthatnak, attól függően, hogy a hatások megelőzésében vagy a már okozott károsodások ellensúlyozásában, felszámolásában vesznek részt. A hatások sokféleségéből és változékonyságából kifolyólag a védekezési stratégiák is fajonként és élőhelyenként eltérő, változatos képet mutatnak. Fontos megjegyezni, hogy e folyamatok ugyanazon sejtben egymással párhuzamban, egymást kiegészítve is működhetnek.

Minden fotoszintetikus szervezet számára fontos képesség az erős napsugárzás okozta oxidatív stressz ellensúlyozása. A keletkező reaktív oxigén gyökök felszámolásában bizonyos enzimek kulcsszerepet játszanak, mint például a szuperoxid-diszmutáz és a kataláz, melyek aktivitása arktikus vörös és zöld makroalgákkal végzett kísérletek szerint a PAR és UV

⁴⁰

intenzitás nyári emelkedésével párhuzamosan nagymértékben megnő (AGUILERA et al., 2002).

Mint azt egy korábbi fejezetben már kifejtettük, a napsugárzás spektrális összetétele nagymértékben befolyásolja a sejtek pigment összetételét. Az UV sugárzás, vagy nagy intenzitású látható fény hatására ily módon végbemenő változások egyúttal védő szerepet is betölthetnek. Így például sikeresen mutatták ki fikoeritrin UV-B indukálta szintézisét a Nostoc cianobaktérium nemzetség két fajában, melynek fikobiliszómákban való felhalmozódása megnövelte a sejtek káros UV-B hatásokkal szembeni tűrőképességét (ARÁOZ et al., 1998). Ennél szélesebb körben elterjedt jelenség a karotinoidok akkumulációja. EHLING-SCHULZ et al. (1997) Nostoc commune vizsgálatakor azt találta, hogy az UV-B sugárzás jelentős karotinod (mixoxantofill és echinenon) szintézist indukál. Ebből származik a feltételezés, miszerint termelődésük gyors válasz az UV-B okozta stresszre, mely bizonyos fokú védelmet biztosít az UV-abszorbeáló vegyületek (MAA-k és scytonemin) lassabb, több időt igénylő akkumulálódásáig. Szintén ezt példázza a "vörös hó" jelenséget előidéző Chlamydomonas nivalis zöldalga kiemelkedően magas másodlagos karotinoid tartalma, ami nagyban hozzájárul a káros napsugárzással szembeni védekezéshez (BIDIGARE et al., 1993), szükségtelenné téve az UVabszorbeáló vegyületek szintézisét. Európai hegyvidéki tavakban kimutatták, hogy a karotinoidok és az UV-elnyelő vegyületek mennyisége a legtisztább és legsekélyebb vizek fitoplanktonjában a legnagyobb, míg az alacsony UV átlátszósággal bíró tavakra általában alacsony értékek jellemzők (LAURION et al., 2002). Néhány tiszta vizű és nagy tengerszint feletti magasságban fekvő tó fitoplanktonjában azonban szintén alacsony koncentrációkat mértek. Következésképp a tavakban uralkodó UV

fényviszonyokkal vagy a tengerszint feletti magassággal csak kis mértékben volt magyarázható a karotinoidok és az MAA-k esetében tapasztalt tavak közti variabilitás. Mindez azt jelentheti, hogy szintézisük szabályozásában az UV sugárzáson kívül más környezeti tényező is részt vesz.

2.7.1. A fotoszintézis helyreállása

Széles körben elterjedt védekezési mechanizmus a fotoszintézis gátlásának ellensúlyozása, a sérült PSII szerkezeti és funkcionális helyreállítása, mely elsősorban a reakciócentrum D1 és D2 alegységeinek kicserélődése, *de novo* szintézise révén valósul meg. Ezt mutatták ki többek között egy Synechocystis (Cyanobacteria) fajban is, de a helyreállítás mértékét a kialakult károsodás nagysága jelentősen befolyásolta (SASS et al., 1997). 50%-os gátlást követően UV-B-mentes környezetbe helyezve a fotoszintézis aktivitása 2 órán belül teljes mértékben helyreállt, míg 90-95%-os gátlás esetén 4 óra sem volt elegendő ahhoz, hogy az eredeti érték felét visszanyerje. Az eredményekből az is kiderült, hogy az UV-B sugárzás magát a javítás folyamatát is gátolhatja. Ez utóbbira tengeri fitoplankton közösségek esetében is felfigyeltek, ahol a nagy intenzitású UV-B sugárzás nagyobb gátló hatást gyakorolhat a D1 fehérje szintézisére és a PSII javítására, mint a D1 fehérje degradációjára (BOUCHARD et al., 2005). Az épen maradt reakciócentrumok rendszerint képesek voltak szinten tartani a fotoszintetikus teljesítményt, bár a tanulmány nem terjedt ki olyan alapvető befolyásoló tényezőkre, mint a fajösszetétel változása vagy az UVesetleges abszorbeáló vegyületek termelődése, melyek mind hozzájárulhattak a megfigyelt jelenséghez. Anabaena cianobaktériumban a transzlációgátló alkalmazásával bizonyos sztreptomicin mértékben akadályozható a fotoszintézis helyreállása, ami egyértelműen jelzi, hogy fehérjeszintézishez kötött folyamatról van szó (HAN et al., 2003c).

Ugyanennél a fajnál azt is kimutatták, hogy a kék hullámhossztartományt is tartalmazó fényhez akklimatizálódott sejtek fotoszintézise kevesebb károsodást szenvedett UV sugárzás hatására, mint a kék tartomány jelenléte nélkül szaporított tenyészetekben. Ugyanez a hullámhosszfüggés derült ki a fotoreaktiválási folyamatok vizsgálatakor is. Közepes erősségű UV-B sugárzást követően csak UV-A/kék fény jelenlétében következett be a fotoszintetikus kapacitás helyreállása (HAN et al., 2001). A fotoreaktiválás akcióspektrumában 352,5, 383 és 411 nm-en megjelenő csúcsok a szerzők szerint egy kék fényen és közeli UV hullámhosszakon aktív fotoreceptor, ún. kriptokróm feltételezett jelenlétére utalnak.

Cianobaktériumokban a D1 fehérjét a *psbA* gének csoportja kódolja. A PSII UV-B sugárzás okozta gátlása a *psbA* transzkriptumok készletének növekedését, ugyanakkor relatív mennyiségük eltolódását eredményezi. Így például egy *Anabaena* fajban megfigyelhető, hogy a *psbAI* gén által kódolt D1:1 izoforma, mely stresszmentes körülmények között egyébként a D1 fehérje leggyakoribb formája, UV-B jelenlétében fokozatosan a *psbAII*, *psbAIII* és *psbAIV* gének által kódolt, funkcionálisan is elkülönülő D1:2 izoformára cserélődik (SICORA et al., 2006).

2.7.2. DNS javítás

Az UV-B sugárzás következtében megsérült DNS javítása a túlélés szempontjából minden élő szervezet számára fontos képesség, különösen igaz ez a mikroorganizmusok esetében. Ennek legismertebb módja az ún. nukleotid excíziós javítás (nucleotide excision repair, NER), egy ATP-függő, többlépcsős folyamat, mely során a speciális fehérjék által felismert, sérült DNS szakasz újra szintetizált DNS szakaszra cserélődik (WOOD, 1996). Kevesen tettek eddig kísérletet a résztvevő fehérjék azonosítására és jellemzésére algákban. Egy *Chlorella pyrenoidosa*-val végzett teszt során

fény derült egy kb. 72 kDa molekuláris tömegű polipeptid jelenlétére, melyről feltételezik, hogy szerepe döntő fontosságú a NER folyamatában, azon belül is nagy valószínűséggel a károsodás felismerésében (HSU et al., 2000). További gyakran előforduló javítási folyamat a fotoreaktiválás, mely egy energetikailag "olcsóbb", közvetlenebb és ezáltal hibáktól mentesebb módja a CPD-k monomerizálásának. A fotoreaktivációt a fotoliáz enzim katalizálja, a CPD-k javítása az UV-A sugárzás és a kék fény felhasználása révén valósul meg (WEBER, 2005).

Egyes kutatások azt mutatják, hogy a legkülönfélébb eukarióta élőlényekhez hasonlóan algákban is működik egy olyan jelátviteli útvonal, amelyen keresztül ún. ellenőrzési pontok aktiválásával képesek DNSkárosodás esetén a sejtciklus továbbhaladásának megakadályozására. Elsősorban a *Chlamydomonas reinhardtii* UV sugárzás okozta DNSkárosodásra érzékeny *uvs11* mutáns törzsével folytatott vizsgálatok engednek erre következtetni (SLANINOVÁ et al., 2003). A szerzők megállapítása szerint a mitózis előtt található, legfontosabb ellenőrzési pont aktiválása a sejtmag osztódásának késleltetését okozza. E szabályozási mechanizmus kulcseleme az *UVS11* gén terméke lehet, mely kihat a sejt DNS-károsodásra adott válaszreakciójára és közvetlen módon a sejtciklus szabályozásában résztvevő hiszton H1 kinázok aktivitásának csökkenését okozza.

2.7.3. Adaptálódás

A hosszú távú UV-hatások tanulmányozásakor nem utolsó szempont az adaptálódás lehetőségének vizsgálata. Egy *Synechococcus* (Cyanobacteria) törzs 25 generáción át rövid idejű UV-B-vel való rendszeres kezelése adaptációs folyamatokat váltott ki, aminek köszönhetően fotoszintetikus apparátusának UV sugárzással szembeni rezisztenciája jelentős mértékben

⁴⁴

megnőtt (PRABHA és KULANDAIVELU, 2002). Míg a kezeletlen tenyészetekben UV-B sugárzás hatására drasztikusan csökkent a PSII aktivitása, az adaptálódott sejtekben a csökkenés elenyésző mértékű volt. A PSII működésének stabilitása valószínűleg annak volt köszönhető, hogy az adaptáció során megnőtt a fotokémiai rendszer részét képező kulcsfontosságú D1 és 33 kDa fehérjék kicserélődési ("turnover") kapacitása, így azok mennyisége UV-B sugárzás alatt is többnyire változatlan maradt.

2.8. UV-abszorbeáló vegyületek

Az ultraibolya sugárzás okozta káros hatásokkal szembeni védelem egyik módja az UV sugárzást elnyelő, un. "UV sunscreen" vegyületek szintézise és akkumulálódása. Cianobaktériumok és algák esetében a scytonemin és a mycosporine-szerű aminosavak (mycosporine-like amino acids, MAA) sorolhatók ebbe a csoportba. E vegyületek az algákban előforduló fotoszintetikus pigmentekkel együtt egy olyan védekezési stratégia alapját képezik, amely kiszélesíti az alga közösségek tűrőképességének határait. Ez képessé teszi a közösséget arra, hogy sikeresen megbirkózzon a szélsőséges élőhelyeken érvényesülő környezeti stressz tényezőkkel, elsősorban a nagy intenzitású napsugárzás káros hatásaival (MUELLER et al., 2005).

2.8.1. Scytonemin

A sárgásbarnás színű scytonemin egy lipidekben oldódó dimer vegyület, mely extracelluláris pigmentként halmozódik fel egyes cianobaktérium fajok hüvelyében, kocsonyaburkában. Indolos és fenolos alegységekre épülő molekulája 544 Da tömegű. 386 nm-es abszorpciós csúcsa mellett jelentős fényelnyeléssel bír 252, 278 és 300 nm környékén is

(PROTEAU et al., 1993; SINHA et al., 1998, 1999b), melyből feltételezték, hogy a scytonemin UV-elnyelő vegyületként funkcionál (GARCIA-PICHEL et al., 1992; DILLON és CASTENHOLZ, 1999). Ezt a feltételezést számos erős napsugárzásnak kitett élőhelyről származó cianobaktérium faj vizsgálata is megerősítette (GARCIA-PICHEL és CASTENHOLZ, 1991). Fényelnyelő szerepét egyértelműen kimutatták egy szárazföldi Chlorogloeopsis fajban (GARCIA-PICHEL et al., 1992). Cianobaktérium tenyészetekben az akkumulálódott scytonemin a szárazanyag 5%-át is elérheti, természetes körülmények között pedig még ezt is meghaladhatja (CASTENHOLZ, 1997). Egy Calothrix faj természetes populációja esetében bebizonyosodott, hogy erős UV sugárzás alatt magas scytonemin tartalom mellett nem következik be fotoszintetikus gátlás, alátámasztva a vegyület jelenléte és az UV sugárzás elleni védekezés közötti korrelációt (BRENOWITZ és CASTENHOLZ, 1997). Hasonló összefüggésre leltek cianobaktériumokkal szimbiózisban zuzmóknál, melyek szintén élő, sziklalakó nagy mennyiségben tartalmazhatják e pigmentet (BÜDEL et al., 1997). Egyes tanulmányok szerint a sejteket érő UV-A sugárzásnak akár 90%-át is elnyelheti a cianobaktériumok hüvelyében felhalmozódó scytonemin (GARCIA-PICHEL et al., 1992; BRENOWITZ és CASTENHOLZ, 1997). Szintézisét UV-A sugárzás (GARCIA-PICHEL és CASTENHOLZ, 1991) vagy ozmotikus stressz indukálhatja, míg más környezeti körülmények, mint például a magas hőmérséklet és a fotooxidatív stressz szinergikus módon fokozhatják (DILLON et al., 2002). A vegyület nagymértékű stabilitást mutat, fényelnyelő funkciójának megőrzése nem igényel további anyagcsere-ráfordítást. Nem következik be gyors fotodegradáció, szárazföldi cianobaktérium kérgekben vagy kiszáradt szőnyegekben hosszú ideig kimutatható (GARCIA-PICHEL et al., 1992; BRENOWITZ és CASTENHOLZ, 1997; QUESADA et al., 1999). Ez a

stratégia számos scytonemin-termelő faj számára felbecsülhetetlen jelentőségű lehet extrém élőhelyeken, pl. intertidális cianobaktérium szőnyegekben vagy szárazföldi kérgekben, ahol időszakosan fiziológiailag inaktív periódusokon esnek át (pl. kiszáradás, fagy). Ilyen metabolikusan inaktív periódusok alatt más védő mechanizmusok, mint például a károsodott sejtalkotók javítása vagy bioszintézise, nem működőképesek (BRENOWITZ és CASTENHOLZ, 1997; EHLING-SCHULZ et al., 1997; QUESADA et al., 1999). Feltételezik, hogy e vegyület a Prekambrium alatt alakult ki, és lehetővé tette a kitett, sekélyvízi és szárazföldi területek kolonizációját a cianobaktériumok ill. elődjeik számára (DILLON és CASTENHOLZ, 1999). A vegyület gyakorlati alkalmazhatósága terén további kutatások szükségesek, bár gyulladáscsökkentő és sejtburjánzást gátló hatását már kimutatták, ami felveti a gyógyszerészeti felhasználás lehetőségét (STEVENSON et al., 2002).

2.8.2. Mycosporine-szerű aminosavak (MAA-k)

Szélesebb körben, cianobaktériumokban és eukarióta algákban egyaránt előforduló vegyületcsoportot képeznek a 310 és 360 nm közötti abszorpciós csúcsú mycosporine-szerű aminosavak (MAA). A csoport leggyakrabban előforduló tagjai: mycosporine-glycine, palythine, asterina-330, palythinol, porphyra-334, shinorine és palythene (1. t*áblázat*). E vízben oldódó vegyületek molekulatömege 300 Da körüli, alapszerkezetük egy ciklohexenon vagy ciklohexenimin kromoforból áll, melyhez egy aminosav vagy imino alkoholjának nitrogén szubsztituense kapcsolódik (SINHA et al., 1998). Nem tekinthetők valódi pigmenteknek, hiszen a látható fény tartományában nem abszorbeálnak, ugyanakkor az ultraibolya tartományban nagy moláris abszorptivitással rendelkeznek (1. t*áblázat*) (SINHA et al., 2001*a*). Az MAA-k szerkezetileg a mycosporine-ok csoportjával rokon vegyületek, melyeket gombákban mutattak ki (FAVRE-BONVIN et al., 1987).

⁴⁷

Taxonómiailag és földrajzilag egyaránt széleskörű előfordulásuk bizonyíték nemcsak korai filogenetikai megjelenésükre, hanem UV-szűrő szerepükben rejlő potenciális jelentőségükre is (GRÖNIGER et al., 2000). Algákban és fototróf szimbiontákban történő termelődésük bioszintetikus útvonala ugyan részleteiben még nem ismert, a sikimisav útvonalból történő származtatásuk széles körben elterjedt elképzelés. Kimutatták, hogy a sikimisav útvonal köztes terméke, a 3-dehidrokinát a gomba mycosporine-ok hat szénatomból álló gyűrűjének prekurzora (FAVRE-BONVIN et al., 1987), valamint, hogy a sikimisav útvonal inhibitoraként működő glifozát csökkentheti vagy gátolhatja az MAA-k felhalmozódását (SHICK et al., 1999). Egyes tanulmányok szerint az MAA-k *in vivo* transzformáción mehetnek keresztül, mint azt az usujirene ($\lambda_{max} = 357$ nm) palythene-né történő *cisz-transz* fotoizomerizációja is bizonyítja (CONDE et al., 2003).

Számos cianobaktérium, eukarióta fitoplankton és makroalga faj képes szintetizálni. Több fonalas heterocisztás MAA-kat nitrogénkötő cianobaktériumban, mint például a Nostoc commune vagy az Anabaena és Scytonema nemzetség fajai, shinorine található, melyről feltételezik, hogy védelmet nyújt a sejtek számára az UV-B sugárzás káros hatásaival szemben (SINHA et al., 1999a, 2001b). E vegyületek széles földrajzi elterjedését szemlélteti, hogy shinorine-t valamint porphyra-334-et a Nodularia nemzetség tengeri fajaiban is találtak (SINHA et al., 2003b). Több különböző MAA-t azonosítottak a szintén nitrogénfixáló, de heterocisztával nem rendelkező, tengeri Trichodesmium nemzetség egy fajában, ami különösen magas UV-abszorpciót eredményezett a sejt keresztmetszetében (SUBRAMANIAM et al., 1999). Cianobaktériumokkal szimbiózisban élő zuzmók szintén nagy mennyiségű MAA termelésére képesek, az azonban még nem tisztázott, hogy gomba vagy cianobaktérium eredetű szintézisről

van-e szó (BÜDEL et al., 1997). Az MAA-k akkumulálódásával kapcsolatban általánosan elterjedt nézet, hogy raktározásuk intracelluláris. A kozmopolita, talajlakó *Nostoc commune* ugyanakkor a kolóniák extracelluláris glikán burkába választja ki ezen UV-abszorbeáló vegyületeket, ahol különösen nagy molekulatömegű, a burokhoz nem kovalensen kötődő komplexeket képeznek (BÖHM et al., 1995). Ezek voltak az első MAA-k, melyeknél kimutatták, hogy kovalens kötéssel oligoszacharidokhoz kapcsolódnak, és magas koncentrációjuk jelentősen csökkentheti a sejteket érő UV-B sugárzás intenzitását.

UV-abszorbeáló vegyület	λ_{max} (nm)	ε (M ⁻¹ ·cm ⁻¹)	Hivatkozások
Mycosporine-glycine	310	28100	Ito és Hirata (1977); Dunlap et al. (1986); Gleason (1993)
Palythine	320	36200	Takano et al. (1978 <i>a</i>); Dunlap et al. (1986); Gleason (1993)
Asterina-330	330	43500	Gleason (1993)
Palythinol	332	43500	Takano et al. (1978 <i>b</i>); Dunlap et al. (1986)
Porphyra-334	334	42300	Takano et al. (1979)
Shinorine	334	44700	Tsujino et al. (1980); Gleason (1993)
Palythene	360	50000	Takano et al. (1978 <i>b</i>)
Scytonemin	386	-	Proteau et al. (1993)

 táblázat. Algákban és cianobaktériumokban leggyakrabban előforduló UV-abszorbeáló vegyületek, abszorpciós maximumuk (λ_{max}) és moláris extinkciós koefficienseik (ε).

A vegyületcsoport eukarióta fitoplanktonban való előfordulása számos esetben bebizonyosodott, különböző élőhelyeken és taxonómiai csoportokban. Többnyire a Bacillariophyceae (pl. HERNANDO et al., 2002), Dinophyceae (pl. KLISCH és HÄDER, 2000) és Haptophyceae (pl. MOISAN és MITCHELL, 2001) csoport fajaiban fordulnak elő. Míg tengeri fitoplankton

49

fajokról számos tanulmány jelent meg a témában, édesvízi fajokkal kevesen foglalkoztak (SOMMARUGA és GARCIA-PICHEL, 1999; LAURION et al., 2002). Az évről évre bővülő ismeretek alapján hasonlóképp elterjedt vegyületek a makroalgák körében is. Ily módon egy sor különböző élőhelyen leltek MAA-kat tartalmazó makroalgákra, legyen szó akár trópusi (pl. KARSTEN et al., 2000), akár sarkvidéki területekről (AGUILERA et al., 2002; HOYER et al., 2002). A bizonyítottan MAA-termelő makroalga fajok száma a vörösalgák (Rhodophyta) divíziójában a legmagasabb, és a különböző MAA-k száma valamint teljes mennyiségük is általában nagyobb, mint a zöld (Chlorophyta) és barna algáknál (Phaeophyta) (SINHA et al., 2001*a*).

Szimbiotikus kapcsolatok révén, illetve a táplálékhálózatban történő felhalmozódásuknak köszönhetően az algákon kívül számos más vízi előfordulhatnak MAA-k. Jól példázza élőlényben is változatos előfordulásukat és bioakkumulációjukat, hogy MCCLINTOCK és KARENTZ (1997) 30 különböző, antarktikus tengeri szubtidális övben élő organizmusban szivacsokban, csalánozókban, puhatestűekben, ízeltlábúakban, tüskésbőrűekben és halakban – is kimutatta jelenlétüket. Feltételezik, hogy a termelőkből fogyasztókba történő trofikus vándorlás során mikrobiális és kémiai reakciók következtében az MAA vegyületek egymásba átalakulhatnak (WHITEHEAD et al., 2001). Számos esetben találtak MAA-kat olyan szervezetekben, melvek mikroalgákkal élnek szimbiózisban. Ezek közül is a korallokat vizsgálták a legalaposabban (pl. TEAI et al., 1997). Egy korall-alga szimbiózisban kimutatták, hogy az MAA szintézis a sikimisav úton keresztül történik (SHICK et al., 1999), a vegyületcsoport feltételezett termelői pedig a szimbionta barázdásostorosok (Dinophyta), az un. zooxanthellák. Ezzel szemben egyes kagyló (ISHIKURA et al., 1997) és tengeri rózsa fajokban (CARRETO et al., 2005) azt találták,

hogy ugyan tartalmazhatnak ilyen vegyületeket, felhalmozódásuk azonban csak a táplálékból eredeztethető, ugyanis szimbionta zooxanthelláik nem képesek MAA szintézisre.

2.8.3. Az MAA-k szerepe az UV sugárzás elleni védelemben

A vegyületcsoport UV sugárzás elleni védelemben játszott szerepét több eredmény is bizonyítja. Abszorpciós tulajdonságaik mellett a különböző fajokra meghatározott un. akcióspektrumok is erre utalnak, melyek megmutatják, hogy adott hullámhosszú sugárzás milyen mértékű MAA szintézist indukál. Több fonalas cianobaktérium fajban is erre a következtetésre jutottak. Egy rizsföldeken előforduló Anabaena faj polikromatikus akcióspektruma alapján az MAA szintézist UV sugárzás indukálja, azon belül is főként annak UV-B tartománya, ami a negatív UV-B hatások elleni védelemnek egy lehetséges módjára utal (SINHA et al., 2002). A fonalas nitrogénkötő Nostoc commune szintén UV-B sugárzás alatt volt képes MAA szintézisre, míg az UV-A sugárzás és a látható fény lényegesen kisebb hatást gyakorolt az indukciós folyamatra (SINHA et al., 2003a). A fajra jellemző extracelluláris poliszacharidok szintézise is UV-B sugárzás alatt volt a legintenzívebb, feltételezhetően azért, mert az ily módon megvastagodott hüvely, melynek mátrixában az MAA-k akkumulálódása végbemegy, nagyobb effektív pásztaszélességet nyújt a sugárzás elnyelésére (EHLING-SCHULZ et al., 1997). A tengeri barázdásostoros Gyrodinium dorsum is a cianobaktériumokhoz hasonló spektrumot mutatott, itt a szintézis indukálásában leghatékonyabb hullámhossz 310 nm körül jelentkezett (KLISCH és HÄDER, 2002).

Azonban mint azt több tanulmány is tanúsítja, az indukció jellege ennél valószínűleg összetettebb, és az MAA-k szintézise nem csak fajspecifikus, hanem az adott faj által termelt vegyület típusától is függ. A fonalas

⁵¹

cianobaktériumokkal ellentétben egy antarktikus *Thalassiosira* kovaalga faj esetében a PAR sugárzás nagyobb hatással volt a szintézisre, mint az egyébként ebben szerepet játszó UV sugárzás, viszont UV-A és UV-B sugárzás hatására a különböző típusú MAA-k egymástól eltérő képződési kinetikát mutattak (HERNANDO et al., 2002). Antarktikus vörös makroalgákkal végzett kutatások alapján szintén megállapításra került, hogy az egyes MAA vegyületek indukálása, képződése és akkumulálódása egy nagyon rugalmas, fajspecifikus mechanizmus szerint működik (HOYER et al., 2002).

MAA-k tekintetében a legmélyrehatóbb kutatás alá vetett faj a Chondrus crispus vörös makroalga, melynek tanulmányozásából számos új információ született. Ez a tengeri faj négy különböző, 320 és 360 nm közötti abszorpciós csúccsal rendelkező MAA termelésére képes, ami egy szélesebb UV-szűrő kapacitásra enged következtetni (KARSTEN et al., 1998). A Chondrus crispus MAA indukciójára vonatkozó akcióspektrum alapján a rövidhullámú UV-A sugárzás bizonyult a leghatékonyabbnak a nagyobb mennyiségben előforduló shinorine és palythine esetében, míg a többi vegyület képződését inkább az UV-B sugárzás indukálta (KRÄBS et al., 2002). Nagyobb fényintenzitás mellett az indukciós válasz valamelyest a nagyobb hullámhosszak felé, míg az összesített MAA tartalom abszorpciós csúcsa a rövidebb hullámhosszak felé tolódott. Ily módon a legkisebb az átfedés az indukció és az abszorpció spektruma között, mely lehetővé teszi a maximális védelmet nyújtó optimális indukciós kapacitást, ez pedig a shinorine palythine-nel történő fokozatos kicserélődésével volt elérhető. Ezek az eredmények jól szemléltetik, hogy e faj képes flexibilis módon a sugárzás spektrális eloszlásához igazítani belső MAA tartalmát.

Fotofizikai és fotokémiai kísérletek rávilágítottak e vegyületek fotostabilitására is, mely szintén UV-védő szerepüket látszik igazolni (CONDE et al., 2000; WHITEHEAD és HEDGES, 2005). Fotostabilitásukon túl a hővel szemben szintén nagyfokú stabilitással bírnak (SINHA et al., 2000). Ugyanakkor a sugárzás mellett egyéb környezeti tényezők is befolyásolhatják szintézisüket ill. akkumulációjukat, mint például a felvehető ammónium mennyisége (KORBEE et al., 2005b). A sejtek MAA tartalma és összetétele az idő függvényében is változik, akár napi ingadozást mutatva, mint például egy tengeri barázdásostoros, a Scrippsiella sweeneyae esetében (TAIRA et al., 2004). A vegyületcsoport által biztosított abszorpció különböző élettani folyamatok UV sugárzással szembeni védelmében is szerepet játszhat, ahogy az egyes barázdásostorosok fotoszintézise (NEALE et al., 1998) és motilitása esetében már bebizonyosodott (KLISCH et al., 2001). A DNS molekulák védelméhez az UV-szűrésen túl a gerjesztett állapotba került timin gyökök semlegesítésével is hozzájárulhatnak (MISONOU et al., 2003).

Az MAA-k indukcióját feltehetően különböző fotoreceptorok váltják ki (FRANKLIN et al., 2001; KRÄBS et al., 2002), melyek kémiai analitikai azonosítására még nem került sor, viszont a kimutatott polikromatikus akció spektrumok létezésük közvetett bizonyítékai. A shinorine indukciójának akcióspektrumából kimutatták, hogy szintézisét feltehetően egy vagy két UV-A fotoreceptor szabályozza, melyek abszorpciós csúcsai 320, 340 és 400 nm környékén találhatók (KRÄBS et al., 2004). PORTWICH és GARCIA-PICHEL (2000) ugyanakkor UV-B-specifikus fotoreceptort talált egy *Chlorogloeopsis* cianobaktériumban, mely a szintézis fotoszenzorikus indukciójának szabályozásáért felelős, és feltételezéseik szerint a receptor kromoforja egy redukált pterin vegyület. A fentiekkel ellentétben, a

Porphyra leucosticta vörösalgában indukált akkumulációból KORBEE et al. (2005*a*) arra a következtetésre jutottak, hogy a folyamatban egy a fotoszintézisben nem szereplő kékfény fotoreceptor vesz részt, mely az MAA vegyületek egymásba történő átalakulásában is közrejátszhat.

Az indukciót kiváltó tényezőkön túl az is igazolni látszik az MAA-k UV sugárzás elleni védekezésben betöltött szerepét, hogy előfordulásuk nagyban függ az adott élőhelyre jellemző fényiszonyoktól. Édesvízi fitoplankton közösségekben klorofill-a-hoz viszonyított mennyiségük a vízmélységgel csökkenő tendenciát mutat, melyből közvetve szintén e védő funkcióra következtethetünk (LAURION et al., 2002). Nagyobb vízmélységben élő, árnyékkedvelő, erős napsugárzásra érzékeny Antarktikus makroalgákban HOYER et al. (2002) nem talált MAA-kat, így bioszintézisük hiánya a kevés fényhez és az UV-B sugárzástól mentes környezethez való alkalmazkodásként értelmezhető. Az ugyancsak alacsony megvilágításhoz adaptálódott Gracilaria chilensis vörösalgában alacsony koncentrációban fordulnak elő MAA-k, ez pedig hozzájárulhat fotoszintézisének UV-B sugárzással szembeni érzékenységéhez (GÓMEZ et al., 2005). A Porphyra vörösalga nemzetség fénykedvelő fajainak az árnyékkedvelőkhöz képest nagyobb rezisztenciáját részben szintén a magasabb MAA tartalommal, illetve felhalmozódással magyarázták (FIGUREOA et al., 2003). Két sarkvidéki vörös makroalga fajban az MAA koncentráció növekedése egybeesett a fényintenzitás jégolvadás során bekövetkező megnövekedésével, mely feltételezhetően nagyobb rezisztenciát biztosít a megváltozott víz alatti fényviszonyokkal, így az ultraibolya sugárzással szemben is (AGUILERA et al., 2002). Az éves UV csúcsoktól függetlenül a *Bangia atropurpurea* vörösalga egész évben nagy mennyiségben tartalmaz MAA-kat, és e feltételezetten genetikai jellegű

adaptációnak köszönhetően képes elviselni a felső eulitorális élőhelyekre jellemző szélsőségesen változó sugárzásviszonyokat (KARSTEN és WEST, 2000).

Nem csak összkoncentrációjuk, hanem összetételük és mennyiségi arányaik is változhatnak a vízmélység függvényében, mint azt egy hegyvidéki tó bentikus cianobaktériumaiban is kimutatták (SOMMARUGA és GARCIA-PICHEL, 1999). A barázdásostoros Alexandrium nemzetség három fajában fajonként eltérő MAA koncentrációt és összetételt mutattak ki, ami szintén bizonyos fokú biogeográfiai vagy ökotípusos változatosságra utal (CARRETO et al., 2001). Ugyanerre a megállapításra jutottak a Chattonella marina (Raphidophyta) mikroalga esetében is, Ausztrália, illetve Japán partjainál izolált változatainak eltérő MAA tartalmából a környezeti körülményeknek köszönhető ökotípusos adaptációra lehet következtetni (MARSHALL és NEWMAN, 2002). Egyes antarktikus szubtidális (20 m-nél nagyobb mélységben élő) organizmusokban mért alacsony MAA tartalom azt tükrözi, hogy időszakosan jéggel borított tengeri élőhelyen nincs akkora szükség UV-abszorbeáló vegyületekre, mint napsugárzásnak jobban kitett környezetben (MCCLINTOCK és KARENTZ, 1997). Extrém élőhelyeken viszont különösen fontos lehet jelenlétük, mint például egyes műemlékek felszínén élő epilitikus cianobaktériumokban, melyek a nagy fényintenzitás mellett magas hőmérsékletnek és szélsőséges szárazságnak vannak kitéve. Ilyen körülmények között az MAA szintézis egy adaptálódási folyamatnak tekinthető a sejteket érő fotokémiai károsodások mérséklése céljából, ami e szervezetek életben maradásához elkerülhetetlen (ROY et al., 1997).

