

**DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS  
TÉZISEI**

**PÁLFFY KÁROLY**

**MOSONMAGYARÓVÁR  
2010**

# **DOKTORI (PhD) ÉRTEKEZÉS TÉZISEI**

NYUGAT-MAGYARORSZÁGI EGYETEM  
MEZŐGAZDASÁG- ÉS ÉLELMISZERTUDOMÁNYI KAR  
NÖVÉNYÉLETTAN ÉS NÖVÉNYI BIOTECHNOLÓGIA  
TANSZÉK

*"PRECÍZIÓS NÖVÉNYTERMESZTÉSI MÓDSZEREK"*  
*ALKALMAZOTT NÖVÉNYTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA*

Doktori Iskola vezető:  
**Prof. Dr. Neményi Miklós DSc**

Mikroszervezetek a növény-talajrendszerben program

Programvezető:  
**Prof. Dr. Ördög Vince CSc**

Témavezetők:  
**Prof. Dr. Ördög Vince CSc**  
**Dr. Vörös Lajos DSc**

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

Készítette:  
**PÁLFFY KÁROLY**

Mosonmagyaróvár  
2010

## 1. BEVEZETÉS, CÉLKITŰZÉS

Az ózonréteg 1970-es évektől tapasztalt antropogén eredetű elvékonyodása a Napból érkező UV sugárzás intenzitásának növekedését eredményezte, a jelenség élővilágra gyakorolt hatásainak tanulmányozására mélyreható kutatási programok indultak. Az elsődleges termelők e vonatkozásban kiemelt figyelmet érdemelnek, hiszen azon túlmenően, hogy a táplálékhálón keresztül biomasszájuk változása a többi trofikus szintre is kihat, fotoszintézisükre hatást gyakorol a sugárzás intenzitása, mely így a szénmegkötésen keresztül a szén globális körforgására is befolyással bír.

Az algák, mint a legősibb fotoszintetikus élőlények, UV sugárzás tekintetében több okból is egyedi csoportnak számítanak. Ökológiai szempontból nézve, vízi környezetben a legfontosabb elsődleges termelők, továbbá bizonyos képviselőik rendkívül szélsőséges, erős napsugárzásnak kitett élőhelyeken is előfordulnak. Általánosságban megállapítható, 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, mint pl. az UV-abszorbeáló mycosprine-szerű aminosavak szintézise, melyek változó előfordulásából és hatékonyságából következően az interspecifikus UV-rezisztenciabeli különbségek széles skálán mozoghatnak.

Az eddigi kutatások többsége 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 összetettek, részleteiben nem ismertek. Az ökológiai problémafelvetéseken túlmenően a

sugárzásviszonyok változása közvetve az algák ipari felhasználása szempontjából is hátrányos helyzetet teremthet. Makroalgákat e célból kivétel nélkül természetes körülmények között gyűjtenek, és a mikroalgák esetében is gyakran nyitott medencékben, tavakban történik a tenyésztés. Ilyen esetekben az UV sugárzás változása az előállított termékek mennyiségi és minőségi jellemzőire is kihathat.

### **Célkitűzések**

1. Hazai felszíni vizekben az UV sugárzás fitoplanktonra gyakorolt hatását korábban nem tanulmányozták. Legnagyobb állóvizünk, a Balaton kiválóan alkalmas helyszín az UV-