2.8.4. Az MAA-k másodlagos funkciói

Feltételezik, hogy a fotokémiai védekezésen túl az MAA-k más élettani funkcióval is bírnak. Halofil cianobaktérium közösségekben ozmotikus

⁵⁵

szabályozó anyagokként is működhetnek (OREN, 1997), melyet számos egysejtű, különösen sótűrő cianobaktérium MAA tartalma is igazolni látszik (GARCIA-PICHEL et al., 1998). Ezzel szemben PORTWICH és GARCIA-PICHEL (1999) Chlorogloeopsis cianobaktérium vizsgálata során azt találta, hogy az ozmotikus stressz MAA szintézist indukál, de a vegyületek nem játszanak szerepet az ozmotikus homeosztázis elérésében. A szerzők szerint az vegyületcsoport elsősorban UV-szűrőként szolgáló а nagyarányú akkumulálódás ozmotikus mellékhatásainak elkerülése végett áll ozmotikus szabályozás alatt, így nagy mennyiségben csak akkor halmozódhat fel, ha a környezet oldott anyagaival ellensúlyozható a sejten belüliek mennyisége. A válaszreakciók taxononként eltérő jellegét és alaposabb kutatások szükségességét támasztja alá, hogy SINHA et al. (2003a) egy rizsföldről izolált Nostoc commune cianobaktérium esetében ozmotikus stressz hatására nem tapasztalt MAA indukciót. Egyes tanulmányok az UV-abszorpció mellett az MAA-k antioxidáns funkciójáról számolnak be, mely tovább javíthatja a stressz körülmények közötti túlélés esélyét. Az oxidatív károsodást ellensúlyozni képes mycosporine-glycine az endogén úton keletkező oxigén gyökök ($^{1}O_{2}$) semlegesítése révén hozzájárulhat a sejtek megóvásához a napsugárzás okozta káros hatásoktól (SUH et al., 2003), bizonyos korallokban és a velük szimbiózisban élő zooxanthella-kban biológiai antioxidánsként működhet (YAKOVLEVA et al., 2004).

2.8.5. További UV-abszorbeáló vegyületek

A kutatások középpontjában lévő scytonemin és MAA-k mellett más vegyületek is felmerültek az UV sugárzás elleni passzív védekezéssel kapcsolatban. Különböző környezeti tényezők hatására a *Dasycladus vermicularis* szifonális zöldalga képes akkumulálni és kiválasztani a szintén UV-abszorbeáló tulajdonsággal bíró 3,6,7-trihidroxikumarint (PÉREZ-

⁵⁶

RODRÍGUEZ et al., 2001). E vegyületet az MAA-khoz hasonlóan nagy abszorpció jellemzi az UV-A tartományban, ugyanakkor erőteljes antioxidáns hatást is kifejt, így valószínűleg többféle stresszkörülmény alatt is részt vesz a detoxikálási folyamatokban. Egy tengeri planktonikus *Oscillatoria* cianobaktériumban szintén találtak egy UV-A-t elnyelő, biopterin glükozidként azonosított vegyületet, mely UV-A sugárzás jelenlétében szintetizálódik, és feltehetően megóvja a sejteket az UV-A ártalmas hatásaival szemben (MATSUNAGA et al., 1993). Az előbbiektől eltérően többnyire hosszúhullámú UV-B sugárzás indukálja egy kémiailag eddig meg nem határozott UV-abszorbeáló vegyület szintézisét a *Prasiola stipitata* zöld makroalgában, mely feltételezhetően csökkenti az élőhelyét érő, napról napra változó napsugárzás negatív hatásait (GRÖNIGER és HÄDER, 2002).

3. CÉLKITŰZÉS

Hazai felszíni vizekben az UV sugárzás természetes fitoplankton együttesekre gyakorolt hatását eddig még nem tanulmányozták, a nemzetközi szakirodalomban fellelhető eredmények és következtetések alapján ugyanakkor a téma mind élettani, mind ökológiai szempontból több figyelmet érdemelne. Legnagyobb állóvizünk, a Balaton számos egyedi tulajdonsága miatt kiválóan alkalmas helyszínnek ígérkezik az UV-hatások *in situ* vizsgálatára. Ezen oknál fogva célom volt annak megállapítása, hogy a nyári időszakban, amikor a fényintenzitás a legnagyobb, milyen hatással bír az UV sugárzás a tó fitoplankton együtteseire. A hatás mértékét a fotoszintézis mérésén keresztül vizsgáltam, különös tekintettel annak vízmélység szerinti változására.

A tóban végzett kísérletek eredményeinek fényében a kutatást laboratóriumi körülmények között folytattam, mely során azt vizsgáltam, hogy egyes jellegzetes, széles körben elterjedt zöldalga és cianobaktérium fajok szaporodása és fotoszintetikus pigment tartalma miként alakul a látható fény és az UV sugárzás intenzitásának függvényében. Célom volt továbbá annak megállapítása, hogy a vizsgált tenyészetek képesek-e a védelemben szerepet játszó UV-abszorbeáló vegyületek szintézisére, illetve olyan fajok esetleges kiszűrése, melyekről a szakirodalom ilyen vonatkozásban korábban nem számolt be.

Az UV sugárzás és az algák hormontartalma közötti összefüggések feltárására eddig semmilyen formában nem került sor. Így munkám utolsó szakaszában zöldalga szinkrontenyészetekben arra kerestem a választ, hogy befolyásolja-e a sugárzás a növényi hormontartalmat, illetve annak időbeli változását, és ez összefüggésben van-e a sejtek növekedésével.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

4.1. A Balatonban végzett in situ kísérletek

Munkánk elsősorban laboratóriumi vizsgálatokból álló részét a Balatonban végzett *in situ* kísérletek előzték meg, mellyel célunk az ultraibolya sugárzás fitoplankton elsődleges termelésre gyakorolt hatásának a megismerése volt. A kísérleteket két helyszínen, a Siófoki-medencében, Tihanynál és a Keszthelyi-medencében végeztük 1999. július és augusztus hónapokban. A vízminták helyszíni inkubálásához vízszintesen felfüggesztett 21 cm hosszú, 16 mm belső átmérőjű, UV-áteresztő kvarc kémcsöveket használtunk.



1. ábra. A kísérletek során alkalmazott filterek transzmissziós spektrumai.

Az UV sugárzás elnyelését, valamint az UV-A és UV-B tartomány szétválasztását mind a terepi, mind a laboratóriumi munkához ROSCO E#130 és E-226 típusú filterekkel oldottuk meg. A laboratóriumi vizsgálatoknál használt mesterséges fényforrásokból esetlegesen emittált, de a természetben elő nem forduló rövidhullámú UV sugárzást 295 nm-es un. *cut-off* filter (Ultraphan, Digefra) felhasználásával küszöböltük ki. A

filterek fényáteresztési karakterisztikája az *1. ábrán* látható. A filterek alkalmazásával a PAR, UV-A és UV-B tartományok hatásának elkülönített tanulmányozására alkalmas kísérleti variánsok kerültek kialakításra. Az *in situ* kísérletek esetében ez három különböző kezelést jelentett. Az első variánst alkotó burkolatlan kémcsövek a PAR, UV-A és UV-B sugárzást egyaránt átengedték (PAR+UV-A+UV-B kezelés). A második és harmadik kezelésben az inkubált fitoplankton együttest csak PAR és UV-A (PAR+UV-A kezelés) ill. csak PAR sugárzás érte, attól függően, hogy a kvarckémcsövet milyen fóliával vontuk be.

A fotoszintézis vertikális profilja a korábbi balatoni kutatásoknál alkalmazott módszer szerint került meghatározásra (HERODEK és TAMÁS, 1975, 1976; HERODEK, 1977; HERODEK, VÖRÖS ÉS TÓTH, 1982). A kémcsövekbe a kísérlet helyszínén 0,50 m-es mélységből frissen gyűjtött balatonvizet mértünk ki mérőhengerrel, majd pipettával ¹⁴C izotópot tartalmazó NaHCO3-ot adtunk hozzá. Az előkészített mintákat 0,05, 0,25, 0,50, 1,00, 2,00 és ahol lehetséges volt, 2,75 m-es mélységben inkubáltuk, Tihanynál mintegy 200, Keszthelynél kb. 400 m-re a parttól. Minden mélységben a három kezelésnek megfelelően három kémcső lett vízszintesen felfüggesztve, és az önárnyékoló hatás elkerülése végett minden kémcsőhármas külön zsinórra lett felerősítve. A zsinórok másik végét egy kb. 2,5 m hosszú, két végén bójával a víz felszínén tartott réz csőre kötöztük. Hogy a szerkezetet ne sodorják el a hullámok, megfelelő súllyal az aljzathoz rögzítettük. Minden inkubáció délelőtt 10 órától délután 14 óráig tartott, melynek megkezdésével egy időben sötét párhuzamként egy alufóliával burkolt kémcsőbe kimért mintát is hasonló módon inkubáltunk. Az inkubáció leteltével a fotoszintézis leállítása céljából a minták

hűtőládába kerültek, majd közvetlenül laboratóriumba szállítás után meghatároztuk a fitoplankton elsődleges termelését és klorofill-a tartalmát.

4.1.1. A ¹⁴C-módszer

Az inkubált fitoplankton együttes elsődleges termelését ¹⁴C-módszerrel határoztuk meg (STEEMANN NIELSEN, 1952), a fotoszintézis közismert képlete figyelembevételével:

$$6 \text{ CO}_2 + 6 \text{ H}_2 \text{O} \xrightarrow{\text{fény}} C_6 \text{H}_{12} \text{O}_6 + 6 \text{ O}_2$$

A ¹⁴C-technikában a ¹⁴C izotóp fitoplankton szerves anyagba való beépülése az elsődleges termelés mérőszámának tekintethető, a módszer előnye viszonylagos egyszerűségéből és nagyfokú érzékenységéből fakad. A mintákhoz adott NaHCO₃ ¹⁴C izotópjának algákba beépült hányadát az izotóp β -sugárzásának mérésével határoztuk meg. A β -sugárzás mérésére legáltalánosabban elterjedt eljárás a folyadék szcintillációs módszer. Első lépésként a mintákat 0,45 µm pórusméretű cellulózacetát membránfilterre szűrtük, majd a filtereket sósavgőzbe helyezve a megmaradt szervetlen ¹⁴C-t (CO₃²⁻ formában) szén-dioxiddá alakítva eltávolítottuk. Az ily módon előkezelt filtereket szcintillációs küvettákban 10 ml Bray-féle szcintillációs koktélban oldottuk, és mintegy 24 óra elteltével LKB 1211-RACKBETA típusú folyadékszcintillációs számlálóval mértük az oldatok radioaktivitását.

A víz összes szénsavtartalmát 0,1 N sósavval való titrálás eredményéből és a víz pH értékéből számítottuk. A titrálást az inkubáció megkezdésekor a helyszínről mintegy 0,40 m mélyről vett, szűrt vízmintával végeztük, a jelzett szénsav hozzáadása nem változtatja meg jelentősen a víz összes szénsav tartalmát. Az algák által felvett ¹⁴C radioaktivitását elosztva a mintához adott összes ¹⁴C aktivitásával megkapjuk az felvett ¹⁴C arányát,

mely megegyezik az összes felvett szén hányadával. Így a megkötött szén tömege kiszámíthatóvá válik: az összes szén tömegét megszorozzuk a megkötött és az összes ¹⁴C radioaktivitásának hányadával, és végül az izotóphatás kiküszöbölése miatt megszorozzuk 1,06-dal. Az inkubált mintákhoz tartozó sötét párhuzamban folyó szénfixálás az egyéb szerves vegyületek lebontásából származó energiával táplált karboxilációs folyamatok eredménye, ezért ezt az értéket a kezelt minták értékéből levontuk.

4.1.2. Az elsődleges termelés számítása

Az inkubált balatonvíz fitoplanktonjának elsődleges termelését a fotoszintetikus rátával jellemeztük, ami az egységnyi idő alatt a vízminta egységnyi térfogatában asszimilálódott szén mennyiségével egyenértékű (VOLLENWEIDER, 1969; WETZEL és LIKENS, 1991):

$$P = \frac{{}^{12}C_{asszim}}{V \cdot 0.001} \cdot \frac{1}{t}$$
[1]

ahol: *P*: fotoszintetikus ráta (μ gC·l⁻¹·h⁻¹);

 $^{12}C_{aszim}$: a mintában asszimilált szén (µg);

- V: az inkubált vízminta térfogata (ml);
- t: az inkubáció időtartama (h).

A képlet alapján minden inkubációs vízmélységre külön-külön meg lehetett határozni az elsődleges termelés mennyiségét, melynek így kapott vertikális profiljából megállapítható a fotoszintetikus ráta maximum értéke (P_{max}) , valamint kifejezhető az alapterületre vonatkoztatott elsődleges termelés (P_t) . Ez utóbbi megmutatja, hogy egységnyi alapterületű vízoszlopban egységnyi idő alatt mennyi szén asszimilálódott, μ gC·m⁻²·h⁻¹ értékben.

Az elsődleges termelés gátlását a szaporodási gátlás számítására vonatkozó OECD irányelvek szerint határoztuk meg. Az 5 cm-en inkubált minták fotoszintetikus rátájából kiszámítottuk a vízoszlop mentén előforduló maximális fotoszintetikus rátához viszonyított felszíni gátlást:

$$I_{\rm Pf} = \frac{P_{\rm max} - P_{\rm f}}{P_{\rm max}} \cdot 100$$
 [2]

ahol: I_{Pf} . felszínre vonatkoztatott gátlás a P_{max} százalékában; P_{max} : a maximális fotoszintetikus ráta (μ gC·l⁻¹·h⁻¹); P_{f} : 5 cm-es mélységben mért fotoszintetikus ráta (μ gC·l⁻¹·h⁻¹).

Az alapterületre vonatkoztatott elsődleges termelés gátlása szintén meghatározásra került, a következő képlet alapján:

$$I_{Pt} = \frac{P_{tPAR} - P_{tUV}}{P_{tPAR}} \cdot 100$$
[3]

ahol: I_{Pt} : alapterületre vonatkoztatott gátlás a PAR+UV-A, ill. PAR+UV-A+UV-B kezelésre számítva a P_{tPAR} százalékában; P_{tPAR} : alapterületre vonatkoztatott elsődleges termelés a PAR kezelésnél (μ gC·m⁻²·h⁻¹); P_{tUV} : alapterületre vonatkoztatott elsődleges termelés a PAR+UV-A és PAR+UV-A+UV-B kezelésnél (μ gC·m⁻²·h⁻¹).

4.1.3. Klorofill-a tartalom meghatározása

A klorofill-a koncentrációját mind az *in situ*, mind a laboratóriumi kísérletekben forró metanolos extrakciót követő spektrofotometriás eljárással határoztuk meg (NÉMETH, 1998). A klorofill-a koncentráció a fitoplankton biomassza becslésére széles körben használt mérőszám.

A klorofill-a mennyiségi meghatározása az inkubáció kezdetekor a helyszínen vett, izotóppal nem jelölt vízmintából történt. A mintából homogenizálás után mérőhengerrel kimért mennyiséget Whatman GF/F üvegrost filteren szűrtünk át, majd a filtert egy kémcsőbe helyeztük, melybe ezt követően 5 ml 95%-os metanolt pipettáztunk (metanolos extrahálás), és kb. 5 percig állni hagytuk. A kioldódás folyamatának felgyorsítása érdekében a metanolt 1 percig forraltuk. Az így kapott pigmentkivonatot 5 ml-es műanyag fiolába öntöttük át, melyet a lebegőanyagtól 5 perces centrifugálással tisztítottunk meg. Ezután, ügyelve arra, hogy a leülepedett frakció a fiola alján maradjon, a fiola tartalmát kvarc küvettába öntöttük. A spektrofotométert 95%-os metanollal kalibráltuk, majd a kivonatot tartalmazó 1 cm-es pásztaszélességű kvarc küvettát a fotométerbe helyezve 750, 666 és 653 nm-en mértük az extinkciót.

A pigmentkivonat klorofill-a koncentrációja az alábbi képlettel számítható:

$$C_a = 17,12 \cdot (E_{666} - E_{750}) - 8,68 \cdot (E_{653} - E_{750})$$
[4]

ahol: E_{653} , E_{666} , E_{750} : a pigmentkivonat 653, 666 és 750 nm-en mért abszorpció értékei;

 C_a : a klorofill-a koncentrációja (mg·l⁻¹).

A képletből számított értéket átszámítva az extraktum térfogatára, és elosztva a leszűrt vízminta térfogatával megkapjuk a begyűjtött vízminta klorofill-a tartalmát.

Ha a fotoszintetikus aktivitást elosztjuk a klorofill-a tartalommal, megkapjuk az un. klorofill hatásfokot vagy asszimilációs számot (An), melyet az 5 cm mélyen inkubált és a maximális fotoszintetikus rátát mutató mintákra számítottunk ki. Ennek értelmében az asszimilációs szám kifejezi,

⁶⁴

hogy egységnyi idő alatt egységnyi tömegű klorofill-a-ra mennyi megkötött szén esik (μ gC· μ gklorofill-a⁻¹· h^{-1}).

4.1.4. Fénymérés

A felszínen és az inkubációs mélységekben a látható fény (PAR sugárzás) intenzitását LI-COR LI-185B típusú radiométerrel, síkfelületű (2π) szenzorral mértük. A méréseket a limnológiai gyakorlatnak megfelelően függőleges helyzetű szenzorral végeztük. A kísérletek kezdetén különböző mélységekben mért fényintenzitásokból a víz vertikális extinkciós koefficiensét a Lambert-Beer törvény alapján számítottuk ki:

$$I_n = I_0 \cdot e^{K_d \cdot n} \tag{5}$$

ahol: I_0 : a felszínre eső fényintenzitás;

 I_n : *n* méteres mélységben mért fényintenzitás;

 K_d : adott vízrétegre jellemző extinkciós koefficiens (m⁻¹).

Az egyenletet átrendezve a koefficiens értéke:

$$K_{d} = \frac{1}{n} \cdot (\ln I_{0} - \ln I_{n})$$
[6]

Az extinkciós koefficiensből meghatározható az a vízmélység, amelynél a sugárzás a felszíni intenzitás 1%-ára csökken. Ezt a mélységet eufotikus mélységnek (z_{eu}) nevezzük (KIRK, 1994). Feltételezve, hogy a látható fény extinkciós koefficiense a vízoszlop mentén megközelítőleg változatlan, az eufotikus mélység az alábbi képlettel számítható:

$$z_{eu} = \frac{4.6}{K_d}$$
[7]

Az Országos Meteorológiai szolgálattól beszerzett, inkubációs napokra vonatkozó globálsugárzás (J·cm⁻²) óránkénti értékeiből meghatároztuk a

⁶⁵

kísérletek időtartama alatt beérkező globálsugárzást. A továbbiakban megvizsgáltuk, a fitoplankton fotoszintézise milyen kapcsolatban állhat a sugárzással és a vízoszlopban uralkodó fényviszonyokkal. Ennek érdekében a PAR+UV-A+UV-B kezelések esetén mért felszín közeli fotoszintetikus gátlás, az extinkciós koefficiens és a globálsugárzás értékeire két független változós regresszióanalízist végeztünk (SVÁB, 1981). Ez alapján lényegében azt vizsgáltuk, hogy a fotoszintézis gátlása (a függő változó) hogyan ill. milyen mértékben függ az extinkciós koefficienstől és a globálsugárzástól (a független változóktól). Az összefüggés általános egyenlete:

$$Y' = a + b_1 \cdot X_1 + b_2 \cdot X_2$$
 [8]

ahol: *Y*': a függő változó számított értéke;

 X_1 és X_2 : független változók;

a: regressziós állandó;

 b_1 és b_2 : parciális regressziós koefficiensek.

A többszörös determinációs koefficiens (R^2) kiszámítása után annak négyzetgyökét véve megkapjuk a többszörös korrelációs koefficienst, mely kifejezi, hogy a függő változó a [8] egyenlet szerint milyen szorosan függ össze a két független változó együttes hatásával:

$$R^2 = \frac{SQ_R}{SQ_Y}$$
[9]

ahol: R^2 : a többszörös determinációs koefficiens;

SQ_Y: a függő változó eltérésnégyzet összege;

SQ_R: az *SQ_Y* értékének azon része, amely a független változók hatásának tulajdonítható, lineáris összefüggést feltételezve.

Az összefüggés statisztikai próbáját R=0 nullhipotézissel szemben a regresszióanalízis F-próbája adja meg.

4.2. Desmodesmus armatus zöldalga vizsgálata PAR és UV-A sugárzás függvényében

Az *in situ* kísérleteket követően további vizsgálatainkat laboratóriumi körülmények között, mesterséges fényforrásokat alkalmazva végeztük. Előzetes vizsgálatunk a Balaton fitoplanktonjában is fellelhető *Desmodesmus armatus* zöldalga szaporodásában, pigmenttartalmában és morfológiájában fellépő, UV-A sugárzás okozta változásokra terjedt ki.

4.2.1. A kísérleti berendezés és a kísérlet menete

Kísérletünket állandó hőmérsékleten (23°C) 14 és 10 óra világos, ill. sötét periódus mellett végeztük. A fényforrásokat és az algatenyészeteket salgó-elemekből összeszerelt állványra rögzítettük, ezáltal egy elhelyezkedésük a kezelésekhez igényelt fényviszonyoknak megfelelően állíthatóvá vált. A kísérletek három párhuzamban folytak, az in situ vizsgálatban használt kvarc csövek és fóliák felhasználásával. Ebben az esetben az in situ eredmények alapján jelentős változást eredményező UV-A sugárzás hatásának vizsgálata céljából két kezelést alakítottunk ki, egyikben a tenyészeteket csak PAR sugárzás, míg a másikban PAR+UV-A sugárzás mellett szaporítottuk. A tenyészeteket BG-11 tápoldatban szuszpendáltuk (RIPPKA et al., 1979), összetevőit a 2-3. táblázat tartalmazza.

A beoltást lamináris boksz alatt végeztük, a kémcsövekbe 30 ml tápoldathoz a tenyészet töménységétől függően mintegy 50-100 μ l algaszuszpenziót pipettáztunk. Ezt követően a mintákat homogenizáltuk, illetve a 3.1.3. fejezetben leírt módszerrel megmértük a kezdeti klorofill-a koncentrációt. A kísérletnél alkalmazott fényforrásokat a 3.3. fejezetben

ismertetjük. Kísérleteink során 3,75 mW·cm⁻² intenzitású UV-A sugárzás hatását vizsgáltuk több különböző intenzitású PAR sugárzás mellett. Így a PAR és PAR+UV-A kezeléseknek kitett tenyészeteket öt különböző, 30, 100, 200, 400, illetve 800 µmol·m⁻²·s⁻¹-os PAR intenzitáson szaporítottuk, 14 óra világos és 10 óra sötét periódust, valamint 23°C-os hőmérsékletet alkalmazva. A szuszpenziók levegőztetését és folyamatos homogenizálását "Ciklon" légpumpával biztosítottuk. Az inkubáció alatt naponta mértük a tenyészetek klorofill-a koncentrációját. Egy kísérlet a szaporodástól függően 4-6 napig tartott. A pigmentösszetétel vizsgálata céljából minden kísérlet végén felvettük a tenyészetek metanolos extraktumának spektrumát és meghatároztuk klorofill-a tartalmukat. Esetleges morfológiai változások nyomon követése érdekében algaszámlálás és fotografálás céljára minden mintából bizonyos mennyiséget Lugol-oldattal tartósítottuk.

Összetevők	Koncentráció (mg·l ⁻¹)
Na ₂ EDTA	1
Citromsav	6
NaNO ₃	1500
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	40
MgSO ₄ ·7H ₂ O	75
CaCl ₂ ·2H ₂ O	36
Na ₂ CO ₃	20
Vas(III)NH ₄ -citrát	6
A ₅ +Co mikroelem oldat	$1 \text{ ml} \cdot \text{l}^{-1}$

2. tábázat. A BG-11 tápoldat összetétele.

Összetevők	Koncentráció (g·l ⁻¹)
H ₃ BO ₃	2,86
MnCl ₂ ·4H ₂ O	1,81
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0,22
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,08
NaMoO ₄ ·2H ₂ O	0,39
$Co(NO_3)_2 \cdot 2H_2O$	0,049

3. táblázat. Az A5+Co mikroelem oldat összetétele.

4.2.2. A szaporodás mérése

A tenyészetek szaporodását HITACHI F-4500 típusú fluoriméterrel követtük nyomon, mely a kísérlet helyszínéül szolgáló Balatoni Limnológiai Kutatóntézetben rendelkezésünkre állt. A szaporodás a klorofill-a naponta mért koncentrációjának változása alapján került meghatározásra, melynek elvégzésére a spektrofotometriás eljáráshoz viszonyítva kevésbé idő- és munkaigényes, illetve kisebb mintatérfogatot igénylő fluorimetriás módszer alkalmasabbnak bizonyult.

A fluorimetria elvének megfelelően a klorofill-a molekulák a kék és vörös hullámhossz-tartományban sugárzott fény energiáját elnyelve, gerjesztett állapotban az energia egy részét fluoreszcencia emisszió formájában leadják, ami fotoelektronsokszorozóval vagy fotodiódával detektálható. Esetünkben a gerjesztési (excitációs) hullámhossz 650 nm, a detektált emissziós hullámhossz 682 nm volt. Tenyészetenként 1-1 ml-t műanyag fiolákba pipettáztunk, hozzáadtunk 10 µl DCMU-t (3-(3,4diklorofenil)-1,1-dimetilureát), majd a mintákat 5 percre sötétbe helyeztük. DCMU hozzáadásával gátolható a PSII elektrontranszportja, miáltal az elnyelt energiának eredetileg csupán 1%-át kitevő fluoreszcenciás veszteség
3%-ra növelhető. Öt perc leteltével a mintákat 1 cm pásztaszélességű kvarcküvettába öntöttük, és a fluoriméterbe helyezve mértük az emissziót. A fluoreszcencia intenzitásának detektált értékeiből egy kalibrációs görbe alapján meghatározható a klorofill-a koncentráció. Külön a *Desmodesmus* nemzetség vizsgálatára készített kalibrációs görbe egyenlete az alábbi volt:

$$c = 0,0047 \cdot d^2 + 1,9464 \cdot d + 9,4041$$
[10]

ahol: *c*: klorofill-a koncentráció ($\mu g \cdot l^{-1}$);

d: a fluoreszcencia intenzitás értéke.

A naponta mért klorofill-a koncentrációból meghatározható a tenyészetek szaporodási rátája (μ), mely OECD irányelvek alapján a következő képlettel számítható:

$$\mu = \frac{\ln N_n - \ln N_1}{t_n - t_1}$$
[11]

ahol: μ: szaporodási ráta (h⁻¹)

N₁: t₁ időpontban mért klorofill-a koncentráció ($\mu g \cdot l^{-1}$);

 N_n : t_n időpontban mért klorofill-a koncentráció (µg·l⁻¹).

A kezelések összehasonlításakor az exponenciális fázisban elért maximális szaporodási rátát vettük figyelembe.

4.2.3. Az UV-A sugárzás okozta gátlás meghatározása

A szaporodási gátlás mértékének OECD irányelvek szerinti meghatározásához első lépésben kiszámítottuk a szaporodási görbék alatti terület nagyságát:

$$A = \frac{N_1 + N_0}{2 \cdot t_1} + \frac{N_1 + N_2 - 2 \cdot N_0}{2 \cdot (t_2 - t_1)} + \dots + \frac{N_{n-1} + N_n - 2 \cdot N_0}{t_n - t_{n-1}}$$
[12]

ahol: N₀: t₀ időpontban mért klorofill-a koncentráció ($\mu g \cdot l^{-1}$);

 N_n : t_n időpontban mért klorofill-a koncentráció ($\mu g \cdot l^{-1}$);

A: a görbe alatti terület.

A gátlást kétféleképpen határoztuk meg. A területek alapján számított százalékos gátlás a következő képlettel számítható:

$$I_{A} = \frac{A_{c} - A_{t}}{A_{c} \cdot 100}$$
[13]

- ahol: A_c: PAR sugárzásnak kitett tenyészetek szaporodási görbéje alatti terület;
 - A_c: PAR+UV-A sugárzásnak kitett tenyészetek szaporodási görbéje alatti terület;
 - I_A: a gátlás százalékos értéke.

A maximális szaporodási ráták alapján kapott gátlás:

$$I_{\mu} = \frac{\mu_c - \mu_t}{\mu_c \cdot 100}$$
[14]

- ahol: μ_c: PAR sugárzásnak kitett tenyészetek maximális szaporodási rátája;
 - μ_c: PAR+UV-A sugárzásnak kitett tenyészetek maximális szaporodási rátája;
 - I_{μ} : a gátlás százalékos értéke.

4.2.4. Abszorpciós spektrumok felvétele, karotinoid-tartalom meghatározása

A már ismertetett forró metanolos extrakció után SHIMADZU UV-VIS spektrofotométerrel 300 és 800 nm között felvettük az extraktumok abszorpciós spektrumát. A tenyészetek pigmentösszetétele közötti eltérések megállapítása érdekében az abszorpciós spektrumokat klorofill-a-ra normáltuk, vagyis minden értéküket elosztottuk a klorofill-a 666 nm-en mért abszorpciós maximumával.

A tenyészetek klorofill-a koncentrációját az in situ kísérleteknél leírt módon számítottuk ki. A pigmentkivonatok összkarotinoid tartalmát az abszorpciós spektrumokból, WELLBURN (1994) képlete alapján határoztuk meg:

$$C_{car} = \frac{10^{3} \cdot A_{470} - 2,86 \cdot (15,65 \cdot A_{666} - 7,34 \cdot A_{653}) - 129,2 \cdot (27,05 \cdot A_{653} - 11,21 \cdot A_{666})}{221}$$
[15]

ahol: C_{car}: összkarotinoid koncentráció (mg·l⁻¹);

A₄₇₀, A₆₅₃, A₆₆₆: az extraktum abszorpciója 470, 653 ill. 666 nm-en.

A klorofill-a mennyiségi meghatározásához hasonlóan, a kapott értéket átszámítva az extraktum térfogatára és elosztva a leszűrt minta térfogatával megkapjuk a tenyészet összkarotinoid tartalmát. A karotinoidok mennyiségét elosztva a klorofill-a tartalommal meghatároztuk a tenyészetek karotinoid/klorofill-a arányát.

4.2.5. Algaszámlálás fordított planktonmikroszkóppal

Az algaszámlálást UTERMÖHL (1958) fordított mikroszkópos módszere alapján végeztük. Minden egyes inkubációt követően a mintákból 5-5 ml-t 50 µl ecetsavas Lugol-oldattal rögzítettünk. Az eljárásnak megfelelően a tenyészetekből vett mintákhoz homogenizálást és hígítást követően újból 50 µl Lugol-oldatot adtunk, így a kálium-jodid sejtekhez tapadásával az ülepedés felgyorsítható. Az előkészített mintákat 2 ml-es számlálókamrákba öntöttük, fedőlemezzel légmentesen lezártuk, majd kb. egy órán át ülepedni

hagytuk. A számláló kamra fenéklemezére leülepedett sejteket Zeiss gyártmányú fordított mikroszkóppal számoltuk meg. A mikroszkóp okulárjában lévő párhuzamos vonalak által határolt mezőszélességet tárgymikrométerrel 100 µm-re állítottuk. Az algákat 40-szeres nagyítású objektívvel, a számlálókamra átlója mentén számoltuk, külön a kettő, négy, ill. nyolc sejtből álló cönóbiumokat. Az átló hosszát a mezőszélességgel szorozva megkapjuk a vizsgált terület nagyságát, melynek segítségével a kamra térfogatának és a hígítás mértékének ismeretében kiszámítható az egységnyi térfogatban lévő algák száma. A végleges értékeket nem a cönóbiumok, hanem az azokat alkotó sejtek száma adta.

A klorofill-a és karotinoid koncentrációt elosztva a térfogategységnyi sejtszámmal kapjuk a sejtek klorofill-a és karotinoid tartalmát fg·sejt⁻¹ dimenzióban.

4.3. Laboratóriumi tenyészetekkel végzett vizsgálatok

4.3.1. UV-A és UV-B sugárzásnak kitett zöldalga és cianobaktérium tenyészetek szaporodásának és pigmenttartalmának vizsgálata

Kísérleteinket a Nyugat-Magyarországi Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Karának Növényélettan és Növényi Biotechnológia Tanszékén folytattuk tovább, a vizsgált cianobaktérium és zöldalga törzsek a tanszéken fenntartott alga törzsgyűjteményből (Mosonmagyaróvár Algal Culture Collection – MACC) származtak. A törzsek megnevezése és származási helye a *4. táblázatban* található, a *2a/2.b ábrán* a törzsekről készített mikroszkópos felvételek láthatók.

Törzsszám	Faj	Származás helye					
	Zöldalgák	(Chlorophyta)					
MACC-203	Pseudochlorococcum	Culture Collection of Microalgae					
	typicum	IPPAS, Institute of Plant Physiology,					
		Russian Academy of Sciences,					
		Moszkva					
MACC-458	Chlorella sp.	Brazília, tóparti kékes-feketés					
		foltszerű képződmény					
MACC-469	Scenedesmus sp.	Brazília, nedves kövön elterülő kékes,					
		zselés algaszőnyeg					
MACC-534	Coenochloris sp.	Brazília, tóparti száraz talajfelszínen					
		elterülő fekete folt					
	Cianobaktérium	nok (Cyanobacteria)					
MACC-277	Cylindrospermopsis	Balaton					
	raciborskii						
MACC-304	Anabaena sphaerica	Culture Collection of Microalgae					
		IPPAS, Institute of Plant Physiology,					
		Russian Academy of Sciences,					
		Moszkva					
MACC-541	Synechococcus	Pantanal (Brazília), nedves, homokos					
	elongatus	talajfelszínen elterülő zöld színű					
		algaszőnyeg					
-	Microcystis	Debreceni Egyetem, Növénytani					
	aeruginosa	Tanszék (Velencei-tóról izolált törzs)					

4. táblázat. A kísérletek során vizsgált zöldalga és cianobaktérium törzsek.

Agarról történő átoltást követően a tenyészeteket BG-11 tápoldatban szaporítottuk 250 ml-es Erlenmeyer-lombikokban egy héten keresztül 25°Con 14 és 10 óra fény, ill. sötét periódust alkalmazva. Ezt követően a tenyészetekből 150 ml-t 35 mm átmérőjű, 30 cm hosszú kvarccsövekben inkubáltunk 10 mg·l⁻¹-re beállított kezdeti szárazanyag tartalommal. Minden átoltást és mintavételt lamináris boksz alatt végeztünk. A kvarccsöveket naponta 14 órán át különböző intenzitású fotoszintetikusan aktív, UV-A ill. UV-B sugárzásnak tettük ki egy erre a célra kialakított berendezésben (*4. ábra*). A fotoszintetikusan aktív sugárzást Philips CDM-TD 150W/942

típusú lámpával, az UV-A ill. UV-B sugárzást Philips TLD 36W/08 ill. TL 40W/12 típusú fénycsővel biztosítottuk (*3. ábra*). A kontroll (ultraibolya sugárzás nélküli) kezelés Rosco 3114 típusú UV-szűrő fóliával beburkolt kvarccsövekkel került kialakításra. A tenyészetek homogén eloszlását és levegőztetését légpumpával biztosítottuk. Fényintenzitás és hullámhossz-tartomány szerint az alkalmazott fényforrások segítségével az alábbi kísérleti kezelések kerültek kialakításra, három ismétlésben:

PAR intenzitás	Kezelések					
85	Kontroll	PAR+UV-A	PAR+UV-A+UV-B			
µmol·m ⁻² ·s ⁻¹	$\operatorname{umol} \cdot \mathrm{m}^{-2} \cdot \mathrm{s}^{-1}$ (PAR)	(UV-A=1,00)mW·cm ⁻²)	$(UV-A = 1,00 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2};$ UV-B = 0,12 mW \cm^{-2})			
250	Kontroll	PAR+UV-A				
µmol·m ⁻² ·s ⁻¹	(PAR)	(UV-A=1,00)mW·cm ⁻²)	_			

A *Desmodesmus armatus* esetében kapott eredményeink több irodalmi forrással egybehangzóan rámutattak arra, hogy a sugárzás intenzitása és összetétele függvényében a sejtek fotoszintetikus pigment tartalma jelentős mértékben változhat. Ezen oknál fogva a kísérletek kiterjesztésekor a szaporodást a klorofill-a tartalom helyett az optikai denzitás mérésével határoztuk meg, mely egyszerűségéből kifolyólag a nagyszámú kísérlet elvégzéséhez is alkalmasabb volt. Ennek megfelelően hét napon keresztül naponta mértük a tenyészetek optikai denzitását, kétnaponta klorofill-a tartalmának változását. Az optikai denzitás meghatározása Cary 50 UV-Vis spektrofotométerrel, a tenyészetek 750 nm-en detektált abszorpciójának mérésével történt. A klorofill-a koncentrációját a 3.1.3. fejezetben tárgyalt metanolos extrakciót követően szintén fotométerrel határoztuk meg. Az

utolsó mintavétel alkalmával az extraktumok abszorpciós spektrumai is felvételre kerültek, melyekből a 3.2.4. fejezetben szereplő 20. egyenlet segítségével kiszámítottuk a tenyészetek összkarotinoid tartalmát.

Kísérleteink végén megmértük a tenyészetek szárazanyag tartalmát. A szuszpenzió töménységétől függően 5-10 ml-t Whatman GF/C filterre szűrtünk, a filtereket 2 órára szárítószekrénybe helyezve 105°C-on szárítottuk. Ezt követően a légszáraz filtereket exikátorban lehűtöttük, majd analitikai mérleggel meghatároztuk tömegüket. A szűrt filterek tömegéből kivonva előzetesen lemért, eredeti tömegüket, majd a kapott különbséget elosztva a leszűrt szuszpenzió térfogatával mg·l⁻¹-ben megkaptuk a tenyészetek szárazanyag tartalmát.



2.a ábra. A vizsgált törzsekről készített mikroszkópos felvételek. A: MACC-203 (*Pseudochlorococcum typicum*); B: MACC-458 (*Chlorella sp.*).



2.b ábra. A vizsgált törzsekről készített mikroszkópos felvételek. C: MACC-469 (Scenedesmus sp.);
D: MACC-277 (Cylindrospermopsis raciborskii); E: MACC-304 (Anabaena sphaerica); F: MACC-541 (Synechococcus elongatus).
A felvételek illusztrációk, nagyításuk képszerkesztési okokból nem azonos.



3. ábra. A kísérletek során alkalmazott fényforrások gyártó által közölt emissziós spektruma. (A: Philips CDM-TD 150W/942, B: Philips TLD 36W/08, C: Philips TL 40W/12).



4. ábra. A laboratóriumi törzsek PAR, UV-A és UV-B sugárzással történő kezelésére kialakított berendezés.

4.3.2. Mycosporine-szerű aminosavak (MAA-k) HPLC-s meghatározása

Az MAA-k extrahálása és azonosítása SINHA et al. (1999*a*) módszere alapján történt. A vegyületcsoport mikroalgákból történő egyértelmű kimutatására alkalmas eljárás bizonyos lépéseit a 3.3.1. fejezetben bemutatott kísérleti beállításaink függvényében módosítottuk. E módszert alkalmaztuk az MAA szintetizálására képes törzsek kiszűrésénél és további vizsgálatánál is.

A szűrés során az inkubáció a szaporodástól függően 10-14 napig tartott, vagyis amíg az extraháláshoz és kimutatáshoz elegendő mennyiségű biomassza nem szintetizálódott. Az MAA szintetizálására képes fajokkal végzett kísérletekben a szaporítás 10 napos időtartama alatt a 7. és 10. napokon végeztünk mintavételt, mely tenyészetenként 50 ml szuszpenzió kipipettázását jelentette. A mintázott mennyiség 20 ml-éből a 3.3.1. fejezetben ismertetett módon meghatároztuk a tenyészetek szárazanyag

tartalmát, a fennmaradó 30 ml-t 15 ml-es centrifuga csövekbe kétfelé osztottuk, majd a továbbiakban MAA-meghatározásra használtuk. Sűrű tenyészetek esetében a centrifugálandó szuszpenzió mennyiségét arányosan csökkentettük.

Az MAA-k kimutatása Cary 50 UV-Vis spektrofotométerrel történt, azonosításukhoz Waters W2690 szeparációs modulból, valamint W996 diódasoros UV/VIS detektorból álló HPLC berendezést alkalmaztunk. Az MAA-k kivonásának és a kivonatok részleges tisztításának első lépéseként a centrifugába helyeztük, 15 ml-es csöveket majd a mintákat szobahőmérsékleten 10 percig 1500g értéken centrifugáltuk. A lecentrifugált szuszpenziók felülúszójának pipettás eltávolítását követően az egyik centrifugacsőbe a leülepedett tenyészet mennyiségétől függően 2-5 ml 20%os, míg a másikba 100%-os metanolt pipettáztunk. 100%-os metanollal a klorofill-a, a karotinoidok és az MAA-k együtt kerülnek kivonásra, 20%-os metanollal történő extrahálással ezzel szemben viszonylag tiszta MAA kivonat nyerhető. A 20%-os metanolos extrahálást 2,5 órás 45°C-os vízfürdőben végeztük, a 100%-os metanolos extraktumokat egy éjszakára 4°C-on inkubáltuk. Az inkubáció leteltével a kivonatokat 15 percig 5000g-n centrifugáltuk, majd a fotométerrel és küvettával felvettük a felülúszók abszorpciós spektrumát, melyen MAA-k jelenléte esetén 300 és 360 nm között markáns csúcs jelentkezik.

Az MAA-k HPLC-s azonosításához a 20%-os metanolos extraktumot használtuk. A fotometrálás után az extraktum felülúszójából 1-1 ml-t 3 darab 1,5 ml-es Eppendorf csőbe pipettáztunk, majd Thermo Scientific Savant SPD 1010 Speedvac típusú bepárló készülékkel 45°C-on elpárologtattuk. Az Eppendorf csöveket a párologtatás után visszamaradt anyaggal együtt a HPLC vizsgálatig -15°C-on tároltuk. A HPLC-s vizsgálat

első lépéseként a kivonatokat 1 ml 0,2%-os ecetsavba oldottuk vissza. 2,5 perces vortexelés után az oldatokat 0,2 µm-es pórusméretű fecskendőszűrőn szűrtük át, majd az így kapott részlegesen tisztított MAA kivonatok az előtét oszlopos LiCrospher RP 18 kromatográfiás oszloppal felszerelt HPLC rendszerbe kerültek. A kromatográfiás oszlop belső mérete 4x250 mm, szemcsemérete 5 µm. A kivonatok beinjektálása 50 µl mintatérfogatban történt. 1 ml·min⁻¹ áramlási sebesség és 0,2%-os ecetsavas mobil fázis alkalmazása mellett a detektálási hullámhosszt 330 nm-re állítottuk. Az MAA-k azonosítása többféle standard abszorpciós spektrumával és retenciós idejével történő összehasonlítás útján történt. A standard-ek ismert MAA összetételű, tengeri makroalgák (Porphyra sp., Polysiphonia fastigiata, Jania rubens, Dumontia contorta, Gelidium crinale), valamint egy cianobaktérium faj (Lyngbya sp.) liofilizált mintáinak extrahálásával készültek, Dr. Donat-P. Häder jóvoltából (Institut für Botanik und Pharmazeutische Biologie, Friedrich-Alexander Universität, Erlangen, Németország).

4.3.3. Az UV-A sugárzás Chlorella szinkrontenyészet szaporodására és hormon tartalmára gyakorolt hatásának vizsgálata

A vizsgált törzsek közül az MACC-458-as *Chlorella* törzsnél szinkrontenyészetekben vizsgáltuk az UV-A sugárzás hormontartalomra kifejtett hatását, így megfelelő gyakoriságú mintavétellel nyomon követhető a sejtek osztódása, növekedése és hormontartalmának változása. A szinkronizálást többszöri átoltással a következőképp értük el:

 A törzseket agarról két Erlenmeyer lombikba, 250-250 ml BG-11 tápoldatba oltottuk át, majd egy hétig 24°C-on, 14:10 óra világos:sötét fázisban levegőpumpás keveréssel szaporítottuk.

- A szaporítás leteltével a lombikok tartalmát összeöntöttük, majd a fényszakasz kezdetekor 10 mg l⁻¹ kezdeti szárazanyaggal friss BG-11 tápoldatba oltottuk át.
- 24 óra elteltével a tenyészetet 10-szeres hígítással újra átoltottuk (25 ml-t 250 ml friss BG-11 tápoldatba).
- 4. A hígítást 24 óra múlva (a fényszakasz kezdetkor) megismételtük, az átoltás ezúttal a kvarc csövekbe történt (15 ml-t 150 ml BG-11 tápoldatba), 3 ismétlésben, a korábbi fejezetekben ismertetett PAR és PAR+UV-A kezelésekben, 85 μmol·m⁻²·s⁻¹ PAR sugárzást alkalmazva. Az ily módon szinkronizált tenyészetekből a sötét szakasztól kezdődően a rákövetkező fényszakasz végéig kétóránként mintát vettünk: 1,2-1,5 ml-t a hormontartalom meghatározásához, 2 ml-t mikrofotografálás céljából. A hormon meghatározáshoz vett mintákat a vizsgálatok kezdetéig -24°Con tároltuk, mikrofotografáláshoz a mintákat Lugol oldattal rögzítettük.

А mikrofotografáláshoz Olympus **BX60** fénymikroszkóphoz csatlakoztatott SIS View FireWire ColorViewII digitális kamerát és Bürker kamrát használtunk. A felvételek 10-szeres nagyítású objektívvel készültek. A számítógéppel online kapcsolatban álló kamerával készült felvételeket analySIS képfeldolgozó programmal értékeltük ki, meghatároztuk a sejtszámot, majd a megszámolt sejteket mérettartományok szerint osztályoztuk. Az alkalmazott programmal a mikroszkópos felvételek a pixelek alapszín (piros, zöld és kék) értékei alapján különböző fázisokra bonthatók. Jelen esetben két fázist határoztunk meg: az egyikbe tartoztak a sejtek sötétebb pixelei, míg a másikba a világosabb hátteret alkotó összes többi pixel. Ily módon a program képes a sejteket a háttértől elkülöníteni és megszámolni.

Mérettartomány száma	Sejtkeresztmetszet területe (μm^{-2})
1	>5
2	5-10
3	10-15
4	15-20
5	20-25
6	25-30
7	30-35
8	35-40
9	40-45
10	45<

A sejtek méret szerinti osztályokba sorolása keresztmetszetük területe alapján történt, az alábbiak szerint:

A felvételeken meghatározott, pixelekből álló területek valós értékekké (μ m⁻²-ré) való átszámítását a program egy kalibrációs görbe segítségével végzi. A görbe egy tárgymikrométer mikroszkópos felvételén látható távolságok valódi értékeik függvényében való ábrázolásából kapható. Ez alapján meghatározható a felvételek valódi mérete, ami 10-szeres nagyítású objektív esetében 715,6·531,2 µm. Ezt megszorozva a Bürker kamra belső terének 100 µm-es magasságával kapjuk az egy felvételre eső térfogat nagyságát (3,8*10⁻⁵ ml), mellyel már kiszámíthatóvá válik az egységnyi térfogatra eső sejtszám. A Lugol-oldattal fixált sejtek rövid idő alatt a Bürker kamra aljára ülepednek.

4.3.4. Chlorella szinkrontenyészetek növényi hormon tartalmának meghatározása ELISA teszttel

A szinkrontenyésztés során vett mintákban előforduló növényi hormonok kimutatását az olmützi egyetem növekedésszabályozó anyagokra szakosodott laboratóriumában végeztük (Palacký University, Laboratory of

Growth Regulators, Olomouc, Csehország). A minták szállítása fagyasztott állapotban történt. A meghatározáshoz ELISA tesztet (Enzyme-linked immunosorbent assay) használtunk, melyet WEILER et al. (1981) módosított módszere alapján hajtottunk végre. Az ELISA teszt nagy érzékenységű, magas specifitású immundiagnosztikai technika, mely a kompetitív kötődés elvét alapul véve alkalmas 0,01-50 pmol növekedésszabályozó anyag 50 µl részlegesen tiszta növényi kivonatból való kimutatására. Első lépéseként az ELISA lemezek (un. plate-ek) reakciós üregeinek felületét hormonspecifikus antitestekkel vonjuk be. A reakciós üregekben az ismeretlen mennyiségű hormont tartalmazó növényi kivonatból vett mintát ismert mennyiségű hormon-alkáli foszfatáz konjugátummal, un. tracer-rel keverjük össze, melyek reakcióba lépnek az üreg falán lévő korlátozott számú antitesttel. Az inkubáció alatt a mintában lévő hormon és a tracer között verseny alakul ki az antitest kötőhelyekért. Az inkubáció leteltével a meg nem kötött hormon és tracer valamint a növényi kivonat kimosásra kerül. Ezután a reakciós üregbe szubsztrátumként p-nitrofenilfoszfát kerül, mely elreagál az antitestekhez kötött tracer-rel. Az így keletkező sárga színű termék, a para-nitrofenol abszorpciója fordítottan arányos a mintában jelenlévő hormon mennyiségével. A mért abszorpcióból a hormon koncentrációjának meghatározása kalibrációs görbe segítségével történik, amit a mintákkal párhuzamosan, ELISA teszttel elreagáltatott standard oldatokból kapunk.

A lemezeket üregenként 150 μ l egér anti-hormon antitest oldattal vontuk be (a készítménytől függően 2-6 μ l törzsoldat 15 ml 9,6 pH-jú, 50mM NaHCO₃ pufferben feloldva), majd egy éjszakán át 4°C-on inkubáltuk. Ezután a lemezeket egymást követően kétszer desztillált vízzel mostuk át a kötetlenül maradt antitestek eltávolítása végett. Eközben a

fagyasztva tárolt mintákat ultrahangos vízfürdőben kiolvasztottuk, majd vortexeltük. Az átmosott üregekbe 200 μ l TBS pufferben (pH 7,5) oldott bovine serum albumine-t adagoltunk (200 mg·l⁻¹), majd a lemezeket 1 óra hosszat 25°C-on inkubáltuk. A TBS puffer összetétele az alábbi:

$$\begin{array}{c} - & 6,05 \text{ g} \cdot l^{-1} \text{ Tris puffer} \\ - & 0,584 \text{ g} \cdot l^{-1} \text{ NaCl} \\ - & 0,203 \text{ g} \cdot l^{-1} \text{ MgCl}_2 \end{array} \right\} \quad 0,02\% \text{-os NaN}_3\text{-ban oldva.}$$

A puffer kiöntését és kétszeri desztillált vizes mosást követően a reakciós üregekbe puffert, alga mintát és *tracer*-t pipettáztunk a következő sorrendben:

- 1. 50 µl TBS puffer
- 2. 50 µl minta vagy TBS-ben oldott standard
- 50 μl *tracer* oldat (hormontól függően 2-3 μl törzsoldat 5 ml TBS- bovine serum albumine pufferben oldva).

Egy órás 25°C-os inkubációt követően a kötetlen konjugátumokat a lemezek kétszeri TBS pufferes és kétszeri desztillált vizes átmosásával távolítottuk el. Rögtön ezután a reakciós üregekbe szubsztrátumként 150 µl p-nitrofenilfoszfát oldatot pipettáztunk (1 mg·ml⁻¹-es koncentrációban 50mM, 9,6 pH-jú NaHCO₃ oldatban oldva). A reakciót 1 órás 25°C-os inkubációt követően 50 µl 0,5M NaOH hozzáadásával állítottuk le, majd egy Titertek Multiscan PLUS microplate-olvasóval 405 nm-en mértük az üregekben lévő oldatok abszorpcióját (optikai denzitását). A kapott értékekből meghatározható a minták és a standard oldatok megkötődésének százalékos értéke (B%):

$$B\% = \frac{OD - OD(UB)}{OD(Bo) - OD(UB)} \cdot 100$$
 [16]

ahol: OD: minta vagy standard optikai denzitása;

OD(UB): kötés nélküli, vak oldat (150 µl TBS) optikai denzitása;

OD(Bo): 100%-os kötés esetén mért optikai denzitás (100 μl TBS + 50 μl *tracer*).

A standardok kötődésének százalékos értékeit (B%) a hormon koncentráció (fmol·ml⁻¹) függvényében ábrázolva kapjuk a kalibrációs görbét, melyből a vizsgált minták hormontartalma is meghatározható.

Az auxin (IAA) és az abszcizinsav (ABA) mennyiségi meghatározásához az ELISA teszt előtt a mintákat metilációs kezelésnek vetettük alá. 1 ml mintából 10 percig tartó 15000 g-s centrifugálás után 300 ul felülúszót 1,5 ml-es centrifugacsőbe pipettáztunk, majd elszívófülke alatt elpárologtattuk. A visszamaradó üledékre kevés sósavat és 100 µl metanolt pipettáztunk, amit 5 percre ultrahangos vízfürdőbe helyeztünk, majd vortexszel homogenizáltunk. 300 µl diazometán elszívófülke alatti hozzáadása után a kapott oldatot vortexeltük, amit 10 perc elteltével megismételtünk. Nitrogén gáz alatti elpárologtatást követően minden centrifugacsőbe 50 µl 70%-os etanolt és 250 µl TBS oldatot pipettáztunk, vortex-szel homogenizáltuk, majd a teszt kezdetéig fagyasztva tároltuk.

4.3.5. Statisztikai számítások

A vizsgálatok eredményeinek statisztikai értékelését SPSS 13 programmal végeztük. Minden kísérlet esetében kiszámítottuk a kezelések átlagát és szórását. A párhuzamos kezelésekből származó adatsorokat két, ill. három független változós varianciaanalízissel vetettük össze, független változónak a PAR intenzitást, valamint az UV-A és UV-B sugárzás jelenlétét/hiányát választottuk. A kezelések közötti különbségeket Tukey HSD próbával teszteltük.

5. EREDMÉNYEK

5.1. In situ vizsgálatok a Balatonban

5.1.1. Fénymérések

A víz alatti fénymérésekből kapott adatok összehasonlítása során a két medence között határozott különbséget találtunk (*5. táblázat*). E különbséget jól szemlélteti a vertikális extinkciós koefficiens értéke, mely Tihanynál 0,85 és 1,86 m⁻¹, ugyanakkor Keszthelynél 1,57 és 2,08 m⁻¹ között változott.

5. táblázat. A Siófoki- ill. a Keszthelyi-medencében, különböző mélységekben mért fotoszintetikusan aktív sugárzás (PAR), és a vízoszlop egészére vonatkoztatott extinkciós koefficiens (K₄)

		matkoztat		CIUS KUC		\mathbf{x}_{d}	
Mélység (m)	0,00	0,25	0,50	1,00	2,00	3,00	Kd
Dátum		ŀ	PAR (µm	ol·m ⁻² ·s ⁻¹)		(m ⁻¹)
Siófoki-meden	ce						
07.15.	1960	1400	850	330	50	n.d.	1,86
07.21.	1600	1100	985	720	265	130	0,85
07.28.	1100	860	632	368	125	n.d.	1,09
08.09.	1770	1240	860	530	180	76	1,04
08.25.	1430	1180	896	473	134	41	1,21
Keszthelyi-me	dence						
07.13.	242	146	83	60	12,0	5,2	1,85
07.19.	716	470	303	136	69,0	38,0	1,57
07.26.	656	378	264	123	56,0	32,0	1,60
08.04.	604	386	220	109	49,0	15,0	1,78
08.16.	220	114	60	10	4,9	4,5	2,08

5.1.2. A balatoni fitoplankton fotoszintézise

Mint az az inkubált fitoplankton minták fotoszintézisének vertikális profiljából is feltűnik, az elsődleges termelés mértéke és függőleges lefutása is eltér a két medencében (5. *ábra*). Ennek megfelelően a Keszthelyi-

87

medencében mért elsődleges termelés mindig meghaladta a Siófokimedencében mért értékeket (*6. táblázat*). Ezzel párhuzamosan a klorofill-a koncentrációjában is eltér a két helyszín, Keszthelynél minden esetben meghaladta a 10 μ g·l⁻¹-t, Tihanynál ehhez képest a legnagyobb mért érték 8 μ g·l⁻¹ volt (*7. táblázat*).

A kapott adatokból származtatott vertikális profilok a fotoszintézis felszínközeli gátlásáról tanúskodnak. Az egyedüli kivételt augusztus 16-án, a Keszthelyi-medencében észleltünk, amikor a fotoszintézis intenzitása közvetlenül a felszín alatt érte el maximumát (P_{max}). Eredményeinkről általában véve megállapítható, hogy a felszínközeli elsődleges termelés a PAR+UV-A+UV-B kezelés esetében bizonyult a legalacsonyabbnak, ennél némileg nagyobb értékeket találtunk a PAR+UV-A kezelésnél, valamint a növekvő vízmélységgel mindkettő fokozatosan közelítette a kontroll minták (PAR kezelés) elsődleges termelését.

A fitoplankton fotoszintézis Keszthelyi-medencében felvett jellegzetes vertikális profilja szerint a fotoszintetikus ráta túlnyomórészt 0,50 m-en, alkalmanként 0,25 m-en érte el maximumát (*5. ábra*). Az intenzívebb elsődleges termelésből következően a területegységre vetített elsődleges termelés is nagyobb volt a Siófoki-medencére jellemző értékeknél. Az asszimilációs szám átlagos maximuma elérte a 4,5 µgC·µgkl⁻¹·h⁻¹-t, ami a felszínen 3,7 µgC·µgkl⁻¹·h⁻¹-ra csökkent. A vízoszlop felső részében a kezelések között jelentős eltérések mutatkoztak, az UV sugárzásnak kitett tenyészeteket (PAR+UV-A ill. PAR+UV-A+UV-B kezelések) a kontrollhoz képest erősebb fotoszintézisgátlás érte (*7. táblázat*). Egy kivételtől eltekintve a teljes vízoszlop mentén, területegységre vonatkoztatott elsődleges termelés gátlása jóval a felszíni gátlás értékei alatt maradt,

átlagosan 6,1 és 8,0%-ot kitéve a PAR+UV-A ill. PAR+UV-A+UV-B kezelésekben.

A fotoszintézis vertikális profiljának jellemző lefutása a Siófokimedencében a Keszthelyi-medencétől eltérő módon alakult, maximum értéke többnyire 1,0 m-es mélységben jelentkezett (*5. ábra*). A mélyebben jelentkező fotoszintetikus maximum egyúttal nagyobb mértékű felszíni gátlást is jelentett, ugyanakkor a kezelések közötti eltérések hasonlítottak a Keszthelyi-medencében mértekhez (*6-7. táblázat*). A területegységre vetített elsődleges termelés gátlása a felszíni gátlásnál jelentősen kisebbnek bizonyult. Az asszimilációs szám a maximális fotoszintetikus rátával jellemezhető vízmélységben átlagosan 3,9 µgC·µgkl⁻¹·h⁻¹, míg a felszínen 1,9 µgC·µgkl⁻¹·h⁻¹ volt.

A globálsugárzásra, az extinkciós koefficiensekre és a PAR+UV-A+UV-B kezelés felszíni fotoszintézisgátlására elvégzett regresszióanalízisből az alábbi egyenletet nyertük:

$$I_{\rm Pf} = 52,07 + 0,047 \cdot G - 31,704 \cdot K_{\rm d}$$
[17]

ahol: I_{Pf}: a fotoszintézis PAR+UV-A+UV-B kezelés esetén kapott

felszíni gátlása (%);

G: az inkubáció időtartamára vonatkozó globálsugárzás (J·cm⁻²); *K_d*: a vertikális extinkciós koefficiens (m⁻¹); (n = 9; $R^2 = 0.9106$; P < 0.01).

A PAR+UV-A és PAR+UV-A+UV-B kezelésekből kapott eredmények egyértelműen mutatják, hogy a fotoszintézis gátlásához az UV-A tartomány járult hozzá a legnagyobb mértékben. A PAR+UV-A+UV-B kezelés során kimutatott gátlást 100%-nak véve a Siófoki-medence felszíni gátlásának

75%-a, területegységre vetített gátlásának 76%-a az UV-A sugárzás hatásának tulajdonítható. A Keszthelyi-medencében is hasonló kép tárul elénk, 79, ill. 74%-os részaránnyal.



5. ábra. A fitoplankton fotoszintézis jellegzetes vertikális profiljai a Siófokimedencében augusztus 9.-én (A) és a Keszthelyi-medencében augusztus 4.én (B). Jelölések: PAR: kontroll; PAR+UV-A: PAR és UV-A sugárzásnak kitett fitoplankton minták; PAR+UV-A+UV-B: PAR, UV-A és UV-B sugárzásnak kitett minták.

6. táblázat. A fitoplankton elsődleges termelésének (P) mélység szerinti változása a Siófoki- ill. Keszthelyi-medencében. Jelölések: P: kontroll; PA: PAR és UV-A sugárzásnak kitett fitoplankton minták; PAB: PAR, UV-A és UV-B sugárzásnak kitett minták. A vastagon kiemelt értékek a kezelésekben mért maximumot jelölik.

Dátum	Mélység (m)	0,05	0,25	0,50	1,00	2,00	2,75
	Kezelés			P (µgC·	l ⁻¹ •h ⁻¹)		
Siófoki	-medence						
07.14.	PAB	5,1	10,8	22,9	30,5	16,9	6,3*
07.21.	Р	6,6	6,9	7,4	7,8	7,5	6,2
	PA	4,6	5,4	6,5	7,5	7,5	6,2
	PAB	2,3	4,0	6,4	7,5	7,5	6,2
07.28.	Р	19,9	24,4	25,0	25,2	21,1	16,4
	PA	10,2	12,9	18,8	25,0	20,3	14,8
	PAB	7,2	13,8	18,1	24,8	19,5	15,0
08.09.	Р	24,5	26,8	29,9	31,8	21,0	8,7
	PA	10,1	18,1	25,5	28,9	18,8	7,9
	PAB	8,0	15,4	23,4	27,5	19,2	8,6
08.25.	Р	16,0	18,2	19,9	18,3	13,9	7,3
	PA	6,4	10,5	13,9	16,6	14,5	6,0
	PAB	5,4	9,8	12,6	16,0	13,6	6,5
Keszth	elyi-medence						
07.12.	PAB	105,3	155,3	169,3	133,3	17,3	
07.19.	Р	46,5	57,5	61,4	52,9	35,9	
	PA	31,0	46,0	57,4	52,2	35,9	
	PAB	26,0	36,7	51,6	51,1	35,9	
07.26.	Р	66,0	70,5	70,1	56,5	19,9	
	PA	51,7	68,6	70,3	52,6	18,6	
	PAB	51,7	66,7	70,8	50,8	19,5	
08.04.	Р	41,2	42,9	41,5	33,3	12,9	
	PA	37,8	39,3	41,0	31,5	12,6	
	PAB	34,8	37,3	40,2	33,9	12,1	
08.16.	Р	69,7	68,4	61,7	43,0	15,6	
	PA	62,4	58,4	50,6	38,8	15,7	
	PAB	61,5	57,0	50,2	39,6	15,7	

*Az inkubáció 2,50 m-es mélységben történt.

Dátum	Kezelés	P_t	Kl-a	An max	An_{f}	I _{Pf}	I _{Pt}
		$(mgC \cdot m^{-2} \cdot h^{-1})$) $(\mu \cdot l^{-1})$	(µgC·µg	$\mathbf{k}\mathbf{l}^{-1}\cdot\mathbf{h}^{-1}$)	(%)	(%)
Siófoki	-medence		-		-		
07.14.	PAB	49,8	8,00	3,81	0,64	83,2	_
07.21.	Р	23,9	3,28	2,36	2,01	15,0	_
	PA	22,7		2,30	1,40	40,6	4,8
	PAB	22,0		2,28	0,69	71,0	7,8
07.28.	Р	69,2	6,18	4,08	3,22	21,0	_
	PA	61,1		4,04	1,65	59,6	11,7
	PAB	60,1		4,01	1,16	71,6	13,2
08.09.	Р	68,1	4,50	7,06	5,44	23,0	_
	PA	58,5		6,43	2,25	68,1	14,1
	PAB	56,1		6,10	1,78	74,8	17,6
08.25.	Р	44,4	6,70	2,97	2,38	19,7	_
	PA	38,0		2,48	0,95	68,0	14,6
	PAB	36,1		2,39	0,80	72,9	18,9
Keszthe	elyi-mede	nce					
07.12.	PAB	227,3	26,70	6,34	3,94	37,8	_
07.19.	Р	116,7	16,86	3,64	2,76	24,3	—
	PA	109,9		3,40	1,84	49,5	5,8
	PAB	103,8		3,06	1,54	57,7	11,0
07.26.	Р	109,5	12,00	5,88	5,50	6,4	—
	PA	104,2		5,86	4,31	26,7	4,8
	PAB	102,8		5,90	4,31	26,7	6,1
08.04.	Р	53,4	10,14	4,23	4,06	4,0	_
	PA	52,2		4,05	3,73	11,9	2,3
	PAB	51,6		3,96	3,43	18,9	3,4
08.16.	Р	93,1	14,88	4,68	4,68	0,0	—
	PA	82,5		4,19	4,19	10,5	11,4
	PAB	82,2		4,13	4,13	11,8	11,6

7. *táblázat*. A fitoplankton alapterületre vonatkoztatott elsődleges termelése (P_t) , felszíni (I_{Pf}) és alapterületre vonatkoztatott gátlása (I_{Pt}) , klorofill-a tartalma (*Kl-a*), ill. maximális (*An_{max}*) és vízfelszínre számított asszimilációs száma (*An_f*). További magyarázat a 6. *táblázatnál*.

5.2. Az UV-A sugárzás *Desmodesmus armatusra* (Chlorophyceae) gyakorolt hatása

5.2.1. Szaporodás

Szaporodás tekintetében a kezelések között szignifikáns különbségek voltak tapasztalhatók (ANOVA, P < 0,01), UV-A jelenlétében növekvő PAR intenzitás mellett erős gátlást találtunk (8. *táblázat*).

8. táblázat. Desmodesmus armatus zöldalga maximális szaporodási rátája és szaporodásának gátlása (átlag ± SD; n=3) különböző intenzitású PAR sugárzás (μ_{max}) ill. PAR és 3,75 mW·cm⁻² UV-A sugárzás jelenlétében (μ_{maxUV}). Egy PAR intenzitáson belül a kezelések közti szignifikáns különbséget csillag jelöli (P < 0,05).

$\begin{array}{c} PAR\\ (\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}) \end{array}$	μ_{max} (d ⁻¹)	μ_{maxUV} (d^{-1})	Gátlás (%)
30	$0,552 \pm 0,1728$	$0,456 \pm 0,3528$	18
100	$0,864 \pm 0,0648$	$0,336 \pm 0,0840*$	61
200	$1,416 \pm 0,0768$	$0,264 \pm 0,1656*$	81
400	$1,224 \pm 0,0480$	0*	100
800	$0,912 \pm 0,1680$	0^{*1}	100

 0^{*1} : 800 µmol·m⁻²·s⁻¹-on a PAR+UV-A kezelés a sejtszám erőteljes csökkenését okozta.

A kontroll tenyészetek maximális szaporodási rátája 30 μ mol·m⁻²·s⁻¹ fényintenzitásnál volt a legalacsonyabb (0,552 d⁻¹), melytől a PAR+UV-A tenyészetek sem tértek el szignifikáns mértékben (0,456 d⁻¹; Tukey-teszt, *P* = 0,615). UV-A nélkül 200 μ mol·m⁻²·s⁻¹-ig növekvő maximális szaporodási ráta volt tapasztalható (1,416 d⁻¹). Az intenzitás további növelésével a szaporodás mértéke csökkenésnek indult, 800 μ mol·m⁻²·s⁻¹-nál 0,912 d⁻¹-os értéket ért el. Az UV-A sugárzással kezelt tenyészetek szaporodási sebessége a PAR intenzitás emelésével fokozatosan csökkent, így 400 és 800 μ mol·m⁻²·s⁻¹ esetében a gátlás teljes volt. A két kezelés a gátlás jellegében eltért egymástól: a 400 μ mol·m⁻²·s⁻¹-os PAR+UV-A kezelésnél az inkubáció végén sejtszámláláshoz elegendő mennyiségű cönóbiumot találtunk a mintákban, ugyanakkor 800 μ mol·m⁻²·s⁻¹-nál rendkívül alacsony sejtszám volt jellemző.

5.2.2. Fotoszintetikus pigmenttartalomban végbemenő változások

A tenyészetek metanolos extraktumának klorofill-a-ra (682 nm) spektrumait normalizált (relatív) abszorpciós összehasonlítva megállapítható, hogy a PAR és PAR+UV-A kezelések hatása közötti különbségeket jelentős mértékben befolyásolta a PAR sugárzás intenzitása (6. *ábra*). A 800 μmol·m⁻²·s⁻¹-os PAR+UV-A kezelés esetében, az inkubáció végén tapasztalt alacsony sejtszám következtében, a kivont pigmentmennyiség nem érte el a kimutatási határt, így sem az abszorpciós spektrum, sem a celluláris pigment tartalom nem volt meghatározható. 30 umol·m⁻²·s⁻¹-nál relatív abszorpció tekintetében nem találtunk szignifikáns különbséget a kezelések között (Tukey-teszt, P > 0.05). Azonban 100 μ mol·m⁻²·s⁻¹-tól az UV tartományban már határozott eltérések jelentkeztek, az UV-A-val kezelt tenyészetekre nagyobb értékeket kaptunk. 200 ill. 400 μ mol·m⁻²·s⁻¹ fényintenzitásnál a karotinoidok abszorpciós csúcsa is (480 nm) szignifikáns mértékben nagyobb volt a PAR+UV-A tenyészetekben, mint a kontrollban (Tukey-teszt, P < 0.05).

Ez a karotinoid összkoncentrációbeli különbség a sejtek karotinoid tartalmában és a karotinoid/klorofill-a arányban is megmutatkozott (7-8. *ábra*). Míg 30 és 100 µmol·m⁻²·s⁻¹-nál nem volt szignifikáns különbség a kezelések között (Tukey-teszt, P > 0,05), addig 200 és 400 µmol·m⁻²·s⁻¹ esetén az UV-A sugárzás a kontrollhoz képest nagyobb celluláris karotinoid tartalmat eredményezett. Általánosságban megállapítható, hogy a sejtek karotinoid tartalma a fényintenzitás emelkedésével csökkenő, ugyanakkor a karotinoid/klorofill-a arány növekvő tendenciát mutatott. Ezzel szemben

⁹⁴

celluláris klorofill-a koncentráció vonatkozásában szignifikáns különbséget a PAR+UV-A kezelés egyik PAR intenzitás mellett sem okozott (Tukeyteszt, P > 0,05; 7. *ábra*). A sejtek pigment tartalmában megfigyelt változásokat a sejtméret is befolyásolhatta, melyet az inkubáció során ugyan közvetlenül nem mértünk, de a mikroszkópos vizsgálat során szemmel látható különbséget a kezelések között nem észleltünk.



6. ábra. Különböző intenzitású PAR sugárzás mellett szaporított
 Desmodesmus armatus tenyészetek (PAR) és a PAR mellett 3,75 mW·cm⁻²
 UV-A-val besugárzott tenyészetek (PAR+UV-A) klorofill-a-ra normalizált
 abszorpciós spektruma. 800 μmol·m⁻²·s⁻¹ PAR esetén a PAR+UV-A
 tenyészetek abszorpciós spektruma nem volt meghatározható.

⁹⁵



7. ábra. Desmodesmus armatus sejtek klorofill-a és összkarotinoid tartalma különböző intenzitású PAR sugárzás (PAR) ill. PAR és 3,75 mW·cm⁻² UV-A sugárzás jelenlétében (PAR+UV-A). Az egy PAR intenzitáshoz tartozó kezelések közötti szignifikáns különbséget csillag jelöli (*P* < 0,05). 800 μmol·m⁻²·s⁻¹ PAR esetén a PAR+UV-A tenyészetek pigmenttartalma nem volt meghatározható.



8. *ábra*. *Desmodesmus armatus* karotinoid/klorofill-a aránya, további magyarázat a 7. *ábránál*.

5.2.3. Morfológiai változások

A különböző *Desmodesmus armatus* cönóbiumformák relatív mennyiségében szignifikáns UV-A okozta változásokat figyeltünk meg (ANOVA, P < 0,05). UV-A sugárzás mellett 4-sejtes cönóbiumok a kontrollhoz képest jelentősen kisebb számban fordultak elő, mely legmarkánsabban 100 µmol·m⁻²·s⁻¹ PAR intenzitásnál jelentkezett, 88%-ról 28%-ra csökkenő relatív gyakorisággal. A 2-sejtes és teratológikus cönóbiumok relatív mennyisége ezzel szemben nagyobb volt az UV-A-val kezelt, mint a kontroll tenyészetekben. 30 és 100 µmol·m⁻²·s⁻¹-nál UV-A jelenlétében a 2-sejtes cönóbiumok relatív gyakorisága elérte a 44 ill. 48%ot. 8-sejtes cönóbiumokat a PAR+UV-A kezelésekben elenyésző számban találtunk. A 800 µmol·m⁻²·s⁻¹-os PAR+UV-A kezelésnél tapasztalt rendkívül alacsony sejtszám miatt e populációkra vonatkozólag statisztikai számításokat nem tudtunk végezni. Az UV-A sugárzás által indukált

hatásokon túlmenően cönóbium összetételbeli változásokat a kontroll tenyészetekben is megfigyeltünk: a fényintenzitás emelésével csökkent a 2sejtes, és nőtt a 8-sejtes cönóbiumok relatív gyakorisága (9. *ábra*). A 10. *ábrán* a kísérlet során előfordult jellegzetes normál és teratológikus cönóbiumformák láthatók.



9. ábra. Desmodesmus armatus tenyészetekben előforduló cönóbiumok relatív gyakorisága különböző intenzitású PAR sugárzás (PAR) ill. PAR és 3,75 mW·cm⁻² UV-A sugárzás mellett (PAR+UV-A). PAR+UV-A¹: a 800 µmol·m⁻²·s⁻¹-os PAR+UV-A kezelésre az értékek nem voltak kiszámíthatók.



10. ábra. A kísérleti *Desmodesmus armatus* tenyészetekben előforduló szabályos (a-c), illetve torz formájú, teratológikus cönóbiumok (d-j).

5.3. Laboratóriumi zöldalga és cianobaktérium tenyészetekre kifejtett UV-hatások

5.3.1. Szaporodás

Szaporodás tekintetében a mosonmagyaróvári alga törzsgyűjtemény vizsgált tenyészetei mind kezelésenként, mind taxonómiailag változatos képet mutatnak, ugyanakkor összességében megállapítható, hogy a zöldalgák és a cianobaktériumok csoportja jól elkülönül egymástól. Különösen a zöldalgák mutatnak többnyire egységes képet, melyek az optikai denzitás értékeiből kapott szaporodási görbék alapján általában nagyobb rezisztenciával rendelkeztek (*11.a. ábra*, *9. táblázat*).

A *Pseudochlorococcum typicum* (MACC-203) tenyészetekkel kapcsolatban megállapítható, hogy míg UV-A sugárzás hatására jelentős változás nem történt, addig UV-A és UV-B jelenlétében erőteljes, 51,9%-os gátlás volt tapasztalható. A kontroll kezelésben 85 µmol·m⁻²·s⁻¹ látható fény mellett a szaporodás a 250 µmol·m⁻²·s⁻¹-os kezeléshez viszonyítva mérsékeltebb volt, ugyanakkor az UV-A-s kezelés alacsonyabb PAR intenzitás mellett jelentéktelen mértékű gátlást eredményezett. 250 µmol·m⁻ ²·s⁻¹ esetén jól látható, hogy az UV-A sugárzás némileg megnövelte a késési fázis hosszát (*11.a. ábra*).

Hasonló eredmények születtek az MACC-458-as számú törzs (*Chlorella sp.*) esetében is. A PAR+UV-A+UV-B kezelés okozta a legnagyobb gátlást, érdemes viszont kiemelni, hogy a szaporodási ráta így is számottevő volt, továbbá a késési fázis is határozottan rövidebb volt, mint a *Pseudochlorococcum typicum* esetében (*11.a. ábra*). A csak PAR és UV-A sugárzásnak kitett tenyészetek szaporodását nagyobb PAR intenzitás alkalmazásakor e törzsnél is jelentősebb gátlás érte (*9. táblázat*). 85 µmol·m⁻

²·s⁻¹-os látható fénynél a PAR és PAR+UV-A kezelések optikai denzitása között szignifikáns különbség nem jelentkezett.

Az MACC-469-es törzsszámú *Scenedesmus sp.* szaporodásának alakulása az előzőektől valamelyest eltérő képet mutatott. Már a szaporodási görbék alakjából is megállapítható, hogy az UV-A-val kezelt tenyészeteknél 85 μmol·m⁻²·s⁻¹ látható fénynél jelentkezett erősebb gátlás (*11.a. ábra*), mely 250 μmol·m⁻²·s⁻¹-nál mintegy 18,4%-ra csökkent (*9. táblázat*). UV-B sugárzás hozzáadásával a késési fázis megnyúlt, a tenyészetek az inkubáció megkezdését követően mintegy 80-85 órával léptek az exponenciális szakaszba.

A legkisebb mértékű gátlások az MACC-534-es törzsnél (*Coenochloris sp*.) jelentkeztek (19,7-28,8%). Míg a két eltérő PAR intenzitáson inkubált kontroll tenyészetek mind a görbék alakja, mind a szaporodási ráta tekintetében egyértelműen különböztek egymástól, addig az UV-A-val kezelteknél számottevő különbségeket nem tapasztaltunk (*11.a. ábra, 9. táblázat*). 250 µmol·m⁻²·s⁻¹-os látható fénynél az UV sugárzás nélkül inkubált tenyészetek maximális szaporodási rátája nagyobb volt, mint 85 µmol·m⁻²·s⁻¹ esetén, melyből kifolyólag nagyobb fényintenzitáson nagyobb UV-A okozta gátlást kaptunk eredményül. A többi zöldalga törzstől eltérően a hozzáadott UV-B sugárzás nem növelte szignifikáns mértékben a gátlást.

Vizsgálataink során a legnagyobb UV sugárzás okozta gátlást a *Cylindrospermopsis raciborskii* (MACC-277) fonalas cianobaktériumnál tapasztaltuk. A kontroll tenyészetekről megállapíthatjuk, hogy 250 μ mol·m⁻²·s⁻¹ látható fénynél határozottan intenzívebb szaporodást mutattak, mint 85 μ mol·m⁻²·s⁻¹-nál, ahol jóval később, az inkubáció megkezdése után hozzávetőlegesen 110 órával léptek az exponenciális szaporodási fázisba (*11.b. ábra*). UV sugárzás jelenlétében mind a PAR+UVA, mind a

PAR+UV-A+UV-B kezelésben erőteljes gátlás jelentkezett (9. *táblázat*). A maximális szaporodási rátákból számított gátlások ugyan nem érték el a 100%-ot – értékük a fényintenzitástól és a sugárzás összetételtől függően 72,7 és 86,8% között változott –, ez azonban csupán az optikai denzitás kezdeti minimális növekedésének köszönhető. Az inkubáció előrehaladtával 250 μ mol·m⁻²·s⁻¹-nál a mért optikai denzitás növekedése elhanyagolható mértékű maradt, míg 85 μ mol·m⁻²·s⁻¹-nál a kezdeti értékek csökkenése volt tapasztalható.

Némileg mérsékeltebb, de még mindig nagymértékű gátlás jellemezte az MACC-304-es törzsszámú fonalas cianobaktérium törzset (Anabaena sphaerica). A PAR kezelések között számottevő különbség a szaporodási ráták alapján nem volt, ellenben megjegyzendő, hogy 250 µmol·m⁻²·s⁻¹ intenzitásnál a kísérlet végén a tenyészetek optikai denzitása csökkent (11.b. ábra). UV sugárzás hatására a maximális szaporodási rátákból számított gátlás nem mutatkozott kiemelkedően magasnak (9. táblázat), ugyanakkor optikai denzitás tekintetében szignifikáns különbség jelentkezett a kontroll és az UV sugárzással kezelt tenyészetek között. 250 µmol·m⁻²·s⁻¹-nál a látható fénnyel kezelt tenyészetek optikai denzitása a kísérlet végére megközelítőleg egy nagyságrenddel nagyobb volt a PAR+UV-A kezeléshez képest. 85 µmol·m⁻²·s⁻¹ látható fény alkalmazásakor az UV-A-val kezelt tenyészetek egy hosszú késési fázist követően szemmel láthatóan intenzív szaporodásnak indultak, és ugyan szignifikáns különbség nem volt a PAR+UV-A, illetve PAR+UV-A+UV-B tenyészetek optikai denzitása, valamint szaporodása között, a görbék alapján UV-B jelenlétében a szaporodás lassabbnak, a késési fázis elnyúltnak mutatkozott.



11.a. ábra. Laboratóriumi zöldalga tenyészetek szaporodása az optikai denzitás alapján 85 (bal oldal), ill. 250 μmol·m⁻²·s⁻¹ PAR sugárzás mellett (jobb oldal). PAR: PAR sugárzással kezelt tenyészetek; PAR+UV-A: PAR és UV-A sugárzással kezelt tenyészetek; PAR+UV-A+UV-B: PAR, UV-A és UV-B sugárzással kezelt tenyészetek (n=3).

¹⁰³



11.b. ábra. Laboratóriumi cianobaktérium tenyészetek szaporodása az optikai denzitás alapján 85 (bal oldal), ill. 250 μmol·m⁻²·s⁻¹ PAR sugárzás mellett (jobb oldal). További információ a 11.a ábránál.

9. táblázat. Zöldalga és cianobaktérium tenyészetek szaporodási rátái és a szaporodás gátlása 85, ill. 250 μmol·m⁻²·s⁻¹ PAR sugárzás mellett. Jelölések: μ_P: PAR sugárzással kezelt tenyészetek szaporodási rátája (kontroll); μ_{PA}: PAR és UV-A sugárzással kezelt tenyészetek szaporodási rátája; μ_{PAB}: PAR, UV-A és UV-B sugárzással kezelt tenyészetek szaporodási rátája; I_A: PAR és UV-A sugárzással kezelt tenyészetek szaporodási rátája a kontroll százalékában; I_{AB}: PAR, UV-A és UV-B sugárzással kezelt tenyészetek szaporodásának gátlása a kontroll százalékában.

Faj/törzs	PAR intenzitás	$\mu_{\rm P}$	μ_{PA}	μ_{PAB}	I _A	I _{AB}
-	$(\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1})$	(d^{-1})	(d^{-1})	(d^{-1})	(%)	(%)
Pseudochlorococcum t.	85	$1,489 \pm 0,0262$	$1,310 \pm 0,0672$	$0,716 \pm 0,1166$	12,0	51,9
(MACC-203)	250	$1,766 \pm 0,0362$	$1,198 \pm 0,0441$		32,2	
Chlorella sp.	85	$2,151 \pm 0,1208$	$1,558 \pm 0,0102$	$1,219 \pm 0,0670$	27,6	43,3
(MACC-458)	250	$2,179 \pm 0,0223$	$1,247 \pm 0,0425$		42,8	
Scenedesmus sp.	85	$1,137 \pm 0,0392$	$0,751 \pm 0,0504$	$0,647 \pm 0,1026$	33,9	43,1
(MACC-469)	250	$1,332 \pm 0,0499$	$1,087 \pm 0,0168$		18,4	
Coenochloris sp.	85	$1,692 \pm 0,0802$	$1,359 \pm 0,0169$	$1,335 \pm 0,0527$	19,7	21,1
(MACC-534)	250	$2,081 \pm 0,0760$	$1,481 \pm 0,0716$		28,8	
Cylindrospermopsis r.	85	$1,029 \pm 0,0383$	$0,281 \pm 0,0214$	$0,139 \pm 0,0179$	72,7	86,5
(MACC-277)	250	$1,462 \pm 0,0093$	$0,193 \pm 0,0800$		86,8	
Anabaena sphaerica	85	$1,055 \pm 0,0532$	$0,721 \pm 0,1026$	$0,717 \pm 0,0657$	31,7	32,0
(MACC-304)	250	$1,227 \pm 0,0775$	$0,852 \pm 0,0995$		30,6	
Synechococcus elongatus	85	$1,905 \pm 0,0661$	$0,977 \pm 0,0450$	$0,932 \pm 0,0912$	48,7	51,1
(MACC-541)	250	$2,719 \pm 0,1319$	$1,619 \pm 0,0271$		40,5	
Microcystis aeruginosa	85	$1,487 \pm 0,0085$	$1,412 \pm 0,1116$	$0,682 \pm 0,0545$	5,0	54,1
	250	$1,554 \pm 0,0373$	$1,265 \pm 0,1464$		18,6	
A tanulmányozott cianobaktérium törzsek közül a Synechococcus elongatus (MACC-541) rendelkezett a legnagyobb rezisztenciával. Összehasonlítva a két különböző látható fény intenzitás mellett inkubált tenyészetek szaporodási görbéit, jól látható, hogy 250 µmol·m⁻²·s⁻¹-nál mind a PAR, mind a PAR+UV-A kezelés hatására valamelyest intenzívebb szaporodás és nagyobb optikai denzitás volt jellemző, mint 85 µmol·m⁻²·s⁻¹ esetében (11.b. ábra). Az UV sugárzás hatása eltért a fonalas cianobaktériumoknál tapasztaltaktól: míg a maximális szaporodási ráták alapján a PAR+UV-A kezelésben nagymértékű gátlást kaptunk (48,7 és 40.5% a 85 illetve 250 µmol·m⁻²·s⁻¹-os kezelésben), addig optikai denzitásuk az inkubáció vége felé fokozatosan közelített a kontroll tenyészetek értékeihez. Mindez különösen 250 µmol·m⁻²·s⁻¹-nál volt egyértelműen kimutatható, ahol a kísérlet végén a két kezelés között szignifikáns különbség nem jelentkezett. Megállapítható továbbá, hogy a PAR+UV-A kezelések, a többi törzsnél látottakhoz hasonlóan, megnövelték a késési fázis hosszát. A PAR+UV-A+UV-B kezelés az inkubáció utolsó harmadában a PAR+UV-A kezeléshez viszonyítva szignifikáns mértékben növelte a gátlást, a szaporodás mértéke a kísérlet vége felé fokozatosan csökkent.

A *Microcystis aeruginosa* szaporodása sajátos, a korábbiaktól eltérő módon alakult. A 250 μ mol·m⁻²·s⁻¹-os PAR kezelésnél az optikai denzitás többnyire egyöntetű, folyamatos növekedésével szemben 85 μ mol·m⁻²·s⁻¹-nál egymástól élesen elhatárolódó késési és exponenciális fázist találunk (*11.b. ábra*). A maximális szaporodási rátákat tekintve az alkalmazott UV-A sugárzás mindössze 5%-os gátlást eredményezett a 85 μ mol·m⁻²·s⁻¹-os, és 18,6%-os gátlást a 250 μ mol·m⁻²·s⁻¹-os kezelésben (*9. táblázat*). Az optikai denzitás értékeit összevetve némiképp más képet kaptunk. 250 μ mol·m⁻²·s⁻¹-

nál nem találtunk szignifikáns különbséget a PAR és PAR+UV-A kezelések között, 85 µmol·m⁻²·s⁻¹ PAR sugárzást alkalmazva viszont nagymértékben megnőtt a PAR+UV-A tenyészetek késési fázisa, majd ezt követte egy markánsan megjelenő exponenciális fázis, és csak az utolsó mintavételi időpontban érték el a kontroll tenyészetek optikai denzitásának szintjét. UV-B sugárzás jelenlétében a gátlás szignifikáns mértékben megnőtt (54,1%), a PAR+UV-A+UV-B tenyészetek optikai denzitásának változása jól tükrözi a kezelés alatt tapasztalt rendkívül lassú szaporodást.

5.3.2. Fotoszintetikus pigmenttartalomban végbemenő változások

A kísérletek végén meghatározott, egységnyi szárazanyagra vonatkoztatott klorofill-a tartalmak a *12.a.* és *12.b. ábrán* láthatók. Az eredményekből megállapítható, hogy a szaporodáshoz hasonlóan, a zöldalgák esetében viszonylag egyöntetű UV-hatást találtunk, a cianobaktérium törzsek ellenben ettől eltérő, és változatos módon reagáltak a beállított kezelésekre.

Zöldalgák esetében a kontroll tenyészeteknél 250 μ mol·m⁻²·s⁻¹ látható fény mellett a törzsek között számottevő különbség nem jelentkezett, a szárazanyagra vonatkoztatott klorofill-a mennyisége 61,3 és 71,5 μ g·mg⁻¹ közötti értékeket vett fel. 85 μ mol·m⁻²·s⁻¹-ra csökkentve a PAR sugárzás intenzitását a klorofill-a tartalom nagymértékű csökkenése volt tapasztalható, a vizsgált törzstől függően 22,4-40,8 μ g·mg⁻¹-os értékeket kaptunk. Az alkalmazott látható fény intenzitása nagyban befolyásolta az UV sugárzás hatását. A PAR+UV-A kezelésben inkubált tenyészetek klorofill-a tartalma 85 μ mol·m⁻²·s⁻¹ PAR sugárzás alkalmazásakor a kontroll kezeléshez képest kismértékű csökkenést mutatott, ez a különbség azonban az esetek többségében nem volt szignifikáns. Ezzel szemben 250 μ mol·m⁻²·s⁻¹ látható fény mellett az UV-A sugárzás az összes zöldalga törzsnél a

¹⁰⁷

klorofill-a tartalom drasztikus csökkenését okozta (*12.a. ábra*). Amikor az UV-A sugárzást UV-B-vel egészítettük ki, a klorofill-a tartalom tovább csökkent, és ugyan a kontroll tenyészetekhez viszonyítva egyértelműen alacsonyabb értékeket kaptunk, a PAR+UV-A kezeléshez képest csak kismértékű változást eredményezett. Egyedüli kivételt képez ez alól az MACC-203-as törzs (*Pseudochlorococcum typicum*), melynél az egységnyi szárazanyagra eső klorofill-a tartalom a PAR kezelésnél kapott értéknek mintegy felére esett vissza.



12.a. ábra. Zöldalga tenyészetek szárazanyagra vonatkoztatott klorofill-a tartalma az inkubációk végén 85, ill. 250 μmol·m⁻²·s⁻¹ PAR sugárzás mellett. PAR: PAR sugárzással kezelt tenyészetek; PAR+UV-A: PAR és UV-A sugárzással kezelt tenyészetek; PAR+UV-B: PAR, UV-A és UV-B sugárzással kezelt tenyészetek (n=3).

A vizsgált cianobaktérium törzsek klorofill-a tartalma erősen fajspecifikus jelleggel bírt (12.b. ábra). Egyedüli általános jellemzőjük, hogy a kontroll kezeléseknél a zöldalgákhoz hasonlóan mindig 85 µmol·m ²·s⁻¹ PAR intenzitás mellett kaptunk magasabb értékeket. A fonalas cianobaktériumoknál az alkalmazott UV-A sugárzás hatására a klorofill-a mennyisége szignifikáns mértékben csökkent. A Cylindrospermopsis raciborskii (MACC-277) esetében a kontroll kezelések eleve alacsony értékei mellett mindkét látható fény intenzitáson erőteljes UV-A okozta csökkenést tapasztaltunk, mely a PAR+UV-A+UV-B kezelésben oly mértékben fokozódott, hogy a klorofill-a mennyisége a kimutatási határ alatt maradt. Az MACC-304-es törzsszámú Anabaena sphaerica klorofill-a tartalma a PAR+UV-A kezelésben 85 μ mol·m⁻²·s⁻¹-nál 36,8 μ g·mg⁻¹-ról 12,1 $\mu g \cdot m g^{-1}$ -ra változott, 250 $\mu m ol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ -nál a *C. raciborskii*-nél tapasztalthoz hasonló nagyságú csökkenést mutatott. A PAR+UV-A+UV-B kezeléssel kapcsolatban megállapítható, hogy UV-B sugárzás hatására a vizsgált törzsek közül egyedül az A. sphaerica-nál jelentkezett némi növekedés az UV-A-val kezelt tenyészetekhez képest. Az egysejtű Synechococcus elongatus (MACC-541) tenyészetek klorofill-a tartalmára 85 µmol·m⁻²·s⁻¹ látható fény mellett a PAR, 250 µmol·m⁻²·s⁻¹-nál a PAR+UV-A kezelésben kaptunk nagyobb értékeket, de a 12.b. ábrán is látható különbségek nem voltak szignifikánsak. UV-A és UV-B sugárzás jelenlétében a klorofill-a szárazanyagra vonatkoztatott mennyisége a kontrollhoz viszonyítva mintegy felére csökkent. Microcystis aeruginosa tenyészetek inkubálásakor azt találtuk, hogy az UV-A-val kezelt tenyészetek klorofill-a tartalma mindkét látható fény intenzitás mellett a kontrollhoz képest szignifikáns mértékben megnőtt. Ezzel szemben a PAR+UV-A+UV-B kezelés mind a kontroll,

mind a PAR+UV-A kezeléshez viszonyítva drasztikus, 5,3 μ g·mg⁻¹-ra történő csökkenést okozott.



12.b. ábra. Laboratóriumi cianobaktérium tenyészetek szárazanyagra vonatkoztatott klorofill-a tartalma a különböző kezelésekben az inkubációk végén 85, ill. 250 μmol·m⁻²·s⁻¹ PAR sugárzás mellett. PAR: PAR sugárzással kezelt tenyészetek; PAR+UV-A: PAR és UV-A sugárzással kezelt tenyészetek; PAR+UV-B: PAR, UV-A és UV-B sugárzással kezelt tenyészetek (n=3).

5.4. Mycosporine-szerű aminosavak (MAA-k) indukciója

A vizsgált törzsek közül az MACC-426-os törzsszámú *Klebsormidium sp.* laboratóriumi tenyészeteiben sikerrel mutattunk ki mycosporine-szerű aminosavat (*13. ábra*). A 20%-os metanolos extraktumok abszorpciós spektrumaiból jól látható, hogy az MAA jelenléte csak az UV sugárzással kezelt tenyészetekben volt kimutatható, a látható fénnyel kezelt kontroll

tenyészetekből hiányzott (14. ábra). Az aminosavakra utaló csúcs maximuma 323 nm-en jelentkezett.



13. ábra. A Mosonmagyaróvári Algatörzsgyűjtemény MACC-426-os számú törzsének (*Klebsormidium sp.*) mikroszkópi képe.

10. táblázat. Klebsormidium sp. (MACC-426) zöldalga klorofill-a és karotinoidtartalma, ill. karotinoid/kl-a aránya a különböző kezelésekben az inkubáció 10. napján. sz.a.: szárazanyag; PAR: PAR sugárzással kezelt tenyészetek; PAR+UV-A: PAR és UV-A sugárzással kezelt tenyészetek; PAR+UV-B: PAR és UV-B sugárzással kezelt tenyészetek; PAR+UV-A+UV-B: PAR, UV-A és UV-B sugárzással kezelt tenyészetek (n=3).

Kezelés	PAR	PAR+UV-A	PAR+UV-B	PAR+UV-A +UV-B
μg klorofill-a/ mg sz.a.	19,85 ± 2,5	18,04 ± 1,0	11,20 ± 1,6	6,57 ± 1,3
μg karotinoid/ mg sz.a.	5,74 ± 1,9	$6,51 \pm 0,2$	$4,11 \pm 0,7$	3,06 ± 0,6
karotinoid/ klorofill-a	$0,289 \pm 0,006$	0,361 ± 0,009	0,366 ± 0,016	$0,466 \pm 0,003$

A MACC-426-os törzsszámú Klebsormidium sp. a zöldalgák Charophyceae osztályánák Klebsormidiales rendjébe tartozik, édesvizekben előforduló, fonalas szerveződésű faj, fonalai nem elágazók. Vegetatív sejtjeiben egyetlen parietális kloroplasztisz található egy keményítő szemcsékkel körülvett pirenoiddal. A szárazföldi növényekhez hasonló peroxiszómája a kloroplasztisz közepe mentén húzódik, mely a mitózis alkalmával a plasztisszal együtt kettéválik. Az anafázis során a sejt központi régiójában keletkező szokatlanul nagy vakuólum utódsejtek az sejtmagjainak szétválasztásában játszik szerepet. Az utódsejtek elhatárolása a sejtfalból kétoldalt képződő betüremkedés összehúzódásával megy végbe. A nemzetségre az aszexuális szaporodás jellemző, szexuális szaporodása nem ismert. Ovális alakú zoospórái a sejtfalból differenciálódó pórusokon keresztül távoznak a sejtből, majd egy órányi helyváltoztatás után ostoraikat behúzva sejtfalat képeznek (GRAHAM és WILCOX, 2000).

A 20%-os metanolos extraktum HPLC-s vizsgálatból kapott kromatogram, valamint a rendelkezésre álló standard-ek alapján valószínűsíthető, hogy a MACC-426-os számú *Klebsormidium* törzsből izolált mycosporine-szerű aminosav vegyület a palythine, melynek szerkezeti felépítését a *16. ábra* szemlélteti. Csúcsa a kromatogramon 4,3 percnél jelentkezett, abszorpciója 320 nm-en éri el maximumát (*15. ábra*).

Összehasonlítva a 100%-os metanolos extraktumok klorofill-a-ra normalizált abszorpciós spektrumát a kezelések között az MAA-csúcs nagyságában határozott eltérések láthatók (*17. ábra*). Az ultraibolya hullámhossz tartományban a PAR+UV-A kezeléshez viszonyítva a PAR+UV-B kezelésben másfélszer, a PAR+UV-A+UV-B kezelésben mintegy kétszer nagyobb abszorpciós csúcsot kaptunk. A 20%-os metanolos extraktumoktól eltérően az abszorpciós maximum a PAR+UV-A kezelés

esetében 329-nm-en, a PAR+UV-B és PAR+UV-A+UV-B kezeléseknél 326 nm-en jelentkezett.

A kísérlet végén meghatározott klorofill-a és összkarotinoid tartalomban kezelésenként az alábbi megfigyeléseket tehetjük. A szárazanyagra vonatkoztatott klorofill-a tartalom az UV-val kezelt tenyészetekben a kontrollhoz képest csökkent, a PAR+UV-B és PAR+UV-A+UV-B kezelés mind a kontroll, mind a PAR+UV-A tenyészetekhez viszonyítva szignifikánsan kisebb értékeket eredményezett (*10. táblázat*). A legalacsonyabb klorofill-a tartalmat (6,57 µg·mg⁻¹) a PAR+UV-A+UV-B kezelés esetén kaptuk. A karotinoid tartalom ettől eltérően a PAR+UV-A kezelés esetén érte el a legmagasabb, 6,51 µg·mg⁻¹-os értéket (*10. táblázat*). A PAR+UV-B és PAR+UV-A+UV-B tenyészetek karotinoid tartalma a kontroll és PAR+UV-A+UV-B tenyészetek karotinoid tartalma a kontroll és PAR+UV-A kezeléshez viszonyítva jelentősen alacsonyabb volt. A karotinoid/klorofill-a arány a PAR kezelés 0,289-es értékétől kezdődően a PAR+UV-A+UV-B kezelés 0,466-os értékéig fokozatos növekedést mutatott.

A szárazanyag tartalom az UV sugárzással kezelt tenyészetekben alacsonyabb volt, mint a kontroll tenyészetekben, ugyanakkor a 7. és a 10. nap között mérhető változás kezelésenként eltérő mértékű volt (*18. ábra*). A 7. napra a kontroll tenyészetek az UV-val kezeltekhez képest szignifikánsan nagyobb szárazanyag tartalmat értek el (401,6 mg·l⁻¹), a legalacsonyabb értéket a PAR+UV-A+UV-B kezelésre kaptuk (68,3 mg·l⁻¹). A 10. napra elért növekedés ezzel szemben csak a PAR+UV-A, illetve PAR+UV-A+UV-B kezelésekben volt szignifikáns, a kontroll és PAR+UV-B kezelésekben a változás nem volt számottevő.



 14. ábra. Klebsormidium sp. (MACC-426) zöldalga 20%-os metanolos extraktumainak abszorpciós spektruma a különböző kezelésekben az inkubáció 10. napján. PAR: PAR sugárzással kezelt tenyészetek; PAR+UV-A: PAR és UV-A sugárzással kezelt tenyészetek (n=3).



 15. ábra. UV sugárzással kezelt Klebsormidium sp. (MACC-426) zöldalga
20%-os metanolos extraktumának HPLC kromatogramján megjelenő csúcs, melynek retenciós ideje megegyezik a standard-ben kimutatható mycosporine-szerű aminosav (palythine) csúcsával.



16. ábra. A Klebsormidium sp. (MACC-426) zöldalgából izolált, mycosporine-szerű aminosav, a palythine szerkezeti képlete.



17. ábra. Klebsormidium sp. (MACC-426) zöldalga 100%-os metanolos extraktumainak klorofill-a-ra normalizált abszorpciós spektruma különböző kezelésekben az inkubáció 7. napján. PAR: PAR sugárzással kezelt tenyészetek; PAR+UV-A: PAR és UV-A sugárzással kezelt tenyészetek; PAR+UV-B: PAR és UV-B sugárzással kezelt tenyészetek; PAR+UV-A+UV-B: PAR, UV-A és UV-B sugárzással kezelt tenyészetek (n=3).



 18. ábra. Klebsormidium sp. (MACC-426) zöldalga laboratóriumi tenyészeteinek szárazanyagtartalma a különböző kezelésekben az inkubáció 7. és 10. napján. További információ a 17. ábránál.

5.5. Az UV-A sugárzás hatása *Chlorella sp.* szinkrontenyészetre (MACC-458, Chlorophyceae)

5.5.1. Sejtnövekedés

Az MACC-458-as törzsszámú *Chlorella sp.* szinkrontenyészeteiben végbemenő sejtméret változásokat a *19.a-g. ábrák* szemléltetik. A kontroll és a PAR+UV-A kezelések hatásukban a mintavételezés 8. órájától kezdődően az inkubációs idő előrehaladtával egyre markánsabb eltérést mutattak. A sötét szakasz 4. órájában az 1. és 2. mérettartományba eső sejtek relatív gyakorisága mindkét kezelésben nagymértékben megnőtt, vagyis a sejtek osztódása a 2. és 4. óra közötti időintervallumban ment végbe. A sejtek túlnyomó hányada a sötét szakasz végéig, a 10. óráig e két mérettartományba esett. A fényszakasz kezdetével a sejtek növekedésnek indultak, az inkubáció 12. órájában mintegy 90%-uk a 2. (5-10 μ m²-es) mérettartományba került. Ezt követően a PAR+UV-A kezelésben vizsgált

tenyészetek sejtmérete az idő múlásával fokozatosan alulmaradt a kontroll tenyészetekben mért sejtméretekhez képest. A mintavételezés 18. órájában a kontroll tenyészetek 3. (10-15 μ m²-es) mérettartományba eső sejtjeinek relatív gyakorisága a PAR+UV-A kezeléshez viszonyítva szignifikánsan nagyobb volt. A 20. órában a 2. és 4. mérettartományban találtunk szignifikáns különbséget, előbbinél a PAR+UV-A, utóbbinál a kontroll tenyészetek értékei voltak magasabbak. Az inkubáció 22., illetve 24. órájában a 3., 4. és 5. tartományban jelentkeztek szignifikáns különbségek, utóbbi kettőben a kontroll tenyészetek sejtjei fordultak elő nagyobb relatív gyakorisággal.

Összességében megállapíthatjuk, hogy a kísérlet végére (a 22-24. órában) a kontroll kezelésben a legnagyobb gyakoriságú mérettartomány eggyel meghaladta a PAR+UV-A-val kezelt tenyészetek leggyakoribb méretcsoportját.



19.a. ábra. PAR sugárzással (PAR), illetve PAR és UV-A sugárzással (PAR+UV-A) kezelt tenyészetek sejtméret tartományainak relatív gyakorisága az inkubáció kezdetén.



19.b. ábra. PAR sugárzással (PAR), illetve PAR és UV-A sugárzással (PAR+UV-A) kezelt *Chlorella sp.* tenyészetek sejtméret tartományainak relatív gyakorisága az inkubáció 2. és 4. órájában.



19.c. ábra. PAR sugárzással (PAR), illetve PAR és UV-A sugárzással (PAR+UV-A) kezelt *Chlorella sp.* tenyészetek sejtméret tartományainak relatív gyakorisága az inkubáció 6. és 8. órájában.



19.d. ábra. PAR sugárzással (PAR), illetve PAR és UV-A sugárzással (PAR+UV-A) kezelt *Chlorella sp.* tenyészetek sejtméret tartományainak relatív gyakorisága az inkubáció 10. (sötét fázis vége) és 12. (világos fázis kezdete) órájában.



19.e. ábra. PAR sugárzással (PAR), illetve PAR és UV-A sugárzással (PAR+UV-A) kezelt *Chlorella sp.* tenyészetek sejtméret tartományainak relatív gyakorisága az inkubáció 14. és 16. órájában.



19.f. ábra. PAR sugárzással (PAR), illetve PAR és UV-A sugárzással (PAR+UV-A) kezelt Chlorella sp. tenyészetek sejtméret tartományainak relatív gyakorisága az inkubáció 18. és 20. órájában.



19.g. ábra. PAR sugárzással (PAR), illetve PAR és UV-A sugárzással (PAR+UV-A) kezelt *Chlorella sp.* tenyészetek sejtméret tartományainak relatív gyakorisága az inkubáció 22. és 24. órájában (világos fázis vége).

5.5.2. Hormontartalom

A vizsgált növényi hormonok mennyisége az inkubáció ideje alatt nagymértékben ingadozott, a változás hol hasonlított, hol különbözött az egyes vegyületeknél, illetve kezeléseknél (20-26. ábra).

Az izopentenil-ribozid koncentrációja a sötét fázisban viszonylag alacsony szinten maradt. A világos fázisban az inkubáció 16. órájától kezdődően mennyisége jelentősen megnőtt, azonban míg a kontroll tenyészeteknél a növekedés fokozatos volt, addig a PAR+UV-A kezelésnél kismértékű csökkenést követően jelentkezett egy ugrásszerű emelkedés (20. ábra). Zeatin-ribozid esetében a változás jellege nagyban eltért az izopentenil-ribozidnál tapasztaltaktól (21. ábra). Az idő függvényében enyhe csökkenő tendencia figyelhető meg mindkét kezelésnél, a csökkenést ugyanakkor nagymértékű ingadozás kísérte. A 12. és 18. óra között a PAR+UV-A tenyészetek zeatin-ribozid tartalma a kontroll tenyészetekétől némiképp elmaradt, a különbség a 16. óráig mintegy 850 fmol·ml⁻¹-re nőtt. A benzil-aminopurin-ribozid és a meta-topolin-ribozid mennyiségének alakulásában közös volt, hogy koncentrációjuk a 18. óra környékén hirtelen megnőtt (22-23. ábra). Előbbinél az így megjelenő csúcs értékében a két kezelés között számottevő különbség nem adódott, utóbbinál viszont a PAR+UV-A-val kezelt tenyészetek maximuma a kontrollnál mért csúcsértéknek csupán a felét érte el. Ugyanez a csúcs az indol-3-ecetsav esetében is megfigyelhető volt mindkét kezelésben, koncentrációja ugyanakkor nagyságrendekkel meghaladta a citokininek mennyiségét (24. ábra). Az inkubáció 20. órájára ez az érték mind a PAR, mind a PAR+UV-A tenyészetekben erőteljesen lecsökkent. Az abszcizinsav koncentráció változása a két kezelésben jelentős mértékben nem tért el egymástól, az inkubáció ideje alatt az indol-3-ecetsavhoz hasonlóan két csúcs, egy a sötét

fázis végén a 8. órában, egy pedig a 18. órában volt kimutatható (25. ábra). Összehasonlítva a kísérlet végén meghatározott szárazanyagra vonatkoztatott hormontartalmakat megállapíthatjuk, hogy a tenyészetekben az indol-3-ecetsav, az abszcizinsav, valamint az izopentenil-ribozid fordult elő nagyobb mennyiségben (26. ábra). A PAR+UV-A-val kezelt tenyészetekben mért koncentráció a kontrollhoz viszonyítva mindhárom vegyületnél szignifikánsan kisebb volt.



20. ábra. PAR sugárzással (PAR), illetve PAR és UV-A sugárzással (PAR+UV-A) kezelt Chlorella sp. tenyészetek izopentenil-ribozid koncentrációjának változása az inkubációs idő függvényében.



21. ábra. PAR sugárzással (PAR), illetve PAR és UV-A sugárzással (PAR+UV-A) kezelt *Chlorella sp.* tenyészetek zeatin-ribozid koncentrációjának változása az inkubációs idő függvényében.



22. *ábra*. PAR sugárzással (PAR), illetve PAR és UV-A sugárzással (PAR+UV-A) kezelt *Chlorella sp.* tenyészetek benzil-aminopurin-ribozid koncentrációjának változása az inkubációs idő függvényében.



23. ábra. PAR sugárzással (PAR), illetve PAR és UV-A sugárzással (PAR+UV-A) kezelt Chlorella sp. tenyészetek meta-topolin-ribozid koncentrációjának változása az inkubációs idő függvényében.





127



25. *ábra*. PAR sugárzással (PAR), illetve PAR és UV-A sugárzással (PAR+UV-A) kezelt *Chlorella sp.* tenyészetek abszcizinsav koncentrációjának változása az inkubációs idő függvényében.



26. ábra. PAR sugárzással (PAR), illetve PAR és UV-A sugárzással (PAR+UV-A) kezelt Chlorella sp. tenyészetek egységnyi szárazanyagra eső növényi hormon tartalma az inkubáció végén. Jelölések: iPR: izopentenil-ribozid, ZR: zeatin-ribozid, BAPR: benzil-aminopurin-ribozid, mTR: metatopolin-ribozid, IES: indol-3-ecetsav, ABS: abszcizinsav.

6. MEGBESZÉLÉS

6.1. Balatoni fitoplankton elsődleges termelésére gyakorolt UV-hatások

A Balatonban végzett in situ vizsgálataink eredményei alapján az UV sugárzás gátló hatása egyértelműen kimutatható a fitoplankton fotoszintézis profiljában. Mindkét vizsgálati helyszínen vertikális felszínközeli fotoszintetikus gátlást figyeltünk meg, mely a nagy fényintenzitásból adódó túltelítettség következménye (KIRK, 1994a). A Siófoki-medencében a nagyobb átlátszóság miatt a fénytelítettség zónája valamivel mélyebben található (5. ábra). Ez eredményezte a Keszthelyi-medencénél megállapított értékeknél átlagosan kétszer nagyobb mértékű felszíni fotoinhibíciót (7. táblázat). Augusztus 16-án a Keszthelyi-medencében nem jelentkezett felszíni gátlás, mely feltételezhetően az akkor mért viszonylag alacsony PAR sugárzásnak és az alacsony átlátszóságnak köszönhető ($K_d = 2,08 \text{ m}^{-1}$).

A gátlás értékeire, a globálsugárzásra és az extinkciós koefficiensekre végzett két független változós regresszióanalízis alapján egyértelművé vált, hogy a gátlás mértéke nemcsak a vízoszlop extinkciójával, hanem a globálsugárzással is szorosan összefügg. A gátlás varianciáját a globálsugárzás és az extinkciós koefficiens értékei 91%-ban megmagyarázták (P < 0,01), amit jól szemléltet, hogy a gátlás regressziós egyenletből (17. egyenlet) számított értékei az esetek többségében igen közel állnak a valóságban mért értékekhez (27. ábra).

Kísérleteink arra a megállapításra vezettek, hogy a felszínhez közel az UV sugárzás a látható fényhez képest határozottan nagyobb fotoinhibíciót idézett elő. Mindemellett ugyanakkor a vízoszlop egészére vonatkoztatva az UV sugárzás okozta gátlás mértéke jelentős mértékben kisebbnek bizonyult (7. *táblázat*). A kezelések között megmutatkozó elsődleges termelésbeli

különbségek bizonyos fenntartással kezelendők, ugyanis a kísérletekben alkalmazott szűrők 15% PAR sugárzást is elnyelnek (*1. ábra*). Így valószínűsíthető, hogy a kontroll ill. PAR+UV-A mintákat valójában a mértnél valamelyest nagyobb gátlás érte. E bizonytalansági tényező ellenére megállapítható, hogy mivel mindkét szűrő típus egyenlő mértékben abszorbeált látható fényt (*1. ábra*), a kontroll és PAR+UV-A kezelések közötti különbségek kizárólag az UV-A sugárzás hatásának tulajdoníthatók. Megemlítendő továbbá, hogy a PAR+UV-A+UV-B kezelésben szűrőt nem használtunk, így az ott kapott gátlás optikai eredetű torzításoktól mentesnek tekinthető. A fenti megfontolásból ezért az is elképzelhető, hogy az UV-B és UV-A+UV-B sugárzás hatása közötti különbség a valóságban az általunk kapottnál kisebb mértékű. Összességében tehát, mind az eredmények, mind a lehetséges mérési hibák alapján levonhatjuk a következtetést, miszerint a balatoni fitoplankton közösségek fotoszintézisének gátlását a vizsgálati időszakban elsősorban az UV-A sugárzás okozta.



27. *ábra*. A fitoplankton felszínközeli gátlásának mért (pontok) és lineáris regresszióval becsült értékei (egyenes) a PAR+UV-A+UV-B kezelések esetében.

¹³⁰

A témával foglalkozó irodalom kevés olyan munkát rejt, mely kimondottan a fitoplanktont érő UV-A hatásokkal kapcsolatos vizsgálatokról számol be (pl. KIM és WATANABE, 1994). A kutatások túlnyomó része az UV-B sugárzás hatásaira irányult (pl. FURGAL és SMITH, 1997; FAUCHOT et al., 2000; WULFF et al., 2000), az UV-A sugárzás vízi élőhelyeken érvényesülő szerepe nem ismert minden részletében. Ennek ellenére előfordulnak publikációk, melyek eredményei, olyan következtetései hasonlóak a kísérleteinkben kapottakhoz (pl. MOELLER, 1994; OLESEN és MABERLY, 2001). Az első ilyen tanulmány BÜHLMANN et al. (1987) munkája, akik egy édesvízi fitoplankton közösség esetében azt találták, hogy 500 µmol·m⁻²·s⁻¹ látható fény felett ultraibolya sugárzás jelenlétében a szén asszimiláció nagymértékben csökkent. A látható fény intenzitása esetünkben a Siófoki-medence 0,5 m-es mélységéig mindig meghaladta az 500 μ mol·m⁻²·s⁻¹-os értéket, mely megerősíteni látszik megállapításunkat, miszerint az eufotikus zóna felső részében a fitoplankton fotoszintézis gátlását jórészt az UV sugárzás okozta. BÜHLMANN et al. (1987) azt is kihangsúlyozták, hogy egy viszonylag nagy UV-Babszorpcióval bíró tó vizében az UV-B sugárzás csak kis mértékben járul hozzá a fotoinhibíció fokozásához. Mindebből feltételezhető, hogy az UV-A sugárzás által kiváltott gátlás dominanciája a Balaton felső részében is hasonló okokra vezethető vissza. Szintén kiemelkedő UV-A hatást figyeltek meg a dél-amerikai Titicaca-tóban, ahol az UV-A sugárzás fotoinhibícióból kivett részesedése feltűnően hasonlít saját eredményeinkhez (VILLAFAÑE et al., 1999). Ez a hasonlóság annak ellenére megfigyelhető, hogy a szóban forgó, 0,22 m⁻¹ átlagos extinkciós koefficienssel jellemezhető tó trópusi hegyvidéken fekszik, ahol az élő szervezeteket a balatoninál lényegesen nagyobb UV fluxus éri.

Kísérleteinket adott vízmélységeken rögzített edényzettel végeztük. Azonban természetes körülmények között a planktonikus algák többékevésbé állandó függőleges mozgásban vannak a vízoszlopban végbemenő turbulens keveredés következtében, ami, sekélysége és a gyakori erős széljárás miatt, a Balatonra különösen igaz. E függőleges mozgás következtében a planktonikus algák fluktuáló intenzitású és spektrális összetételű fénynek vannak kitéve. Így elképzelhető, hogy a fitoplanktont alkotó sejtek felszínhez közeli tartózkodási ideje valamivel kevesebb, mint a kísérleteinkben kiszabott inkubációs időtartam, ez pedig a fotoinhibíció túlbecsléséhez vezethet (KIRK, 1994*a*). KÖHLER et al. (2001) kísérletében az inkubációhoz használt edényzetet az expozíciós idő alatt a keveredést szimuláló függőleges mozgásban tartották. Eredményeik szerint az elsődleges termelést vertikális keveredés során is jelentős gátló hatás érheti, ha az eufotikus zóna túlnyúlik a keveredés függőleges kiterjedésén. Ellenkező esetben a gátlás mértéke alacsony marad, szélsőséges esetben meg is szűnhet. Ily módon Köhler et al. (2001) munkája in situ körülmények között mutatott rá a fluktuáló, ill. állandó fényintenzitáson mért, egységnyi UV dózisra vonatkoztatott fotoinhibíció között előforduló különbségekre. Bizonyos esetekben ugyanakkor az általunk mért értékek megegyezhetnek, vagy akár alul is becsülhetik a tényleges gátlás mértékét. Ilyen a Balatonban megfigyelt un. mikrorétegződés (ENTZ, 1979; VÖRÖS et al., 1983), mely során a fitoplankton egy része a vízoszlop ideiglenesen elkülönülő felső rétegébe szorul. Ebben az esetben a PAR és UV sugárzás itt érvényesülő viszonylag magas intenzitása a fotoszintézis nagyarányú csökkenését vonhatja maga után.

Időtartam tekintetében az UV sugárzás rövid- és hosszútávon teljesen más hatást is kifejthet (VILLAFAÑE et al., 1995; CABRERA et al., 1997). A

fitoplanktont alkotó szerveztek akklimatizálódhatnak a hosszútávon ható UV sugárzásnak (pl. HAZZARD et al., 1997), de közösségi szinten az akklimatizáció legvalószínűbb módja a taxonómiai összetétel megváltozása. Ezt a gondolatmenetet követve, az UV-A sugárzás eredményeinkben megnyilvánuló domináns fotoszintézis-gátlása ellenére, nagyobb időtávlatban az UV-B sugárzás is jelentős szerepet játszhat, hiszen az UV-B-vel szembeni érzékenység is fajspecifikus képet tükröz (XIONG et al., 1996; LAURION és VINCENT, 1998; ESTEVEZ et al., 2001; VAN DE POLL et al., 2001). Mivel az alkalmazkodás során rövid- és hosszútávon eltérő védekezési folyamatok léphetnek működésbe (ZUDAIRE és ROY, 2001), nehéz megtalálni a módját annak, hogy a fitoplanktont érő UV-stresszt összetett jelenségként vizsgáljuk és értékeljük. A helyzetet tovább bonyolítja, hogy az UV-stressz több úton is megnyilvánulhat: a DNS UV-B okozta károsodása a fotoszintézis aktivitására is rányomhatja bélyegét (HELBLING et al., 2001b), a sejtorganellumokat, a bennük zajló folyamatokat érő közvetlen károsodásokon túl pedig számtalan közvetett hatás is befolyásoló erővel bírhat. Ilyen például a zooplankton fitoplanktonfogyasztásának csökkenése, ha a zooplanktonra az UV-B sugárzás negatív hatást fejt ki (CABRERA et al., 1997).

6.2. Desmodesmus armatus zöldalgában végbement UV-A sugárzás által indukált változások

A vizsgált zöldalgával végzett kísérleteink eredményei szignifikáns UV-A hatásokról tanúskodnak. Megállapításaink azonban közvetlenül nem terjeszthetők ki természetes körülményekre, elsősorban a változatos sugárzásviszonyok, valamint a természetben jelenlévő számtalan befolyásoló tényező miatt, mint például a vízoszlopban végbemenő

keveredés és hőmérsékleti rétegződés (SCULLY et al., 2000; XENOPOULOS et al., 2000), az oldott szerves szén mennyisége (MORRIS et al., 1995) vagy a hőmérséklet (HOFFMAN et al., 2003). Ami a kialakított sugárzási körülményeket illeti, 3,75 mW·cm⁻² UV-A sugárzás alkalmazása viszonylag alacsony PAR sugárzás mellett a Desmodesmus armatus számára fény szempontjából szélsőséges környezetnek tekinthető. Saját méréseink alapján a Balatonnál egy felhőtlen nyári napon az UV-A intenzitás maximuma elérheti a 4.5 mW·cm⁻²-t, ilyenkor a PAR sugárzás 2000-2200 µmol·m⁻²·s⁻¹ körül tetőzik. Ez azt jelenti, hogy a kísérleteinkben beállított intenzitású UV-A sugárzásnak megfelelő értékek a dél körüli órákban mérhetők, míg az alkalmazott PAR tartomány a reggeli, délelőtti, ill. késő délutáni, esti órákra jellemző. Mindez a természetben mérhetőktől valamelyest eltérő PAR:UV-A arányokhoz vezetett. Felvetődhet a kérdés, hogy az általunk vizsgált, édesvizekben általánosan elterjedt zöldalga használható e modell organizmusként, és ha igen, mi módon, természetes fitoplankton közösségeket érő UV-A hatások becslésére. A kapott eredmények némi támpontot adhatnak ugyan, de a kísérleti és az in situ körülmények kapcsán felvázolt eltérések és a környezeti tényezők egymásra hatásából adódó összetettség miatt ennek a lehetőségét fenntartásokkal kell kezelnünk. Ezen felül további, a természetes körülményekhez jobban illeszkedő beállítások között végzett vizsgálatok elvégzését is szükségessé tenné.

Eredményeink részletes tárgyalása előtt fontos megemlíteni AN et al. (1999) munkáját, akik ITS-2 rDNS szekvenciák összehasonlítása alapján a *Scenedesmus* nemzetséget két részre (*Scenedesmus* és *Desmodesmus* nemzetségre) osztotta. Ennek értelmében számos korábban *Scenedesmus*-nak ítélt fajt az új *Desmodesmus* nemzetségbe helyeztek át (HEGEWALD, 2000), beleértve az általunk vizsgált fajt is. Ezt szem előtt tartva, az

alábbiakban említésre kerülő fajok nevét, ahol szükséges volt, *Desmodesmus*-ra változtattuk.

A kontroll tenyészetek 200 μmol·m⁻²·s⁻¹ körüli értéknél érték el szaporodásuk maximumát. Ezen túl a csökkenés feltételezhetőleg a fotoszintézis gátlásával volt összefüggésben, legalábbis erre engednek következtetni LESSER et al. (2002) kísérletei, mely szerint egy Antarktiszról izolált *Scenedesmus* faj fotoszintézis-sugárzás (photosynthesis-irradiance, P/I) görbéjén hasonló jellegű csökkenés figyelhető meg. A 30 μmol·m⁻²·s⁻¹- os kezelést leszámítva, az UV-A sugárzás minden egyes PAR intenzitáson szignifikáns szaporodásgátlást idézett elő, melynek mértéke a nagyobb intenzitások felé fokozatosan nőtt. A látható fény erősségével párhuzamosan emelkedő gátlásból a PAR és UV-A sugárzás szinergikus hatása feltételezhető. A LESSER et al. (2002) által vizsgált *Scenedesmus* faj szaporodásában nem találtak szignifikáns UV-gátlást, mely elsősorban valószínűleg a két kísérletben használt UV-A sugárzás intenzitása közötti különbségnek köszönhető, de fajspecifikus hatásokra is utalhat.

Az UV-A sugárzás algák szaporodására gyakorolt hatásával foglalkozó tanulmányok száma viszonylag kevés, a született eredmények pedig elég eltérőek. XENOPOULOS et al. (2002) két boreális égövi tó planktonikus algaközösségét tanulmányozva, eredményeinkhez hasonlóan azt találták, hogy az UV-A sugárzás jelentős mértékben gátolta azok szaporodását. Ezzel szemben két tengeri kovaalga esetében nem mutattak ki UV-A okozta szaporodásgátlást (NILAWATI et al., 1997), de megjegyzendő, hogy a sugárzás intenzitása megközelítőleg egy nagyságrenddel kisebb volt az általunk alkalmazotthoz képest. Hasonlóan nem találtak szignifikáns UV-A hatást a *Dunaliella bardawil* zöldalga tanulmányozásakor, azonban a szaporodást a turbiditás változásának mértékéből határozták meg, míg

kísérleteinkben a klorofill-a mennyiségi változását vettük alapul (JAHNKE, 1999). A Desmodesmus armatus celluláris klorofill-a tartalma a nagyobb PAR intenzitás irányába csökkenő tendenciát mutatott, ami arra utalhat, hogy a klorofill szintézisének és a biomassza felépülésének dinamikája közti különbséget nagyban befolyásolta a látható fény intenzitása. Ebből következik, hogy a klorofill-a biomassza becslésre történő alkalmazása félrevezető lehet, ha különböző PAR intenzitások mellett érvényes szaporodási sebességeket kívánunk összehasonlítani. Másfelől viszont, mivel e vonatkozásban nem volt szignifikáns különbség az UV-A-val kezelt és a kontroll tenyészetek között, az általunk kimutatott, UV-A okozta szaporodásgátlást nem okozhatta a celluláris klorofill-a tartalom csökkenése. Így a két kezelés összehasonlítása megbízhatónak bizonyult az UV-A sugárzás által kiváltott szaporodásgátlás meghatározására. A LESSER et al. (2002) munkájában vizsgált Scenedesmus fajnál a klorofill-a-ra vonatkoztatott szénfixálás mértékének maximuma határozottan csökkent UV sugárzás hatására, így könnyen elképzelhető, hogy a Desmodesmus armatus szaporodásának gátlása a fotoszintetikus kapacitás csökkenésével volt összefüggésben. A 800 µmol·m⁻²·s⁻¹-os kezeléstől eltérően, 400 µmol·m⁻ $^{2} \cdot s^{-1}$ látható fény mellett UV sugárzás jelenlétében a teljes szaporodásgátlás ellenére sejtszámláláshoz elegendő mennyiségű cönóbiumot találtunk, mely arra utalhat, hogy az alkalmazott kezelés sejtpusztulást nem okozott -, bár ennek megvizsgálására kísérleteinkben nem tértünk ki. Így ebben az esetben előfordulhatott, hogy a fotoszintézis nem szenvedett 100%-os gátlást. Ha azonban az UV sugárzás okozta fotoinhibíciót LESSER et al.-hoz (1994) hasonlóan a károsodás és javítás közt kialakult dinamikus egyensúlyi állapotnak tekintjük, megállapítható, hogy a vélhetően alacsony fotoszintetikus ráta a javítási folyamatok anyagcsere-szükséglete miatt nem

tudta biztosítani a biomassza további növelését. Ezen túlmenően a DNSkárosodás lehetőségét is kizárhatjuk az okok közül, hiszen számos esetben bebizonyosodott, hogy a planktonikus algák DNS-károsodását az UV-B sugárzás okozza (pl. BUMA et al., 2001*b*).

Az UV sugárzás karotinoid tartalmat és összetételt módosító hatását már több különböző alga taxon, pl. cianobaktériumok (pl. HAN et al., 2003c), kova- (pl. ZUDAIRE és ROY, 2001) és zöldalgák (pl. ESTEVEZ et al., 2001; BISCHOF et al., 2002) esetében is kimutatták. Az általunk vizsgált Desmodesmus armatus celluláris karotinoid tartalma UV-A sugárzás jelenlétében megnőtt, míg a látható fény intenzitásának emelkedésével mindkét kezelésben csökkent (7. ábra). Ennek ellenére, а karotinoid/klorofill-a arány növekvő tendenciát mutatott a nagyobb PAR intenzitás felé (8. ábra), továbbá az arány görbéjének meredeksége eltért a két kezelésben. E változások oka mindkét esetben a sejtek klorofill-a tartalmának a karotinoid tartalomnál nagyobb mértékű csökkenésében keresendő (7. *ábra*). Karotinoid/klorofill-a arány vonatkozásában eredményeink hasonlítanak a már említett Dunaliella bardawil zöldalgánál kimutatottakhoz, melynél az UV-A sugárzás masszív karotinoid felhalmozódást indukált (JAHNKE, 1999). Ezt a jelenséget QUESADA et al. (1995) cianobaktérium törzsek esetében is kimutatták. A PAR+UV-A kezelésben jelenlévő elenyésző mennyiségű UV-B sugárzás ugyan kismértékben kihathatott eredményeinkre, a karotinoidokra gyakorolt UV-B hatás kapcsán született szakirodalomban ugyanakkor ellentmondásos következtetésekről olvashatunk. UV-B sugárzás éppúgy válthat ki növekedést (Döhler, 1995; BUMA et al., 1996), mint csökkenést (pl. ESTEVEZ et al., 2001) a sejtek karotinoid tartalmában, ráadásul a jelenség fajtól és a konkrét pigmenttől is függhet (pl. DÖHLER és LOHMANN, 1995;

BISCHOF et al., 2002). Számos kutatási eredmény utal a karotinoidok fotokémiai védelemben betöltött funkciójára (pl. BIDIGARE et al., 1993). Mindemellett az UV-A jelenlétében végbemenő intenzív karotinoid akkumuláció szerepe nem teljesen tisztázott, bár JAHNKE (1999) szerint jelentős fényelnyelő kapacitást nyújthatnak a közép- és hosszúhullámú UV-A tartományban. Vizsgálatainkban nem tettünk kísérletet a karotinoid összetétel nyomon követésére, így ez az UV-A által kiváltott folyamat mindenképp további kutatásra érdemes.

Egy Desmodesmus cönóbium minden egyes sejtje 1, 2, 3 vagy 4 egymást követő osztódásra képes, melyek értelemszerűen 2, 4, 8 vagy 16 utódsejtből álló cönóbiumokat eredményeznek (TRAINOR, 1996). A cönóbiumképződést számtalan tényező befolyásolja, mint például az algákkal táplálkozó zooplankton szervezetekből kibocsátott un. "info"vegyületek (LÜRLING és VAN DONK, 1997) vagy a hőmérséklet (TRAINOR, 1993). Az általunk vizsgált Desmodesmus faj cönóbiumképzésére az "info"vegyületek LÜRLING (2003) szerint nincsenek hatással, eredményeink alapján viszont az UV-A sugárzás jelentős befolyással lehet a cönóbiumok fejlődésére (9. *ábra*). UV-A sugárzás hiányában a 4-sejtes cönóbiumok domináltak, miközben a PAR intenzitás emelkedésével csökkent a 2-sejtes és nőtt a 8-sejtes cönóbiumok relatív gyakorisága. Ez összhangban van TUKAJ et al. (1996) Desmodesmus armatus-on végzett munkájával, mely szerint a sugárzás intenzitásának növekedésével nő a reproduktív folyamatokat kiváltó szabályozási pontok sejtciklusonkénti száma. Minthogy ily módon nő az utódsejtek száma, ez magyarázatul szolgálhat a 8-sejtes cönóbiumok nagyobb intenzitáson történő megjelenésére. A teratológikus formák gyakori előfordulása 800 μ mol·m⁻²·s⁻¹-en feltételezhetően arra utal, hogy ez a fényintenzitás már kedvezőtlen

körülményeket nyújt a cönóbiumok normális fejlődéséhez, mellyel még csökkent mértékű szaporodás is párosult (8. táblázat). A 2-sejtes és teratológikus formák gyakoriságának UV-A sugárzás jelenlétében tapasztalt növekedését a 4- és 8- sejtes cönóbiumok előfordulásának csökkenése kísérte. Mélyrehatóbb vizsgálatok hiányában e jelenség eredő okára, molekuláris biológiai hátterére csak hipotézisek állíthatók. BIŠOVÁ et al. (2000) Desmodesmus quadricauda-nál megfigyelték, hogy a reproduktív folyamatok megkezdéséhez szükséges szabályozási pontok kapcsolatban állnak a hiszton H1 kinázok aktivitásával. Ez az aktivitás Chlamydomonas reinhardtii-ban UV sugárzás által indukált DNS károsodás hatására csökkent, ez a válaszreakció pedig a mitózis és a sejtosztódás késleltetéséhez vezetett (SLANINOVÁ et al., 2003). Leszűrhetnénk azt az óvatlan következtetést, hogy a H1 kinázokat érő UV-hatás valami módon kapcsolatban áll a cönóbiumképződéssel, erre azonban még nem találtak közvetlen bizonyítékot, és az UV-A sugárzás DNS-re gyakorolt hatásáról sem számoltak még be a szakirodalomban.

Természetes körülmények között Desmodesmus a armatus morfológiájának fejlődése a fenotípusos plaszticitásnak egy irányított sorrendjét, un. ciklomorfózist követ (TRAINOR, 1992). Munkánkban a morfológia időbeli változásának monitorozására nem tettünk kísérletet, eredményeinkben következésképp csak a cönóbiumképződés pillanatnyi állapotai tükröződnek. Szakaszos tenyésztésben minden egyes szaporodási fázisban más-más fenotípusok, formák, un. ökomorfok dominálhatnak a tápanyag-hozzáférhetőség ezzel együtt járó változásának eredményeképpen (TRAINOR, 1992). Bár UV-A sugárzás mellett a szaporodás szignifikánsan csökkent, a tápanyagok kontrollhoz képest kisebb mértékű fogyását eredményezve, minden kísérletet az exponenciális fázis közepén állítottunk

le. Az exponenciális fázis a maximális szaporodási ráta fenntartásához elegendő mennyiségű tápanyagot feltételez, ami kizárja a tápanyagkorlátozás lehetőségét. Az UV-A sugárzás kísérletünkkel igazolt, cönóbiumösszetételre gyakorolt hatásának számtalan következménye lehet. Erre vonatkozóan fontosnak tartjuk észrevenni, hogy a Scenedesmus ill. Desmodesmus morfológiával kapcsolatban korábban végzett laboratóriumi tanulmányokban nem vették figyelembe. A környezeti tényezők széles tárházában az ultraibolya sugárzás is helyet kapott, így e tanulmányok extrapolálása természetes körülményekre ismételt megfontolás tárgyát képezheti. A cönóbiumképződés változásán keresztül az UV-A sugárzás közvetlenül érintheti a vízoszlop mentén történő függőleges migrációt, mert a cönóbiumok mérete és alakja a süllyedés sebességére is kihat (TRAINOR, 1996; LÜRLING, 2003). Morfológiára vonatkozó eredményeink arra is utalnak, hogy a Desmodesmus armatus-t érő UV-A sugárzás közvetve a fogyasztók táplálkozására is kihathat, mely gyakran a cönóbiumok méretétől függ (LÜRLING, 2003). Ez a hipotézis nem új keletű, egyes fitoplankton közösségekben UV sugárzás által indukált változások számos esetben az elsődleges fogyasztókra is kimutatható hatást gyakorolnak (HESSEN et al., 1997; DE LANGE ÉS LÜRLING, 2003; DE LANGE ÉS VAN REEUWIJK, 2003).

A fentieket összegezve megállapíthatjuk, hogy nyáron, amikor a napsugárzás intenzitása kellően nagy, az UV-A sugárzás komoly gátlást idézhet elő a vizsgált zöldalga faj szaporodásában, és a hatás mértékét erősen befolyásolta a látható fény intenzitása. A szaporodásban észlelt csökkenés feltételezhetően a fotoszintézis gátlásával van összefüggésben. Ezenfelül közvetlen vagy közvetett módon a sejtciklusban és a morfológia alakulásában is megjelenhetnek UV-A behatásból származó változások, ahogy azt a cönóbiumképzésben történt módosulások is jelezték.

6.3. Laboratóriumi zöldalga és cianobaktérium tenyészetek szaporodására kifejtett UV-hatások

A Mosonmagyaróvári Alga Törzsgyűjteményből származó törzsekkel végzett kísérletekből levonható általános következtetések megerősítik és egyben ki is egészítik a témával foglalkozó publikációk megállapításait. Eszerint az UV sugárzás tekintélyes mértékben hozzájárulhat a zöldalgák és cianobaktériumok szaporodásának gátlásához, melynek jellege nagyban függ a szóban forgó faj, tenyészet érzékenységétől, az UV sugárzás összetételétől, valamint az UV és a PAR sugárzás intenzitásának arányától.

A csak PAR sugárzással kezelt tenyészeteknél 250 μ mol·m⁻²·s⁻¹-nál a szaporodás intenzitása nagyobb volt, mint 85 μ mol·m⁻²·s⁻¹ alkalmazásakor, vagyis fényoptimumuk közelebb áll a 250 μ mol·m⁻²·s⁻¹-os értékhez. E megállapításunk összhangban van a korábban vizsgált *Desmodesmus armatus*-nál talált eredményekkel, ahol a szaporodás az alkalmazott öt PAR intenzitás közül 200 μ mol·m⁻²·s⁻¹-nál érte el maximumát. Természetesen elképzelhető, és valószínűsíthető, hogy a szaporodáshoz optimális fényintenzitás a vizsgált törzsek között eltérést mutat, de nem ennek megállapítása volt vizsgálatunk elsődleges célja.

Az UV sugárzás szaporodást befolyásoló hatásával kapcsolatban azt találtuk, hogy az általunk vizsgált zöldalgák az esetek többségében a cianobaktériumokhoz viszonyítva nagyobb UV-rezisztenciával rendelkeznek. Ez a rezisztenciabeli különbség több aspektusban is tetten érhető. Pusztán a szaporodási görbéket szemügyre véve jól látható, hogy UV sugárzás jelenlétében a tenyészetek kezdeti késési fázisa megnyúlt, ami arra utal, hogy a vizsgált törzseknek több időbe telt az akklimatizálódás, mint UV-mentes környezetben. Zöldalgáknál az alkalmazott UV-A sugárzás hatása elsősorban ebben a jelenségben nyilvánult meg, mely a hozzáadott
UV-B sugárzás hatására tovább fokozódott, de az alkalmazkodás folyamata változatlanul bekövetkezett. Az alkalmazkodás tényét alátámasztó exponenciális fázis a PAR+UV-A+UV-B kezelésben az MACC-534-es *Coenochloris* törzsnél jelentkezett a legmarkánsabban, ami azt sugallja, hogy ez a törzs nagyfokú UV-B rezisztenciával rendelkezik. A vizsgált *Chlorella* és *Scenedesmus* törzs némileg alacsonyabb alkalmazkodási képességűnek bizonyult, melyektől azonban messze elmaradt az MACC-203-as számú *Pseudochlorococcum typicum* rezisztenciája. A görbékről leolvasható interspecifikus különbségek a számított szaporodási rátákban is megmutatkoztak.

Merőben más kép tárul elénk a négy cianobaktérium törzs eredményeiből, a hatások a zöldalgáknál változatosabb módon jelentkeztek. A két fonalas törzs (MACC-277: Cylindrospermopsis raciborskii, illetve MACC-304: Anabaena sphaerica) UV sugárzással szemben kimondottan érzékenynek bizonyult, előbbi szaporodása elenyésző mértékű volt, míg utóbbinál a késési fázis hossza nőtt meg jelentős mértékben. Az egysejtű Synechococcus elongatus főleg 85 µmol·m⁻²·s⁻¹-nál mutatott számottevő UV-érzékenységet, az UV-A és UV-B sugárzás együttesen tartósabb gátlást okozott. A Synechococcus elongatus 250 µmol·m⁻²·s⁻¹ fényintenzitáson tapasztalt UV-rezisztenciájára mélyrehatóbb vizsgálatok hiányában magyarázat jelenleg nem adható, érdemes mégis megjegyezni, hogy Prabha és Kulandaivelu (2002) un. adaptív mutagenezissel sikeresen növelte egy Synechococcus faj UV-B sugárzással szembeni ellenálló képességét. Hasonló megállapítás tehető a Microcystis aeruginosa rezisztenciája tekintetében is. Alacsonyabb fényintenzitáson az alkalmazott UV sugárzáshoz való akklimatizálódás több időt igényelt, a két UV tartomány hatása azonban egyértelműen különbözött. UV-A-val történő besugárzásnál

a megnyúlt késési fázis után a tenyészet intenzív szaporodásnak indult, UV-B sugárzás hozzáadásával ugyanakkor erőteljes és tartós gátlás volt megfigyelhető.

A cianobaktériumoknál talált alacsony fokú rezisztencia ökológiai szempontból több kérdést is felvet, elsősorban azon törzsek esetében, amelyek szezonálisan, viszonylag rövid ideig, de nagy tömegben is megjelenhetnek felszíni vizeinkben (*Cylindrospermopsis raciborskii, Microcystis aeruginosa*). Eredményeikből egyértelműen arra kellene választ keresni, hogy amennyiben az említett fajok UV sugárzással szemben ennyire érzékenyek, milyen ökofiziológiai folyamat, vagy külső tényező nyújt lehetőséget tömeges elszaporodásukra? A vízoszlopban folyó vertikális migráció, vagy mint az a Balaton esetében is oly gyakran előfordul, a vertikális keveredés kellő védelmet adhat az UV sugárzással szemben, amennyiben a függőleges helyváltoztatásnak köszönhetően az említett fajok olyan vízmélységbe jutnak, melynél a fényviszonyok még elegendőek a fotoszintézis zavartalan működéséhez, de a nagyobb extinkció miatt az UV sugárzás káros hatásai már nem érezhetők.

6.4. Laboratóriumi zöldalga és cianobaktérium tenyészetek fotoszintetikus pigmentjeire gyakorolt UV-hatások

Kísérleteink során a tenyészetek klorofill-a tartalmára – a szaporodás esetében tapasztaltakhoz hasonlóan – a vizsgált zöldalga törzseknél egységes képet kaptunk, a cianobaktériumoknál nagyfokú változatosságra leltünk. Előbbiek esetében általában véve megállapíthatjuk, hogy törzstől és kezeléstől függetlenül alacsonyabb, 85 μ mol·m⁻²·s⁻¹ PAR intenzitáson a klorofill-a szárazanyagra vonatkoztatott mennyisége meghaladta a 250 μ mol·m⁻²·s⁻¹-on szaporított tenyészetek klorofill-a tartalmát. További

általános érvényű észrevételünk, hogy a klorofill-a UV-A sugárzás okozta csökkenése 250 μmol·m⁻²·s⁻¹ PAR sugárzásnál szignifikánsan nagyobb mértékűnek bizonyult a 85 μmol·m⁻²·s⁻¹-nál kimutatotthoz képest. Az alkalmazott UV-B sugárzás nem váltott ki további szignifikáns csökkenést, kivéve a *Pseudochlorococcum typicum*-ot, melynél a PAR+UV-A+UV-B kezelésre kapott klorofill-a tartalom a PAR+UV-A kezeléshez viszonyítva 43 %-kal csökkent. Ez a drasztikusan lecsökkent klorofill-a tartalom, mint azt a szaporodásnál is megfigyeltük, a törzs UV-B-vel szembeni gyenge rezisztenciájára utalhat.

Mindezen tendenciaszerűen megnyilvánuló összefüggések a cianobaktériumoknál nem voltak kimutathatók. A szaporodás tekintetében is legérzékenyebbnek mutatkozó *Cylindrospermopsis raciborskii* klorofill-a tartalmának UV sugárzás okozta drasztikus csökkenése bizonyos mértékig a szintén fonalas nitrogénfixáló *Anabaena sphaerica*-ban is megjelent, azonban az UV-B sugárzás további csökkenést nem okozott. A tesztelt egysejtű cianobaktérium törzsek merőben másképp reagáltak a változó fényviszonyokra, UV-A sugárzás jelenlétében szignifikáns csökkenés nem jelentkezett, sőt, a legtöbb esetben a klorofill-a tartalom emelkedését eredményezte. Ha azonban UV-A és UV-B sugárzás együttesen érte a tenyészeteket, már erőteljes csökkenés volt tapasztalható.

6.5. Az UV sugárzás hatása *Klebsormidium sp.* (MACC-426) pigmenttartalmára

A természetben képződő UV-szűrő vegyületek közül a mycosporineszerű aminosavak szintézise egyes cianobaktérium és alga taxonokban elterjedt mechanizmusnak számít, azonban zöldalgákban előfordulásuk igen ritkának mondható. A *Charophyceae* osztályba sorolt fajokban eddig nem

találtak MAA-kat, ennél fogva az általunk vizsgált *Klebsormidium sp.*-ben talált palythine merőben új eredménynek tekinthető, mely ezáltal új kérdéseket is felvet a vegyületcsoport előfordulásával és szintézisével kapcsolatban.

Akkumulációját illetőleg eredményeinkből leszűrhetjük, hogy legnagyobb mértékben az UV-B sugárzás indukálta, bár az alkalmazott UV fényforrások emissziója alapján indukciós akcióspektruma részben vagy teljes egészében az UV-A és UV-B tartományt egyaránt lefedheti. A spektrum pontos feltérképezéséhez az UV kezelések további finomítására volna szükség, mely az UV-A-s és UV-B-s kezelések szűkebb hullámhossz tartományokra történő felbontása révén érhető el (pl. több típusú speciális cut-off filter alkalmazásával). Eredményeinkhez hasonlóan több fonalas cianobaktérium fajnál is azt találták, hogy az indukciót elsősorban az UV-B sugárzás okozza (SINHA et al., 2002, 2003a). Fontos ugyanakkor megemlíteni, hogy cianobaktériumokban ez az MAA vegyület nem fordul elő. Palythine-t elsősorban barázdásostorosokban (FRASSANITO et al., 2005) és makroalgákban mutattak ki. Előbbiek közül a Gyrodinium dorsum faj esetében megállapították, hogy az indukció 310 nm táján éri el maximumát (KLISCH és HÄDER, 2002), ami alátámasztja a Klebsormidium fajjal kapcsolatban tett feltételezésünket.

Az MAA-k szintézise az akklimatizálódás folyamatával is kapcsolatban állhat, egy tengeri kovaalga esetében ugyanis kimutatták, hogy kezdeti UV stressz hatására termelésük csak a fotokémiai kapacitás helyreállása után indult meg (ZUDAIRE és ROY, 2001). A sugárzás elleni védekezés először a xantofill ciklus rövid távú aktiválásán keresztül valósult meg, melyet fokozatosan az MAA-k hosszú távú szintézise váltott fel. Ezek az eredmények jól tükrözik azt az álláspontot, miszerint az UV-abszorbeáló

vegyületek szintézise csupán egy az algákban működő védekezési mechanizmusok közül, melyek egymást kiegészítve lépnek működésbe az időről időre változó környezeti tényezőkre adott válaszreakciók formájában. Mindez bizonyos értelemben a vizsgálatunk tárgyát képező *Klebsormidium sp.* karotinoid és MAA tartalmában is tetten érhető. Azokban a kezelésekben, ahol a legkisebb összkarotinoid tartalmat találtuk (PAR+UV-B és PAR+UV-A+UV-B), a palythine relatív mennyisége meghaladta a PAR és PAR+UV-A tenyészetekben kapott értékeket. Feltételezhető tehát, hogy UV-B sugárzás jelenlétében, amikor a karotinoidok termelésével a sugárzás okozta károsodás már nem ellensúlyozható, a vizsgált faj az MAA vegyület szintézisével növeli rezisztenciáját, egyben túlélési esélyeit.

Figyelembe véve e vegyületcsoport pozitív hatásait, előnyös tulajdonságaik gyakorlati célú felhasználása a területen végzett jelenlegi kutatások logikus folytatását képezheti. Több összefoglaló tanulmányban is említésre kerültek, mint az emberi felhasználásra szánt, de potenciálisan fotooxidatív problémákkal terhelt mesterséges UV szűrő vegyületeket helyettesítő természetes anyagok (COCKELL és KNOWLAND, 1999; DE NYS és STEINBERG, 2002). Kozmetikai és élelmiszeripari felhasználásuk is felvetődött, például a Palmaria palmata vörös makroalga extraktumának antioxidáns és sejtburjánzást gátló hatása kapcsán, bár az még nem teljesen tisztázott, hogy az említett hatások valóban az aminosavakkal vagy esetleg más sikimisav úton képződő termékekkel (pl. fenolsavakkal) vannak összefüggésben (YUAN et al., 2005). Mindezen túl, a bizonyított és feltételezett pozitív hatások ellenére, gyakorlati felhasználásuk nem valósulhat meg hatékony biotechnológiai eljárások nélkül. Következésképp lényeges lenne meghatározni azokat a fajokat és tenyésztési feltételeket, melyekkel e vegyületek előállítása ipari méretekben is megoldható, mint azt

egy *Heterocapsa* barázdásostoros faj esetében már vizsgálták (MONTERO és LUBIÁN, 2003).

6.6. Az UV sugárzás hatása *Chlorella* törzsek sejtnövekedésére és hormontartalmára

A zöldalgák növényi hormon tartalmával kapcsolatos kutatások közül az első igazán meggyőző eredmények egy a szárazföldi növények elődjének tekinthető makroalgából, a Chara globularis-ból azonosított izopenteniladenozinról (iPA) számolnak be (ZHANG et al., 1989). Ezt követően zöld makroalgákban sikeresen mutattak ki izopentenil-adenint (iP), zeatint, zeatin-ribozidot (FAROOQI et al., 1990), valamint aromás citokinineket (STIRK et al., 2003). Egyre több bizonyíték utal arra, hogy a növényi hormonok a szervezettebb növényekhez hasonlóan az algák növekedésének és fejlődésének szabályozásában is részt vesznek (BRADLEY, 1991), ezért egyes cianobaktérium és egysejtű zöldalga fajok citokininszerű aktivitása kezdetben biotesztekkel került kimutatásra. Így például egy Arthronema africanum (Cyanobacteria) törzs uborka sziklevél biotesztben jelentős citokinin hatást produkált, ezzel szemben auxinszerű hatás nem volt tapasztalható (ÖRDÖG és PULZ, 1996). E vizsgálatok eredményei szerint a citokininszerű aktivitás napi ritmust követ: a fényszakasz kezdetén nem kimutatható, ugyanakkor 8 óra elteltével bioteszttel is értékelhető mértékű a hatás. Az aktivitás napi változásából a szerzők arra következtettek, hogy a fény ill. a fotoszintézis pozitív hatással bír e citokininszerű anyagok termelődésére. Fontos megállapítani továbbá, hogy a szuszpenzió és a centrifugálás útján nyert felülúszó hasonló mértékű aktivitást mutatott, melyből valószínűsíthető, hogy a hatást kiváltó anyagok extracelluláris természetűek. Később STIRK et al. (1999) GC-MS analízissel megállapította,

hogy az *Arthronema africanum*-ban bioteszttel mérhető biológiai aktivitás az iP-nek tulajdonítható.

A Mosonmagyaróvári Algatörzs Gyűjtemény egyes cianobaktérium és zöldalga törzsei esetében STIRK et al. (2002) szója kallusz, ill. uborka sziklevél bioteszttel sikerrel mutattak ki citokinin- ill. auxinszerű hatást. Ezt követően HPLC-MS analízis során kilenc *Protococcus, Chlorella* ill. *Scenedesmus* (Chlorophyta) törzsben sikerült citokinineket detektálni, melyek közül általában a zeatin ill. topolin konjugátumok voltak a domináns izoprén vázas, ill. aromás citokininek (ÖRDÖG et al., 2004). A bevizsgált törzsekben az eltérő koncentrációk ellenére a citokinin profilokban hasonló tendenciák mutatkoztak.

Az általunk vizsgált *Chlorella sp.* törzsben a hormonok koncentrációja bizonyos időpontokban határozottan eltért a kontrollhoz képest, de ezen eltérések és a sejtméretnél tapasztalt különbségek között egyértelmű összefüggést nem találtunk. A kísérlet végén az UV-A sugárzásnak kitett tenyészetekben az izopentenil-ribozid, az indol-3-ecetsav, valamint az abszcizinsav szárazanyagra vonatkoztatott mennyisége szignifikáns mértékben csökkent, tehát az UV-A hatása kimutatható. Ahhoz viszont, hogy megállapíthassuk, az UV-A sugárzás milyen közvetett vagy közvetlen mechanizmusokon keresztül gyakorol hatást a *Chlorella* sejtekre, és mindez mi módon befolyásolja a sejtek növekedését, a jelenleginél mélyrehatóbb kutatásokat tesz szükségessé.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

Munkánk során in situ, majd laboratóriumi kísérletekkel vizsgáltuk az UV sugárzás mikroalgákra kifejtett hatását, különös tekintettel fotoszintézisükre, szaporodásukra, valamint pigment és növényi hormon tartalmukra. A Balatonban előzetesen elvégzett is situ kísérletek során azt találtuk, hogy a fitoplanktont érő természetes UV sugárzás a felszín közelében a fotoszintézis erőteljes gátlását okozza. A felszíni gátlás túlnyomórészt a sugárzás UV-A tartományának volt tulajdonítható, vízoszlop egészére számítva gátlás mértéke ugyanakkor a a mérsékeltebbnek bizonyult.

A laboratóriumi körülmények között vizsgált Desmodesmus armatus zöldalgánál az alkalmazott UV-A sugárzás szignifikáns gátlást okozott a tenyészetek szaporodásában, melynek mértéke a PAR sugárzás intenzitásának növelésével fokozatosan erőteljesebbé vált. A sejtek klorofilla tartalmát elsősorban az PAR intenzitás befolyásolta, UV-A sugárzás jelenlétében szignifikáns eltérést nem találtunk, ezzel szemben a karotinoid tartalom csökkent. A tenyészetek cönóbium összetételében jelentős eltéréseket tapasztaltunk, UV-A sugárzás hatására a négysejtes cönóbiumok gyakorisága csökkent, a nyolcsejtes cönóbiumok szinte teljes mértékben eltűntek, ugyanakkor a kétsejtes és teratológikus cönóbiumok részaránya megnőtt. Mindez nem csupán a *Desmodesmus armatus* sejtek fejlődésének befolyásolását jelenti, hanem a táplálékhálón keresztül az algával táplálkozó elsődleges fogyasztókra is kihat.

A Mosonmagyaróvári Alga Törzsgyűjtemény általunk vizsgált zöldalga és cianobaktérium fajainak vizsgálataiból egyértelműen látszik, hogy az UV sugárzás hatása erősen fajspecifikus. A zöldalgákat érő UV sugárzás okozta szaporodásgátlás elsősorban a késési fázis megnyúlásában,

kisebb mértékben a maximális szaporodási ráta csökkenésében nyilvánult meg. A 250 µmol·m⁻²·s⁻¹ PAR intenzitásnál tapasztalt enyhe UV-A okozta gátlás 85 µmol·m⁻²·s⁻¹-nál tovább mérséklődött, UV-A-val és UV-B-vel történő együttes besugárzás mellett ugyanakkor egyes törzseknél a szaporodási ráta erőteljes csökkenését figyeltük meg. A PAR intenzitás emelésével, illetve az UV-A, majd UV-B sugárzás hozzáadásával párhuzamosan mind a négy törzsnél lecsökkent klorofill-a tartalmat találtunk. A cianobaktériumok esetében a kép nem volt ilyen egységes, de összességében megállapítható, hogy a zöldalgákhoz viszonyítva kisebb UVrezisztenciával rendelkeztek. Megfigyeltük továbbá, hogy az egysejtű cianobaktériumok szárazanyagra vetített klorofill-a tartalma UV-A sugárzás mellett bizonyos mértékű növekedést mutatott, viszont ha a kezelésben az UV-B-t is alkalmaztuk, drasztikus csökkenés volt megfigyelhető. Az alacsony UV-rezisztencia elsősorban a szezonálisan, nagy tömegben megjelenő cianobaktériumok (Cylindrospermopsis raciborskii, Microcystis aeruginosa) esetében vet fel kérdéseket.

A vizsgált törzsek közül az MACC-426-os törzsszámú *Klebsormidium sp.* laboratóriumi tenyészeteiben sikerrel mutattuk ki mycosporine-szerű aminosav jelenlétét. A HPLC-s vizsgálat eredményei szerint a kimutatott vegyület a palythine, melynek abszorpciós csúcsa 320 nm-en jelentkezik. Ha összehasonlítjuk a 100%-os metanolos extraktumok klorofill-a-ra normalizált abszorpciós spektrumát, megállapítható, hogy a PAR+UV-A kezeléshez viszonyítva a PAR+UV-B kezelésben másfélszer, a PAR+UV-A+UV-B kezelésben mintegy kétszer nagyobb abszorpciós csúcsot kaptunk. Ebből arra következtethetünk, hogy a vegyület indukálásában az UV-B sugárzás szerepe a legjelentősebb. A szárazanyagra vonatkoztatott klorofill-a tartalom az UV-val kezelt tenyészetekben a

kontrollhoz képest csökkent, a legalacsonyabb klorofill-a tartalmat a PAR+UV-A+UV-B kezelés esetén kaptuk. A karotinoid tartalom ettől eltérően UV-A-val való besugárzás esetén érte el legmagasabb értékét, ugyanakkor UV-B sugárzás mellett jelentősen csökkent. A pigmentösszetétel változása arra enged következtetni, hogy az UV-B sugárzás által indukált mycosporine-szerű aminosav nyújtotta passzív védelem nem tette szükségessé a szintén védelmi szerepet betöltő karotinoidok szintjének további fenntartását.

A növényi hormonok vizsgálatára irányuló, MACC-458-as Chlorella sp. törzs szinkrontenyészeteivel végzett kísérletben alkalmazott UV-A sugárzás az inkubációs idő előrehaladtával egyre markánsabb változást okozott a sejtméret alakulásában. A sejtek osztódása a sötét szakasz közepe táján ment végbe, majd a fényszakasz kezdetével a sejtek növekedésnek indultak, mely során az UV-A-val kezelt tenyészetek sejtmérete fokozatosan alulmaradt a kontroll tenyészetekben mért sejtméretekhez képest. A hormontartalom változása bizonyos időpontokban ugyan eltért a két de egyértelmű összefüggést a sejtméretnél tapasztalt kezelésben, különbségekkel nem találtunk. A kísérlet végén az UV-A sugárzásnak kitett tenyészetekben az izopentenil-ribozid, az indol-3-ecetsav, valamint az abszcizinsav szárazanyagra vonatkoztatott mennyisége szignifikáns mértékben csökkent, tehát az UV-A hatása kimutatható, de a hormonok mennyiségét befolyásoló mechanizmusok feltárásához mélyrehatóbb kutatásokra volna szükség.

8. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

A Balaton fitoplanktonjában végzett előzetes *in situ* vizsgálatokból, majd az UV sugárzás mikroalga törzsekre gyakorolt hatásait feltáró laboratóriumi kísérletekből nyert új tudományos eredmények az alábbi felsorolásban kerülnek bemutatásra:

- Hazai felszíni vizekben elsőként mutattuk ki az ultraibolya sugárzás fitoplankton fotoszintézisre gyakorolt hatását. A Balatonban végzett kísérletek eredményei szerint az UV sugárzás hatásának tulajdonítható felszíni gátlás jelentős részét, átlagosan 75%-át az UV-A sugárzás okozta. A vízoszlop egészére számított elsődleges termelésben az ultraibolya sugárzás jóval szerényebb, 8-14%-os gátlást eredményezett.
- 2. A Desmodesmus armatus zöldalga erős UV-A sugárzás jelenlétében tapasztalt szaporodásgátlásán, valamint celluláris karotinoidtartalmának és karotinoid/klorofill-a arányának változásán túlmenően megfigyelt morfológiai változásokat korábban nem vizsgálták. UV-A sugárzás jelenlétében kisebb volt a négy- és nyolcsejtes cönóbiumok részaránya, ugyanakkor a kétsejtű és teratológikus formák relatív gyakorisága jelentősen megnőtt.
- 3. A Mosonmagyaróvári Alga Törzsgyűjteményből származó mikroalga törzsek vizsgálatai alapján megállapítható, hogy a zöldalgákat érő UV sugárzás okozta szaporodásgátlás és a klorofill-a tartalom csökkenése egységes képet mutatott, ezzel szemben a cianobaktériumok esetében nagyfokú változékonyság volt

¹⁵²

megfigyelhető. A nagyobb UV-rezisztenciával rendelkező zöldalga tenyészetekkel szemben a vizsgált cianobaktérium törzsek szaporodás tekintetében többnyire nagyfokú érzékenységet mutattak az alkalmazott UV-A és UV-B sugárzással szemben.

- 4. Az MACC-426-os törzsszámú Klebsormidium sp. zöldalgából sikerrel mutattunk ki UV-abszorbeáló, mycosporine-szerű aminosavat. A HPLC-s vizsgálattal azonosított palythine akkumulációját az alkalmazott UV sugárzás indukálta, melyen belül az UV-B sugárzás hatása bírt nagyobb jelentőséggel.
- 5. Elsőként vizsgáltuk az UV sugárzás mikroalga tenyészet növényi hormontartalmára gyakorolt hatását. Az alkalmazott UV-A sugárzás kismértékben gátolta az MACC-458-as számú *Chlorella sp.* törzs sejtnövekedését, és szignifikáns csökkenést okozott az izopentenilribozid, az indol-3-ecetsav, valamint az abszcizinsav szárazanyagra vonatkoztatott mennyiségében. A sejtméret és a hormontartalom időbeli változása között közvetlen összefüggést kísérletünkben nem találtunk.

9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetet mondok témavezetőimnek Dr. Ördög Vincének és Dr. Vörös Lajosnak, akik lehetőséget adtak arra, hogy a feldolgozott témában sokrétű, eredményekben gazdag kutatómunkát végezhessek, és akik szakmai tudásukkal, útmutatásukkal, tanácsaikkal nagy segítséget nyújtottak mind a kísérletek elvégzésében, mind az értekezés megírásában.

Külön köszönettel tartozom témavezetőimnek, valamint a Doktori Iskola vezetőjének, Dr. Neményi Miklósnak a dolgozatom elkészültéig tanúsított türelmükért és bizalmukért.

Köszönettel tartozom Dr. Miroslav Strnad-nak, az Olomouci Egyetemen működő, növekedés szabályozó anyagokat vizsgáló laboratórium vezetőjének, aki lehetőséget biztosított a növényi hormonok meghatározására alkalmazott analitikai technikák elsajátításához és a munkám részét képező vizsgálatok elvégzéséhez.

Köszönöm Dr. Donat-Peter Hädernek, az Erlangeni Egyetem botanikai intézetvezetőjének, hogy engedélyezte intézetükben tett látogatásomat, mely során megismerkedhettem a mycosporine-szerű aminosavak kutatásában végzett munkájukkal, továbbá hogy az aminosavak azonosításához szükséges standardokat a rendelkezésemre bocsátotta. Az aminosavak analitikai kimutatásában elvégzett segítőkész munkájáért Dr. Szalai Gabriellának, a martonvásári MTA Mezőgazdasági Kutatóintézet tudományos főmunkatársának tartozom köszönettel.

Külön köszönettel tartozom a Nyugat-Magyarországi Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar Növényélettan és Növényi Biotechnológia Tanszékén dolgozó egykori munkatársaimnak, Dr. Molnár Zoltánnak, Bálint Péternek és Korczné Lobik Ildikónak a munkámban nyújtott segítségükért.

10. IRODALOMJEGYZÉK

- AGUILERA, J., K. BISCHOF, U. KARSTEN, D. HANELT and C. WIENCKE (2002): Seasonal variation in ecophysiological patterns in macroalgae from an Arctic fjord. II. Pigment accumulation and biochemical defence systems against high light stress. *Mar. Biol.* **140**: 1087-1095.
- ALLAKHVERDIEV, S.I., Y. NISHIYAMA, S. TAKAHASHI, S. MIYAIRI, I. SUZUKI and N. MURATA (2005): Systematic analysis of the relation of electron transport and ATP synthesis to the photodamage and repair of Photosystem II in *Synechocystis*. *Plant Physiol.* **137**: 263-273.
- ALLEN, D.J., S. NOGUÉS and N.R. BAKER (1998): Ozone depletion and increased UV-B radiation: is there a real threat to photosynthesis? *J. Exp. Bot.* **49**: 1775-1788.
- ALTAMIRANO, M., A. FLORES-MOYA and F.L. FIGUEROA (2003): Effects of UV radiation and temperature on growth of germlings of three species of *Fucus* (Phaeophyceae). *Aquat. Bot.* **75**: 9-20.
- AN, S.S., T. FRIEDL and E. HEGEWALD (1999): Phylogenetic relationships of Scenedesmus and Scenedesmus-like coccoid green algae as inferred from ITS-2 rDNA sequence comparisons. *Plant Biol.* 1: 418-428.
- ANDERSSON, B. and J. BARBER (1996): Mechanisms of photodamage and protein degradation during photoinhibition of photosystem II. *In:* BAKER, N.R. (ed.): *Photosynthesis and the Environment*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 101-121.
- ARÁOZ, R., M. SHELTON, M. LEBERT and D.-P. HÄDER (1998): Differential behaviour of two cyanobacterium species to UV radiation. Artificial UV radiation induces phycoerythrin synthesis. J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 44: 175-183.
- ARTS, M.T., H. RAI and V.P. TUMBER (2000): Effects of artificial UV-A and UV-B radiation on carbon allocation in *Synechococcus elongatus* (cyanobacterium) and *Nitzschia palea* (diatom). *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 27: 2000–2007.
- BANASZAK, A.T. and P.J. NEALE (2001): Ultraviolet radiation sensitivity of photosynthesis in phytoplankton from an estuarine environment. *Limnol. Oceanogr.* **46**: 592-603.
- BARBIERI, E.S., V.E. VILLAFAÑE and E.W. HELBLING (2002): Experimental assessment of UV effects on temperate marine phytoplankton when exposed to variable radiation regimes. *Limnol. Oceanogr.* **47**: 1648-1655.
- BERTONI, R. and C. CALLIERI (1999): Effects of UVB radiation on freshwater autotrophic and heterotrophic picoplankton in a subalpine lake. *J. Plankton Res.* **21**: 1373-1388.

- BIDIGARE, R.R., M.E. ONDRUSEK, M.C. KENNICUTT II, R.H. ITURRIAGA, R. HARVEY, R.W. HOHAM and S.A. MACKO (1993): Evidence for a photoprotective function for secondary carotenoids of snow algae. J. Phycol. 29: 427-434.
- BISCHOF, K., G. KRÄBS, D. HANELT and C. WIENCKE (2000): Photosynthetic characteristics and mycosporine-like amino acids under UV radiation: a competitive advantage of *Mastocarpus stellatus* over *Chondrus crispus* at the Helgoland shoreline? *Helgol. Mar. Res.* **54**: 47-52.
- BISCHOF, K., G. KRÄBS, C. WIENCKE and D. HANELT (2002): Solar ultraviolet radiation affects the activity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase and the composition of photosynthetic and xanthophyll cycle pigments in the intertidal green alga *Ulva lactuca* L. *Planta* **215**: 502–509.
- BIŠOVÁ, K., M. VÍTOVÁ and V. ZACHLEDER (2000): The activity of total histone H1 kinases is related to growth and commitment points while the p13^{suc1}-bound kinase activity relates to mitoses in the alga *Scenedesmus quadricauda*. *Plant Physiol. Biochem.* **38**: 755–764.
- BLUMTHALER, M. and W. AMBACH (1990): Indication of increasing solar ultraviolet-B radiation flux in alpine regions. *Science* 248: 206-208.
- BOELEN, P., A.F. POST, M.J.W. VELDHUIS and A.G.J. BUMA (2002): Diel patterns of UVBR-induced DNA damage in picoplankton size fractions from the Gulf of Aqaba, Red Sea. *Microb. Ecol.* **44**: 164-174.
- BOUCHARD, J.N., D.A. CAMPBELL and S. ROY (2005): Effects of UV-B radiation on the D1 protein repair cycle of natural phytoplankton communities from three latitudes (Canada, Brazil and Argentina). *J. Phycol.* **41**: 273-286.
- BÖHM, G.A., W. PFLEIDERER, P. BÖGER and S. SCHERER (1995): Structure of a novel oligosaccharide-mycosporine-amino acid ultraviolet A/B sunscreen pigment from the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune*. *J. Biol. Chem.* 270: 8536-8539.
- BRADLEY, P.M. (1991): Plant hormones do have a role in controlling growth and development of algae. J. Phycol. 27: 317-321.
- BRENOWITZ, S. and R.W. CASTENHOLZ (1997): Long-term effects of UV and visible irradiance on natural populations of a scytonemin-containing cyanobacterium (*Calothrix* sp.). *FEMS Microbiol. Ecol.* **24**: 343-352.
- BRIGGS, W.R. and J.M. CHRISTIE (2002): Phototropins 1 and 2: versatile plant blue-light receptors. *Trends in Plant Sci.* 7: 204-210.
- BUMA, A.G.J., H.J. ZEMMELINK, K. SJOLLEMA and W.W.C. GIESKES (1996): UVB radiation modifies protein and photosynthetic pigment content, volume and ultrastructure of marine diatoms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **142**: 47-54.

- BUMA, A.G.J., M.K. DE BOER and P. BOELEN (2001*a*): Depth distributions of DNA damage in Antarctic marine phyto- and bacterioplankton exposed to summertime UV radiation. *J. Phycol.* 37: 200–208.
- BUMA, A.G.J., E.W. HELBLING, M.K. DE BOER and V.E. VILLAFAÑE (2001b): Patterns of DNA damage and photoinhibition in temperate South-Atlantic picophytoplankton exposed to solar ultraviolet radiation. J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 62: 9–18.
- BÜDEL, B., U. KARSTEN and F. GARCIA-PICHEL (1997): Ultravioletabsorbing scytonemin and mycosporine-like amino acid derivatives in exposed, rock-inhabiting cyanobacterial lichens. *Oecologia*. **112**: 165-172.
- BÜHLMANN, B., P. BOSSARD and U. UEHLINGER (1987): The influence of longwave ultraviolet radiation (u.v.-A) on the photosynthetic activity (¹⁴C-assimilation) of phytoplankton. *J. Plankton Res.* **9**: 935-943.
- CABRERA, S., M. LÓPEZ and B. TARTAROTTI (1997): Phytoplankton and zooplankton response to ultraviolet radiation in a high-altitude Andean lake: short- versus long-term effects. *J. Plankton Res.* **19**: 1565-1582.
- CARRETO, J.I., M.O. CARIGNAN and N.G. MONTOYA (2001): Comparative studies on mycosporine-like amino acids, paralytic shellfish toxins and pigment profiles of the toxic dinoflagellates *Alexandrium tamarense*, *A. catenella* and *A. minutum. Mar. Ecol. Prog. Ser.* **223**: 49-60.
- CARRETO, J.I., M.O. CARIGNAN and N.G. MONTOYA (2005): A highresolution reverse-phase liquid chromatography method for the analysis of mycosporine-like amino acids (MAAs) in marine organisms. *Mar. Biol.* **146**: 237-252.
- CARRILLO, P., J.M. MEDINA-SÁNCHEZ and M. VILLAR-ARGAIZ (2002): The interaction of phytoplankton and bacteria in a high mountain lake: Importance of the spectral composition of solar radiation. *Limnol. Oceanogr.* 47: 1294-1306.
- CASTENHOLZ, R.W. (1997): Multiple strategies for UV tolerance in cyanobacteria. *Spectrum* **10**: 10-16.
- COCKELL, C.S. and J. KNOWLAND (1999): Ultraviolet radiation screening compounds. *Biol. Rev.* 74: 311-345.
- CONDE, F.R., M.S. CHURIO and C.M. PREVITALI (2000): The photoprotector mechanism of mycosporine-like amino acids. Excited-state properties and photostability of porphyra-334 in aqueous solution. J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 56: 139-144.
- CONDE, F.R., M.O. CARIGNAN, M.S. CHURIO and J.I. CARRETO (2003): *In vitro cis-trans* photoisomerization of palythene and usujirene. Implications on the *in vivo* transformation of mycosporine-like amino acids. *Photochem. Photobiol.* **77**: 146-150.

- CORDI, B., M.H. DEPLEDGE, D.N. PRICE, L.F. SALTER and M.E. DONKIN (1997): Evaluation of chlorophyll fluorescence, in vivo spectrophotometric pigment absorption and ion leakage as biomarkers of UV-B exposure in marine macroalgae. *Mar. Biol.* **130**: 41–49.
- CRUTZEN, P.J. (1992): Ultraviolet on the increase. Nature 356: 104-105.
- DANILOV, R.A. and N.G.A. EKELUND (2001): Effects of solar radiation, humic substances and nutrients on phytoplankton biomass and distribution in Lake Solumsjö, Sweden. *Hydrobiologia* **444**: 203-212.
- DAVIDSON, A.T. and H.J. MARCHANT (1994): Comparative impact of *in situ* UV exposure on productivity, growth and survival of Antarctic *Phaeocystis* and diatoms. *Proc. NIPR Symp. Polar Biol.* **7**: 53-69.
- DE LANGE, H.J. and M. LÜRLING (2003): Effects of UV-B irradiated algae on zooplankton grazing. *Hydrobiologia* **491**: 133–144.
- DE LANGE, H.J. and P.L. VAN REEUWIJK (2003): Negative effects of UVBirradiated phytoplankton on life history traits and fitness of *Daphnia magna*. *Freshwater Biol*. **48**: 678–686.
- DE NYS, R. and P.D. STEINBERG (2002): Linking marine biology and biotechnology. *Curr. Opin. Biotechnol.* **13**: 244-248.
- DILLON, J.G. and R.W. CASTENHOLZ (1999): Scytonemin, a cyanobacterial sheath pigment, protects against UVC radiation: implications for early photosynthetic life. *J. Phycol.* **35**: 673-681.
- DILLON, J.G., C.M. TATSUMI, P.G. TANDINGAN and R.W. CASTENHOLZ (2002): Effect of environmental factors on the synthesis of scytonemin, a UV-screening pigment, in a cyanobacterium (*Chroococcidiopsis* sp.). *Arch. Microbiol.* 177: 322-331.
- DONKOR, V.A. and D.-P. HÄDER (1991): Effects of solar and ultraviolet radiation on motility, photomovement and pigmentation in filamentous, gliding cyanobacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* **86**: 159-168.
- DONKOR, V.A., D.H.A.K. AMEWOWOR and D.-P. HÄDER (1993): Effects of tropical solar radiation on the motility of filamentous cyanobacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* **12**: 143-148.
- DONKOR, V.A. and D.-P. HÄDER (1995): Protective strategies of several cyanobacteria against solar radiation. J. Plant Physiol. 145: 750-755.
- DOYLE, S.A., J.E. SAROS and C.E. WILLIAMSON (2005): Interactive effects of temperature and nutrient limitation on the response of alpine phytoplankton growth to ultraviolet radiation. *Limnol. Oceanogr.* **50**: 1362-1367.
- DÖHLER, G. (1995): Impact of UV-A and UV-B irradiance on the patterns of pigments and ¹⁵N ammonium assimilation of the tropical marine diatom *Bellerochea yucatanensis. Bot. Mar.* **38**: 513–518.

- DÖHLER, G. and M. LOHMANN (1995): Impact of UV radiation of different wavebands on the pigmentation of the haptophycean *Pavlova*. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **27**: 265–270.
- DÖHLER, G., E. HAGMEIER and CH. DAVID (1995): Effects of solar and artificial UV irradiation on pigments and assimilation of ¹⁵N ammonium and ¹⁵N nitrate by macroalgae. J. Photochem. Photobiol. B: Biol. **30**: 179–187.
- DUNLAP, W.C., B.E. CHALKER and J.K. OLIVER (1986): Bathymethric adaptations of reef-building corals at Davies Reef, Great Barrier Reef, Australia. III. UV-B absorbing compounds. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **104**: 239-248.
- EHLING-SCHULZ, M., W. BILGER and S. SCHERER (1997): UV-B-induced synthesis of photoprotective pigments and extracellular polysaccharides in the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune*. *J. Bacteriol.* **179**: 1940-1945.
- ENTZ, B. (1979): Physikalische und chemische Mikroschichtungen im seichten Balatonsee. *Biol. Forsch. Inst. Burgenland Bericht* **33**: 3-17.
- ESTEVEZ, M.S., G. MALANGA and S. PUNTARULO (2001): UV-B effects on Antarctic *Chlorella* sp cells. J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 62: 19-25.
- FAROOQI, A.H.A., Y. SHUKLA, A. SHUKLA and D.S. BHAKUNI (1990): Cytokinins from marine organisms. *Phytochemistry* **29**: 2061-2063.
- FAUCHOT, J., M. GOSSELIN, M. LEVASSEUR, B. MOSTAJIR, C. BELZILE, S. DEMERS, S. ROY and P.Z. VILLEGAS (2000): Influence of UV-B radiation on nitrogen utilization by a natural assemblage of phytoplankton. J. *Phycol.* 36: 484-496.
- FAVRE-BONVIN, J., J. BERNILLON, N. SALIN and N. ARPIN (1987): Biosynthesis of mycosporines: mycosporine glutaminol in *Trichothecium roseum*. *Phytochem*. 26: 2509-2514.
- FIGUEROA, F.L., L. ESCASSI, E. PÉREZ-RODRÍGUEZ, N. KORBEE, A.D. GILES and G. JOHNSEN (2003*a*): Effects of short-term irradiation on photoinhibition and accumulation of mycosporine-like amino acids in sun and shade species of the red algal genus *Porphyra. J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **69**: 21-30.
- FIGUEROA, F.L., C. NYGÅRD, N. EKELUND and I. GÓMEZ (2003b): Photobiological characteristics and photosynthetic UV responses in two Ulva species (Chlorophyta) from southern Spain. J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 72: 35–44.
- FLORES-MOYA, A., D. HANELT, F.L. FIGUEROA, M. ALTAMIRANO, B. VIÑEGLA and S. SALLES (1999): Involvement of solar UV-B radiation in recovery of inhibited photosynthesis in the brown alga *Dictyota*

dichotoma (Hudson) Lamouroux. J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 49: 129–135.

- FRANKLIN, L.A., G. KRÄBS and R. KUHLENKAMP (2001): Blue light and UV-A radiation control the synthesis of mycosporine-like amino acids in *Chondrus crispus* (Florideophyceae). J. Phycol. 37: 257-270.
- FRASSANITO, R., M. CANTONATI, M. TARDÍO, I. MANCINI and G. GUELLA (2005): On-line identification of secondary metabolites in freshwater microalgae and cyanobacteria by combined liquid chromatographyphotodiode array detection-mass spectrometric techniques. J. Chromatogr. A 1082: 33-42.
- FURGAL, J.A. and R.E.H. SMITH (1997): Ultraviolet radiation and photosynthesis by Georgian Bay phytoplankton of varying nutrient and photoadaptive status. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **54**: 1659-1667.
- GARCIA-PICHEL, F. and R.W. CASTENHOLZ (1991): Characterization and biological implications of scytonemin, a cyanobacterial sheath pigment. *J. Phycol.* **27**: 395-409.
- GARCIA-PICHEL, F., N.D. SHERRY and R.W. CASTENHOLZ (1992): Evidence for an ultraviolet sunscreen role of the extracellular pigment scytonemin in the terrestrial cyanobacterium *Chlorogloeopsis* sp. *Photochem. Photobiol.* **56**: 17-23.
- GARCIA-PICHEL, F., U. NÜBEL and G. MUYZER (1998): The phylogeny of unicellular, extremely halotolerant cyanobacteria. *Arch. Microbiol.* **169**: 469-482.
- GHETTI, F., H. HERRMANN, D.-P. HÄDER and H.K. SEIDLITZ (1999): Spectral dependence of the inhibition of photosynthesis under simulated global radiation in the unicellular green alga *Dunaliella salina*. J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 48: 166-173.
- GLEASON, D.F. (1993): Differential effects of ultraviolet radiation on green and brown morphs of the Caribbean coral *Porites astreoides*. *Limnol. Oceanogr.* 38: 1452-1463.
- GOES, J.I., N. HANDA, S. TAGUCHI, T. HAMA and H. SAITO (1996): Metabolism of neutral monosaccharide constituents of storage and structural carbohydrates in natural assemblages of marine phytoplankton exposed to ultraviolet radiation. *Limnol. Oceanogr.* **41**: 1478-1489.
- GÓMEZ, I., F.L. FIGUEROA, P. HUOVINEN, N. ULLOA and V. MORALES (2005): Photosynthesis of the red alga *Gracilaria chilensis* under natural solar radiation in an estuary in southern Chile. *Aquaculture* **244**: 369-382.
- GRAHAM, L.E. and L.W. WILCOX (ed.) (2000): Algae. Prentice Hall Inc, Upper Saddle River, NJ 07458

- GRÖNIGER, A., R.P. SINHA, M. KLISCH and D.-P. HÄDER (2000): Photoprotective compounds in cyanobacteria, phytoplankton and macroalgae – a database. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* 58: 115-122.
- GRÖNIGER, A. and D.-P. HÄDER (2002): Induction of the synthesis of an UV-absorbing substance in the green alga *Prasiola stipitata*. J. *Photochem. Photobiol. B: Biol.* **66**: 54-59.
- HALAC, S., M. FELIP, L. CAMARERO, S. SOMMARUGA-WÖGRATH, R. PSENNER, J. CATALAN and R. SOMMARUGA (1997): An *in situ* enclosure experiment to test the solar UVB impact on plankton in a high-altitude mountain lake. I. Lack of effect on phytoplankton species composition and growth. J. Plankton Res. 19: 1671-1686.
- HAN, T., R.P. SINHA and D.-P. HÄDER (2001): UV-A/blue light-induced reactivation of photosynthesis in UV-B irradiated cyanobacterium, *Anabaena* sp. *J. Plant Physiol.* **158**: 1403-1413.
- HAN, T., Y.-S. HAN, J.M. KAIN and D.-P. HÄDER (2003*a*): Thallus differentiation of photosynthesis, growth, reproduction, and UV-B sensitivity in the green alga *Ulva pertusa* (Chlorophyceae). *J. Phycol.* **39**: 712-721.
- HAN, T., Y.-S. HAN, K.-Y. KIM, J.-H. KIM, H.-W. SHIN, J.M. KAIN, J.A. CALLOW and M.E. CALLOW (2003b): Influences of light and UV-B on growth and sporulation of the green alga *Ulva pertusa* Kjellman. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **290**: 115-131.
- HAN, T., R.P. SINHA and D.-P. HÄDER (2003*c*): Effects of intense PAR and UV radiation on photosynthesis, growth and pigmentation in the rice-field cyanobacterium *Anabaena* sp. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2**: 649-654.
- HANELT, D., C. WIENCKE and W. NULTSCH (1997): Influence of UV radiation on the photosynthesis of Arctic macroalgae in the field. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **38**: 40-47.
- HAZZARD, C., M.P. LESSER and R.A. KINZIE III (1997): Effects of ultraviolet radiation on photosynthesis in the subtropical marine diatom, *Chaetoceros gracilis* (Bacillariophyceae). *J. Phycol.* **33**: 960-968.
- HE, Y.-Y. and D.-P. HÄDER (2002): Involvement of reactive oxygen species in the UV-B damage to the cyanobacterium *Anabaena* sp. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **66**: 73-80.
- HEGEWALD, E. (2000): New combinations in the genus *Desmodesmus* (Chlorophyceae, Scenedesmaceae). *Algological Studies* **96**: 1-18.
- HELBLING, E.W., A.G.J. BUMA, M.K. DE BOER and V.E. VILLAFAÑE (2001*a*): *In situ* impact of solar ultraviolet radiation on photosynthesis and DNA in temperate marine phytoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **211**: 43-49.

- HELBLING, E.W., V.E. VILLAFAÑE, A.G.J. BUMA, M. ANDRADE and F. ZARATTI (2001*b*): DNA damage and photosynthetic inhibition induced by solar ultraviolet radiation in tropical phytoplankton (Lake Titicaca, Bolivia). *Eur. J. Phycol.* **36**: 157–166.
- HERNANDO, M., J.I. CARRETO, M.O. CARIGNAN, G.A. FERREYRA and C. GROSS (2002): Effects of solar radiation on growth and mycosporine-like amino acids content in *Thalassiosira* sp, an Antarctic diatom. *Polar Biol.* 25: 12-20.
- HERODEK, S. and G. TAMÁS (1975): Phytoplankton production in Lake Balaton. *Symp. Biol. Hung.* **15**: 29-34.
- HERODEK, S. és G. TAMÁS (1976): A fitoplankton tömege, termelése és a Balaton eutrofizálódása. *Hidrológiai Közlöny*: 219-228.
- HERODEK, S. (1977): A Balaton. In: FELFÖLDY, L. (ed.): Hidrológiai Továbbképző Tanfolyam – Tihany 1. Primer produkció 1976-1977. Tihany, pp. 201-230.
- HERODEK, S., L. VÖRÖS és F. TÓTH (1982): A fitoplankton tömege, termelése és a Balaton eutrofizálódása III. Balatonszemesi-medence 1976-1977, Siófoki-medence 1977. *Hidrológiai Közlöny*: 220-229.
- HERRMANN, H., D.-P. HÄDER, M. KÖFFERLEIN, H.K. SEIDLITZ and F. GHETTI (1996): Effects of UV radiation on photosynthesis of phytoplankton exposed to solar simulator light. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **34**: 21-28.
- HESSEN, D.O., H.J. DE LANGE and E. VAN DONK (1997): UV-induced changes in phytoplankton cells and its effects on grazers. *Freshwater Biol.* **38**: 513–524.
- HIDEG, É. and I. VASS (1996): UV-B induced free radical production in plant leaves and isolated thylakoid membranes. *Plant Sci.* **115**: 251-260.
- HIGLEY, B., H.J. CARRICK, M.T. BRETT, C. LUECKE and C.R. GOLDMAN (2001): The effects of ultraviolet radiation and nutrient additions on periphyton biomass and composition in a sub-alpine lake (Castle Lake, USA). *Internat. Rev. Hydrobiol.* **86**: 147-163.
- HIRIART, V.P., B.M. GREENBERG, S.J. GUILDFORD and R.E.H. SMITH (2002): Effects of ultraviolet radiation on rates and size distribution of primary production by Lake Erie phytoplankton. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **59**: 317–328.
- HOFFMAN, J.R., L.J. HANSEN and T. KLINGER (2003): Interactions between UV radiation and temperature limit inferences from single-factor experiments. *J. Phycol.* **39**: 268–272.
- HOYER, K., U. KARSTEN and C. WIENCKE (2002): Induction of sunscreen compounds in Antarctic macroalgae by different radiation conditions. *Mar. Biol.* **141**: 619-627.

- Hsu, T., R.-C. Sheu and Y.-S. LAI (2000): Possible involvement of a 72kDa polypeptide in nucleotide excision repair of *Chlorella pyrenoidosa* identified by affinity adsorption and repair synthesis assay. *Plant Sci.* **156**: 95-102.
- HUOVINEN, P., J. MATOS, I.S. PINTO and F.L. FIGUEROA (2006): The role of ammonium in photoprotection against high irradiance in the red alga *Grateloupia lanceola*. *Aquat. Bot.* **84**: 308-316.
- ISHIKURA, M., C. KATO and T. MARUYAMA (1997): UV-absorbing substances in zooxanthellate and azooxanthellate clams. *Mar. Biol.* **128**: 649-655.
- ITO, S. and Y. HIRATA (1977): Isolation and structure of a mycosporine from the zoanthid *Palythoa tuberculosa*. *Tetrah. Lett.* **28**: 2429-2430.
- JAHNKE, L.S. (1999): Massive carotenoid accumulation in *Dunaliella bardawil* induced by ultraviolet-A radiation. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **48**: 68–74.
- KARSTEN, U., L.A. FRANKLIN, K. LÜNING and C. WIENCKE (1998): Natural ultraviolet radiation and photosynthetically active radiation induce formation of mycosporine-like amino acids in the marine macroalga *Chondrus crispus* (Rhodophyta). *Planta* **205**: 257-262.
- KARSTEN, U., T. SAWALL, J. WEST and C. WIENCKE (2000): Ultraviolet sunscreen compounds in epiphytic red algae from mangroves. *Hydrobiologia* **432**: 159-171.
- KARSTEN, U. and J.A. WEST (2000): Living in the intertidal zone: seasonal effects on heterosides and sun-screen compounds in the red alga *Bangia atropurpurea* (Bangiales). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **254**: 221-234.
- KARSTEN, U., A. DUMMERMUTH, K. HOYER and C. WIENCKE (2003): Interactive effects of ultraviolet radiation and salinity on the ecophysiology of two Arctic red algae from shallow waters. *Polar Biol.* 26: 249-258.
- KERR, J.B. and C.T. MCELROY (1993): Evidence for large upward trends of ultraviolet-B radiation linked to ozone depletion. *Science* **262**: 1032–1034.
- KIM, D.-S. and Y. WATANABE (1994): Inhibition of growth and photosynthesis of freshwater phytoplankton by ultraviolet A (UVA) radiation and subsequent recovery from stress. *J. Plankton Res.* **16**: 1645-1654.
- KINZIE III, R.A., A.T. BANASZAK and M.P. LESSER (1998): Effects of ultraviolet radiation on primary productivity in a high altitude tropical lake. *Hydrobiologia* **385**: 23-32.
- KIRK, J.T.O. (1994*a*): Light and photosynthesis in aquatic ecosystems. Cambridge University Press, Cambridge.

- KIRK, J.T.O. (1994b): Optics of UV-B radiation in natural waters. Arch. *Hydrobiol. Beih.* **43**: 1-16.
- KLISCH, M. and D.-P. HÄDER (2000): Mycosporine-like amino acids in the marine dinoflagellate *Gyrodinium dorsum*: induction by ultraviolet irradiation. J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 55: 178-182.
- KLISCH, M., R.P. SINHA, P.R. RICHTER and D.-P. HÄDER (2001): Mycosporine-like amino acids (MAAs) protect against UV-B-induced damage in *Gyrodinium dorsum* Kofoid. J. Plant Physiol. 158: 1449-1454.
- KLISCH, M. and D.-P. HÄDER (2002): Wavelength dependence of mycosporine-like amino acid synthesis in *Gyrodinium dorsum*. J. *Photochem. Photobiol. B: Biol.* **66**: 60-66.
- KORBEE, N., F.L. FIGUEROA and J. AGUILERA (2005*a*): Effect of light quality on the accumulation of photosynthetic pigments, proteins and mycosporine-like amino acids in the red alga *Porphyra leucosticta* (Bangiales, Rhodophyta). *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **80**: 71-78.
- KORBEE, N., P. HUOVINEN, F.L. FIGUEROA, J. AGUILERA and U. KARSTEN (2005b): Availability of ammonium influences photosynthesis and the accumulation of mycosporine-like amino acids in two *Porphyra* species (Bangiales, Rhodophyta). *Mar. Biol.* 146: 645-654.
- KÖHLER, J., M. SCHMITT, H. KRUMBECK, M. KAPFER, E. LITCHMAN and P.J. NEALE (2001): Effects of UV on carbon assimilation of phytoplankton in a mixed water column. *Aquat. Sci.* **63**: 294-309.
- KRÄBS, G., K. BISCHOF, D. HANELT, U. KARSTEN and C. WIENCKE (2002): Wavelength-dependent induction of UV-absorbing mycosporine-like amino acids in the red alga *Chondrus crispus* under natural solar radiation. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 268: 69-82.
- KRÄBS, G., M. WATANABE and C. WIENCKE (2004): A monochromatic action spectrum for the photoinduction of the UV-absorbing mycosporine-like amino acid shinorine in the red alga *Chondrus crispus*. *Photochem. Photobiol.* **79**: 515-519.
- KRUSCHEL, C. and R. W. CASTENHOLZ (1998): The effect of solar UV and visible irradiance on the vertical movements of cyanobacteria in microbial mats of hypersaline waters. *FEMS Microbiol. Ecol.* **27**: 53-72.
- LAURION, I. and W.F. VINCENT (1998): Cell size versus taxonomic composition as determinants of UV-sensitivity in natural phytoplankton communities. *Limnol. Oceanogr.* **43**: 1774–1779.
- LAURION, I., M. VENTURA, J. CATALAN, R. PSENNER and R. SOMMARUGA (2000): Attenuation of ultraviolet radiation in mountain lakes: Factors controlling the among- and within-lake variability. *Limnol.Oceanogr.* **45**: 1274-1288.

- LAURION, I., A. LAMI and R. SOMMARUGA (2002): Distribution of mycosporine-like amino acids and photoprotective carotenoids among freshwater phytoplankton assemblages. *Aquat. Microb. Ecol.* 26: 283-294.
- LEAVITT, P.R., B.F. CUMMING, J.P. SMOL, M. REASONER, R. PIENITZ and D.A. HODGSON (2003): Climatic control of ultraviolet radiation effects on lakes. *Limnol. Oceanogr.* **48**: 2062-2069.
- LESSER, M.P., J.J. CULLEN and P.J. NEALE (1994): Carbon uptake in a marine diatom during acute exposure to ultraviolet B radiation: relative importance of damage and repair. *J. Phycol.* **30**: 183–192.
- LESSER, M.P. (1996): Elevated temperatures and ultraviolet radiation cause oxidative stress and inhibit photosynthesis in symbiotic dinoflagellates. *Limnol. Oceanogr.* **41**: 271-283.
- LESSER, M.P., T.M. BARRY and A.T. BANASZAK (2002): Effects of UV radiation on a Chlorophyte alga (*Scenedesmus sp.*) isolated from the fumarole fields of Mt. Erebus, Antarctica. *J. Phycol.* **38**: 473–481.
- LITCHMAN, E., P.J. NEALE and A.T. BANASZAK (2002): Increased sensitivity to ultraviolet radiation in nitrogen-limited dinoflagellates: Photoprotection and repair. *Limnol. Oceanogr.* **47**(1): 86-94.
- LORENZEN, C. J. (1979): Ultraviolet radiation and phytoplankton photosynthesis. *Limnol. Oceanogr.* 24: 1117–1120.
- LÜRLING, M. (2003): Phenotypic plasticity in the green algae *Desmodesmus* and *Scenedesmus* with special reference to the induction of defensive morphology. *Ann. Limnol. Int. J. Lim.* **39**: 85–101.
- LÜRLING, M. and E. VAN DONK (1997): Morphological changes in *Scenedesmus* induced by infochemicals released in situ from zooplankton grazers. *Limnol. Oceanogr.* **42(4)**: 783–788.
- LÜTZ, C., H. K. SEIDLITZ and U. MEINDL, 1997: Physiological and structural changes in the chloroplast of the green alga *Micrasterias denticulata* induced by UV-B simulation. Plant Ecol. **128**: 54–64.
- MADRONICH, S. (1993): UV radiation in the natural and perturbed atmosphere. *In*: TEVINI, M. (ed.): *UV-B radiation and ozone depletion*. Lewis Publishers, Boca Raton.
- MARSHALL, J.A. and S. NEWMAN (2002): Differences in photoprotective pigment production between Japanese and Australian strains of *Chattonella marina* (Raphidophyceae). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **272**: 13-27.
- MATSUNAGA, T., J.G. BURGESS, N. YAMADA, K. KOMATSU, S. YOSHIDA and Y. WACHI (1993): An ultraviolet (UV-A) absorbing biopterin glucoside from the marine planktonic cyanobacterium *Oscillatoria* sp. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **39**: 250-253.

- MCCLINTOCK, J.B. and D. KARENTZ (1997): Mycosporine-like amino acids in 38 species of subtidal marine organisms from McMurdo Sound, Antarctica. *Antarc. Sci.* **9**: 392-398.
- MEINDL, U. and C. LÜTZ, 1996: Effects of UV irradiation on cell development and ultrastructure of the green alga *Micrasterias*. J. Photochem. Photobiol. B: Biol. **36**: 285–292.
- MICHLER, T., J. AGUILERA, D. HANELT, K. BISCHOF and C. WIENCKE (2002): Long-term effects of ultraviolet radiation on growth and photosynthetic performance of polar and cold-temperate macroalgae. *Mar. Biol.* **140**: 1117-1127.
- MISONOU, T., J. SAITOH, S. OSHIBA, Y. TOKIMOTO, M. MAEGAWA, Y. INOUE, H. HORI and T. SAKURAI (2003): UV-absorbing substance in the red alga *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta) block thymine photodimer production. *Mar. Biotechnol.* 5: 194-200.
- MOELLER, R.E. (1994): Contribution of ultraviolet radiation (UV-A, UV-B) to photoinhibition of epilimnetic phytoplankton in lakes of differing UV transparency. *Arch. Hydrobiol. Beih.* **43**: 157-170.
- MOISAN, T.A. and B.G. MITCHELL (2001): UV absorption by mycosporinelike amino acids in *Phaeocystis antarctica* Karsten induced by photosynthetically available radiation. *Mar. Biol.* **138**: 217-227.
- MOLINA, M.J. and F.S. ROWLAND (1974): Stratospheric sink for chlorofluoromethanes: chlorine atom-catalysed destruction of ozone. *Nature* **249**: 810-812.
- MOSTAJIR, B., S. DEMERS, S. DE MORA, C. BELZILE, J-P. CHANUT, M. GOSSELIN, S. ROY, P. Z. VILLEGAS, J. FAUCHOT, J. BOUCHARD, D. BIRD, P. MONFORT and M. LEVASSEUR (1999): Experimental test of the effect of ultraviolet-B radiation in a planktonic community. *Limnol. Oceanogr.* 44(3): 586–596.
- MONTERO, O. and L.M. LUBIÁN (2003): Mycosporine-like amino acid (MAAs) production by *Heterocapasa* sp. (Dinophyceae) in indoor cultures. *Biomol. Eng.* **20**: 183-189.
- MORRIS, D.P., H. ZAGARESE, C.E. WILLIAMSON, E.G. BALSEIRO, B.R. HARGREAVES, B. MODENUTTI, R. MOELLER and C. QUEIMALINOS (1995): The attenuation of solar UV radiation in lakes and the role of dissolved organic carbon. *Limnol. Oceanogr.* **40**(**8**): 1381–1391.
- MORRIS, D.P. and B.R. HARGREAVES (1997): The role of photochemical degradation of dissolved organic carbon in regulating the UV transparency of three lakes on the Pocono Plateau. *Limnol. Oceanogr.* **42(2)**: 239–249.

- MUELLER, D.R., W.F. VINCENT, S. BONILLA and I. LAURION (2005): Extremotrophs, extremophiles and broadband pigmentation strategies in a high arctic ice shelf ecosystem. *FEMS Microbiol. Ecol.* **53**: 73-87.
- NEALE, P.J., A.T. BANASZAK and C.R. JARRIEL (1998a): Ultraviolet sunscreens in *Gymnodinium sanguineum* (Dinophyceae): mycosporinelike amino acids protect against inhibition of photosynthesis. J. Phycol. 34: 928-938.
- NEALE, P.J., J.J. CULLEN and R.F. DAVIS (1998b): Inhibition of marine photosynthesis by ultraviolet radiation: Variable sensitivity of phytoplankton in the Weddell-Scotia Confluence during the austral spring. *Limnol. Oceanogr.* **43**: 433–448.
- NÉMETH, J. (1998): A biológiai vízminősítés módszerei. Környezetgazdálkodási Intézet, TOI Környezetvédelmi Tájékoztató Szolgálat.
- NICHOLSON, P., R.W. OSBORN and C.J. HOWE (1987): Induction of protein synthesis in response to ultraviolet light, nalidixic acid and heat shock in the cyanobacterium *Phormidium laminosum*. *FEBS Letters* **221**: 110-114.
- NILAWATI, J., B.M. GREENBERG, and R.E.H. SMITH (1997): Influence of ultraviolet radiation on growth and photosynthesis of two cold ocean diatoms. *J. Phycol.* **33**: 215–224.
- OCHS, C.A. (1997): Effects of UV radiation on grazing by two marine heterotrophic nanoflagellates on autotrophic picoplankton. *J. Plankton Res.* **19**: 1517-1536.
- OECD Guidelines For Testing Of Chemicals. Section 2: Effects On Biotic Systems.
- OLESEN, B. and S.C. MABERLY (2001): The effect of high levels of visible and ultra-violet radiation on the photosynthesis of phytoplankton from a freshwater lake. *Arch. Hydrobiol.* **151**: 301–315.
- OREN, A. (1997): Mycosporine-like amino acids as osmotic solutes in a community of halophilic cyanobacteria. *Geomicrobiol. J.* 14: 231-240.
- ÖRDÖG, V. and O. PULZ (1996): Diurnal changes of cytokinin-like activity in a strain of *Arthronema africanum* (Cyanobacteria), determined by bioassays. *Algological Studies* **82**: 57-67.
- ÖRDÖG, V., W.A. STIRK, J. VAN STADEN, O. NOVÁK and M. STRNAD (2004): Endogenous cytokinins in three genera of microalgae from the Chlorophyta. J. Phycol. 40: 88-95.
- PAERL, H.W. (1988): Nuisance phytoplankton blooms in coastal, estuarine, and inland waters. *Limnol. Oceanogr.* **33**: 823-847.
- PANG, S., I. GOMEZ and K. LÜNING (2001): The red macroalga *Delesseria* sanguinea as a UVB-sensitive model organism: selective growth

reduction by UVB in outdoor experiments and rapid recording of growth rate during and after UV pulses. *Eur. J. Phycol.* **36**: 207-216.

- PÉREZ-RODRÍGUEZ, E., J. AGUILERA, I. GÓMEZ and F.L. FIGUEROA (2001): Excretion of coumarins by the Mediterranean green alga *Dasycladus vermicularis* in response to environmental stress. *Mar. Biol.* 139: 633-639.
- PLANTE, A.J. and M.T. ARTS (2000): Effects of chronic, low levels of UV radiation on carbon allocation in *Cryptomonas erosa* and competition between *C. erosa* and bacteria in continuous cultures. *J. Plankton Res.* 22: 1277-1298.
- POLL, W.H., VAN DE, A. EGGERT, A.G.J. BUMA and A.M. BREEMAN (2001): Effects of UV-B-induced DNA damage and photoinhibition on growth of temperate marine red macrophytes: habitat-related differences in UV-B tolerance. J. Phycol. 37: 30–37.
- POLL, W.H., VAN DE, A. EGGERT, A.G.J. BUMA, and A.M. BREEMAN (2002): Temperature dependence of UV radiation effects in Arctic and temperate isolates of three red macrophytes. *Eur. J. Phycol.* **37**: 59–68.
- PORTWICH, A. and F. GARCIA-PICHEL (1999): Ultraviolet and osmotic stresses induce and regulate the synthesis of mycosporines in the cyanobacterium *Chlorogloeopsis* PCC 6912. *Arch. Microbiol.* **172**: 187-192.
- PORTWICH, A. and F. GARCIA-PICHEL (2000): A novel prokaryotic UVB photoreceptor in the cyanobacterium *Chlorogloeopsis* PCC 6912. *Photochem. Photobiol.* **71**: 493-498.
- PRABHA, G.L. and G. KULANDAIVELU (2002): Induced UV-B resistance against photosynthesis damage by adaptive mutagenesis in *Synechococcus* PCC 7942. *Plant Sci.* **162**: 663-669.
- PROTEAU, P.J., W.H. GERWICK, F. GARCIA-PICHEL and R.W. CASTENHOLZ (1993): The structure of scytonemin, an ultraviolet sunscreen pigment from the sheaths of cyanobacteria. *Experientia* **49**: 825-829.
- QUESADA, A., J.-L. MOUGET and W. F. VINCENT (1995): Growth of Antarctic cyanobacteria under ultraviolet radiation: UVA counteracts UVB inhibition. *J. Phycol.* **31**: 242–248.
- QUESADA, A. and W.F. VINCENT (1997): Strategies of adaptation by Antarctic cyanobacteria to ultraviolet radiation. *Eur. J. Phycol.* **32**: 335–342.
- QUESADA, A., W.F. VINCENT and R.S. LEAN-DAVID (1999): Community and pigment structure of Arctic cyanobacteria assemblages: the occurrence and distribution of UV-absorbing compounds. *FEMS Microbiol. Ecol.* **28**: 315-323.

- RAJAGOPAL, S., S.D.S. MURTHY and P. MOHANTY (2000): Effects of ultraviolet-B radiation on intact cells of the cyanobacterium *Spirulina platensis*: characterization of the alterations in the thylakoid membranes. J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 54: 61-66.
- RIJSTENBIL, J.W. (2002): Assessment of oxidative stress in the planktonic diatom *Thalassiosira pseudonana* in response to UVA and UVB radiation. *J. Plankton Res.* 24: 1277-1288.
- RINALDUCCI, S., É. HIDEG, I. VASS and L. ZOLLA (2006): Effect of moderate UV-B irradiation on Synechocystis PCC 6803 biliproteins. Biochem. Biophys. Res. Commun. 341: 1105-1112.
- RIPPKA R., J. DERUELLES, J. B. WATERBURY, M. HERDMAN and R. Y. STANIER, 1979: Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. J. Gen. Microbiol. **111**: 1–61.
- ROY, A., P. TRIPATHY and S.P. ADHIKARY (1997): Epilithic blue-green algae/cyanobacteria from temples of India and Nepal. Presence of UV sunscreen pigments. *Algological Studies* **86**: 147-161.
- SANTAS, R., C. LIANOU and D. DANIELIDIS (1997): UVB radiation and depth interaction during primary succession of marine diatom assemblages of Greece. *Limnol. Oceanogr.* **42**: 986-991.
- SANTAS, R., A. KORDA, CH. LIANOU and PH. SANTAS (1998): Community responses to UV radiation. I. Enhanced UVB effects on biomass and community structure of filamentous algal assemblages growing in a coral reef mesocosm. *Mar. Biol.* **131**: 153-162.
- SASS, L., C. SPETEA, Z. MÁTÉ, F. NAGY and I. VASS (1997): Repair of UV-B induced damage of Photosystem II via *de novo* synthesis of the D1 and D2 reaction centre subunits in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Photosynth. Res.* 54: 55–62.
- SCULLY, N.M. and D.R.S. LEAN (1994): The attenuation of ultraviolet radiation in temperate lakes. *Arch. Hydrobiol. Beih.* **43**: 135-144.
- SCULLY, N.M., W.F. VINCENT and D.R.S. LEAN (2000): Exposure to ultraviolet radiation in aquatic ecosystems: estimates of mixing rate in Lake Ontario and the St. Lawrence River. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 57 (Suppl. 1): 43–51.
- SHERIDAN, R.P. (2001): Role of ultraviolet radiation in maintaining the three-dimensional structure of a cyanobacterial mat community and facilitating nitrogen fixation. J. Phycol. **37**: 731-737.
- SHICK, J.M., S. ROMAINE-LIOUD, C. FERRIER-PAGÉS and J.-P. GATTUSO (1999): Ultraviolet-B radiation stimulates shikimate pathway-dependent accumulation of mycosporine-like amino acids in the coral *Stylophora pistillata* despite decreases in its population of symbiotic dinoflagellates. *Limnol. Oceanogr.* **44**: 1667-1682.

- SICORA, C.I., S.E. APPLETON, C.M. BROWN, J. CHUNG, J. CHANDLER, A.M. COCKSHUTT, I. VASS and D.A. CAMPBELL (2006): Cyanobacterial *psbA* families in *Anabaena* and *Synechocystis* encode trace, constitutive and UVB-induced D1 isoforms. *Biochim. Biophys. Acta* 1757: 47-56.
- SINHA, R.P., M. KLISCH, A. GRÖNIGER and D.-P. HÄDER (1998): Ultravioletabsorbing/screening substances in cyanobacteria, phytoplankton and macroalgae. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **47**: 83-94.
- SINHA, R.P., M. KLISCH and D.-P. HÄDER (1999a): Induction of a mycosporine-like amino acid (MAA) in the rice-field cyanobacterium Anabaena sp. by UV radiation. J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 52: 59-64.
- SINHA, R.P., M. KLISCH, A. VAISHAMPAYAN and D.-P. HÄDER (1999b): Biochemical and spectroscopic characterization of the cyanobacterium Lyngbya sp. inhabiting Mango (Mangifera indica) trees: presence of an ultraviolet-absorbing pigment, scytonemin. Acta Protozool. 38: 291-298.
- SINHA, R.P., M. KLISCH, A. GRÖNIGER and D.-P. HÄDER (2000): Mycosporine-like amino acids in the marine red alga *Gracilaria cornea* – effects of UV and heat. *Environ. Exp. Bot.* **43**: 33-43.
- SINHA, R.P., M. KLISCH, A. GRÖNIGER and D.-P. HÄDER (2001*a*): Responses of aquatic algae and cyanobacteria to solar UV-B. *Plant Ecol.* **154**: 221-236.
- SINHA, R.P., M. KLISCH, E.W. HELBLING and D.-P. HÄDER (2001b): Induction of mycosporine-like amino acids (MAAs) in cyanobacteria by solar ultraviolet-B radiation. J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 60: 129-135.
- SINHA, R.P., J.P. SINHA, A. GRÖNIGER and D.-P. HÄDER (2002): Polychromatic action spectrum for the induction of a mycosporine-like amino acid in a rice-field cyanobacterium, *Anabaena* sp. J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 66: 47-53.
- SINHA, R.P., N.K. AMBASHT, J.P. SINHA and D.-P. HÄDER (2003*a*): Wavelength-dependent induction of a mycosporine-like amino acid in a rice-field cyanobacterium, *Nostoc commune*: role of inhibitors and salt stress. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2: 171-176.
- SINHA, R.P., N.K. AMBASHT, J.P. SINHA, M. KLISCH and D.-P. HÄDER (2003b): UV-B-induced synthesis of mycosporine-like amino acids in three strains of *Nodularia* (cyanobacteria). J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 71: 51-58.
- SKERRATT, J.H., A.D. DAVIDSON, P.D. NICHOLS and T.A. MCMEEKIN (1998): Effect of UV-B on lipid content of three Antarctic marine phytoplankton. *Phytochemistry* **49**: 999-1007.

- SLANINOVÁ, M., B. NAGYOVÁ, E. GÁLOVÁ, J. HENDRYCHOVÁ, K. BIŠOVÁ, V. ZACHLEDER and D. VLČEK (2003): The alga *Chlamydomonas reinhardtii* UVS11 gene is responsible for cell division delay and temporal decrease in histone H1 kinase activity caused by UV irradiation. DNA Repair 2: 737-750.
- SMITH, R.E.H., J.A. FURGAL, M.N. CHARLTON, B.M. GREENBERG, V. HIRIART and C. MARWOOD (1999): Attenuation of ultraviolet radiation in a large lake with low dissolved organic matter concentrations. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 56: 1351-1361.
- SOMMARUGA, R. and F. GARCIA-PICHEL (1999): UV-absorbing mycosporine-like compounds in planktonic and benthic organisms from a high-mountain lake. *Arch. Hydrobiol.* **144**: 255-269.
- STEEMANN NIELSEN, E. (1952): The use of radioactive carbon (C-14) for measuring organic production in the sea. J. Const. Int. Explor. Mer. 18: 117-140.
- STEVENSON, C.S., E.A. CAPPER, A.K. ROSHAK, B. MARQUEZ, K. GRACE, W.H. GERWICK, R.S. JACOBS and L.A. MARSHALL (2002): Scytonemin – a marine natural product inhibitor of kinases key in hyperproliferative inflammatory diseases. *Inflamm. res.* 51: 112-114.
- STIRK, W.A., V. ÖRDÖG, J. VAN STADEN, and K. JÄGER (2002): Cytokininand auxin-like activity in Cyanophyta and microalgae. J. Appl. Phycol. 14: 215-221.
- STIRK, W.A., V. ÖRDÖG and J. VAN STADEN (1999): Identification of the cytokinin isopentenyladenine in a strain of *Arthronema africanum* (Cyanobacteria). *J. Phycol.* **35**: 89-92.
- STIRK, W.A., O. NOVÁK, M. STRNAD and J. VAN STADEN (2003): Cytokinins in macroalgae. *Plant Growth Regul.* **41**: 13-24.
- SUBRAMANIAM, A., E.J. CARPENTER, D. KARENTZ and P.G. FALKOWSKI (1999): Bio-optical properties of the marine diazotrophic cyanobacteria *Trichodesmium* spp. I. Absorption and photosynthetic action spectra. *Limnol. Oceanogr.* **44**: 608-617.
- SUGAWARA, T., K. HAMASAKI, T. TODA, T. KIKUCHI and S. TAGUCHI (2003): Response of natural phytoplankton assemblages to solar ultraviolet radiation (UV-B) in the coastal water, Japan. *Hydrobiologia* **493**: 17-26.
- SUH, H.-J., H.-W. LEE and J. JUNG (2003): Mycosporine glycine protects biological systems against photodynamic damage by quenching singlet oxygen with a high efficiency. *Photochem. Photobiol.* **78**(2): 109-113.
- TAIRA, H., S. AOKI, B. YAMANOHA and S. TAGUCHI (2004): Daily variation in cellular content of UV-absorbing compounds mycosporine-like amino acids in the marine dinoflagellate *Scrippsiella sweeneyae*. J. Photochem. Photobiol. B: Biol. 75: 145-155.

- TAKANO, S., D. UEMURA and Y. HIRATA (1978*a*): Isolation and structure of a new amino acid, palythine, from the zoanthid *Palythoa tuberculosa*. *Tetrah. Lett.* **26**: 2299-2300.
- TAKANO, S., D. UEMURA and Y. HIRATA (1978b): Isolation and structure of two new amino acids, palythinol and palythene, from the zoanthid *Palythoa tuberculosa*. *Tetrah. Lett.* **49**: 4909-4912.
- TAKANO, S., A. NAKANISHI, D. UEMURA and Y. HIRATA (1979): Isolation and structure of a 334 nm UV-absorbing substance, porphyra-334 from the red alga *Porphyra tenera* Kjellman. *Chem. Lett.* **4**: 419-420.
- TEAI, T., J.H. DROLLET, J.-P. BIANCHINI, A. CAMBON and P.M.V. MARTIN (1997): Widespread occurrence of mycosporine-like amino acid compounds in scleractinians from French Polynesia. *Coral Reefs* 16: 169-176.
- TERAMURA, A.H. and L.H. ZISKA (1996): Ultraviolet-B radiation and photosynthesis. *In:* BAKER, N.R. (ed.): *Photosynthesis and the Environment*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 435-450.
- TRAINOR, F.R. (1992): Cyclomorphosis in Scenedesmus armatus (Chlorophyta): an ordered sequence of ecomorph development. J. Phycol. 28: 553-558.
- TRAINOR, F.R. (1993): Cyclomorphosis in Scenedesmus subspicatus (Chlorococcales, Chlorophyta): stimulation of coenobium development at low temperature. *Phycologia* 32(6): 429-433.
- TRAINOR, F.R. (1996): Reproduction in *Scenedesmus*. Algae **11(2)**: 183–201.
- TSUJINO, I., K. YABE and I. SEKIKAWA (1980): Isolation and structure of a new amino acid, shinorine, from the red alga *Chondrus yendoi* Yamada et Mikami. *Bot. Mar.* 23: 65-68.
- TUKAJ, Z., A. KUBÍNOVÁ and V. ZACHLEDER (1996): Effect of irradiance on growth and reproductive processes during the cell cycle in *Scenedesmus armatus* (Chlorophyta). *J. Phycol.* **32**: 624–631.
- UNDERWOOD, G.J.C., C. NILSSON, K. SUNDBÄCK and A. WULFF (1999): Short-term effects of UVB radiation on chlorophyll fluorescence, biomass, pigments, and carbohydrate fractions in a benthic diatom mat. J. Phycol. 35: 656–666.
- UTERMÖHL, H. (1958): Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitt. Internat. Verein. Limnol.* **9**: 1-38.
- VILLAFAÑE, V.E., E.W. HELBLING, O. HOLM-HANSEN and B.E. CHALKER (1995): Acclimatization of Antarctic natural phytoplankton assemblages when exposed to solar ultraviolet radiation. *J. Plankton Res.* **17**: 2295–2306.

- VILLAFAÑE, V.E., M. ANDRADE, V. LAIRANA, F. ZARATTI and E.W. HELBLING, (1999): Inhibition of phytoplankton photosynthesis by solar ultraviolet radiation: studies in Lake Titicaca, Bolivia. *Freshwater Biol.* 42: 215–224.
- VILLAFAÑE, V.E., E.S. BARBIERI and E.W. HELBLING (2004): Annual patterns of ultraviolet radiation effects on temperate marine phytoplankton off Patagonia, Argentina. *J. Plankton Res.* **26**: 167-174.
- VINEBROOKE, R.D. and P.R. LEAVITT (1999): Differential responses of littoral communities to ultraviolet radiation in an alpine lake. *Ecology* **80**: 223-237.
- VOLLENWEIDER, R.A. (ed.) (1969): Primary production in aquatic environments. Blackwell Scientific Publications, Oxford and Edinburgh.
- VÖRÖS, L., É. VIZKELETI, F. TÓTH and J. NÉMETH (1983): Trofitás vizsgálatok a Balaton keszthelyi-medencéjében. *Hidrológiai Közlöny* 63: 390-398.
- WEBWER, S. (2005): Light-driven enzymatic catalysis of DNA repair: a review of recent biophysical studies on photolyase. *Biochimica et Biophysica Acta* **1707**: 1-23.
- WELLBURN, A.R. (1994): The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant Physiol.* **144**: 307-313.
- WEST, L.J.A., K. LI, B.M. GREENBERG, G. MIERLE and R.E.H. SMITH (2003): Combined effects of copper and ultraviolet radiation on a microscopic green alga in natural soft lake waters of varying dissolved organic carbon content. *Aquat. Toxicol.* **64**: 39-52.
- WHITEHEAD, K., D. KARENTZ and J.I. HEDGES (2001): Mycosporine-like amino acids (MAAs) in phytoplankton, a herbivorous pteropod (*Limacina helicina*), and its pteropod predator (*Clione antarctica*) in McMurdo Bay, Antarctica. *Mar. Biol.* **139**: 1013-1019.
- WHITEHEAD, K. and J.I. HEDGES (2005): Photodegradation and photosensitization of mycosporine-like amino acids. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* **80**: 115-121.
- WHITEHEAD, R.F., S. DE MORA, S. DEMERS, M. GOSSELIN, P. MONFORT and B. MOSTAJIR (2000): Interactions of ultraviolet-B radiation, mixing, and biological activity on photobleaching of natural chromophoric dissolved organic matter: A mesocosm study. *Limnol. Oceanogr.* 45: 278–291.
- WOOD, R. D. (1996): DNA repair in eukaryotes. Annu. Rev. Biochem. 65: 135-167.

- WORLD METEOROLOGICAL ORGANIZATION (1998): Scientific assessment of ozone depletion: 1998 executive summary. Global Ozone Research and Monitoring Project. – Report No. 44.
- WULFF, A., S.-Å WÄNGBERG, K. SUNDBÄCK, C. NILSSON and G.J.C. UNDERWOOD (2000): Effects of UVB radiation on a marine microphytobenthic community growing on a sand-substratum under different nutrient conditions. *Limnol. Oceanogr.* 45: 1144–1152.
- XENOPOULOS, M.A., Y.T. PRAIRIE and D.F. BIRD (2000): Influence of ultraviolet-B radiation, stratospheric ozone variability, and thermal stratification on the phytoplankton biomass dynamics in a mesohumic lake. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **57**: 600–609.
- XENOPOULOS, M.A., P.C. FROST and J.J. ELSER (2002): Joint effects of UV radiation and phosphorus supply on algal growth rate and elemental composition. *Ecology* **83**: 423–435.
- XENOPOULOS, M.A. and P.C. FROST (2003): UV radiation, phosphorus, and their combined effects on the taxonomic composition of phytoplankton in a boreal lake. *J. Phycol.* **39**: 291–302.
- XENOPOULOS, M.A. and D.W. SCHINDLER (2003): Differential responses to UVR by bacterioplankton and phytoplankton from the surface and the base of the mixed layer. *Freshwater Biol.* **48**: 108–122.
- XIONG, F., F. LEDERER, J. LUKAVSKY and L. NEDBAL (1996): Screening of freshwater algae (*Chlorophyta*, *Chromophyta*) for ultraviolet-B sensitivity of the photosynthetic apparatus. J. Plant Physiol. **148**: 42-48.
- YAKOVLEVA, I.M. and E.A. TITLYANOV (2001): Effect of high visible and UV irradiance on subtidal *Chondrus crispus*: stress, photoinhibition and protective mechanisms. *Aquat. Bot.* **71**: 47-61.
- YAKOVLEVA, I., R. BHAGOOLI, A. TAKEMURA and M. HIDAKA (2004): Differential susceptibility to oxidative stress of two scleractinian corals: antioxidant functioning of mycosporine-glycine. *Comp. Biochem. Physiol.*, *B* 139: 721-730.
- YUAN, Y.V., M.F. CARRINGTON and N.A. WALSH (2005): Extracts from dulse (*Palmaria palmata*) are effective antioxidants and inhibitors of cell proliferation in vitro. *Food Chem. Toxicol.* **43**: 1073-1081.
- ZHANG, W., H. YAMANE, N. TAKAHASHI, D.J. CHAPMAN and B.O. PHINNEY (1989): Identification of a cytokinin in the green alga *Chara globularis*. *Phytochemistry* **28**: 337-338.
- ZIEGLER, S. and R. BENNER (2000): Effects of solar radiation on dissolved organic matter cycling in a subtropical seagrass meadow. *Limnol. Oceanogr.* **45**(2): 257-266.

- ZUDAIRE, L. and S. ROY (2001): Photoprotection and long-term acclimation to UV radiation in the marine diatom *Thalassiosira weissflogii*. J. *Photochem. Photobiol. B: Biol.* **62**: 26-34.
- ZSIROS, O., S.I. ALLAKHVERDIEV, S. HIGASHI, M. WATANABE, Y. NISHIYAMA and N. MURATA (2006): Very strong UV-A light temporally separates the photoinhibition of photosystem II into light-induced inactivation and repair. *Biochim. Biophys. Acta* **1757**: 123-129.

11. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK

Nemzetközi impakt faktoros folyóiratban megjelent publikációk:

Pálffy, K. & L. Vörös (2003): Effect of ultraviolet radiation on phytoplankton primary production in Lake Balaton. Hydrobiologia 506-509: 289-295.

Pálffy, K. & L. Vörös (2006): Effects of UV-A radiation on *Desmodesmus armatus*: changes in growth rate, pigment content and morphological appearance. International Review of Hydrobiology 91/5: 451-465.

Hazai tudományos folyóiratban megjelent publikáció:

Pálffy K., Ördög V. & Vörös L. (2004): Az ultraibolya sugárzás hatása zöldalga és cianobaktérium fajok laboratóriumi tenyészeteire. Hidrológiai Közlöny 84/5-6: 115-117.

Nemzetközi konferencián tartott idegen nyelvű előadások:

Pálffy, K. & L. Vörös: Effect of ultraviolet radiation on phytoplankton photosynthesis in Lake Balaton. International Conference on Limnology of Shallow Lakes. Balatonfüred, 2002. május 25-30.

Pálffy K, Vörös L & V. Ördög: The effect of UV stress on soil microalgae. 3rd Symposium on Microalgae and Seaweed Products in Agriculture. Mosonmagyaróvár, 2006. június 21-23.

Nemzetközi konferencián bemutatott poszterek:

Pálffy K., Ördög V. & Vörös L.: Effects of UV radiation on some axenic microalgal strains.
5th European Workshop "Biotechnology of Microalgae"
Potsdam, Németország, 2003. június 23-24.

Pálffy K, Szalai G, Ördög V & Vörös L: Synthesis of a UV-absorbing compound by a filamentous green alga. 6th European Workshop "Biotechnology of Microalgae". Potsdam, Németország, 2005. május 23-25.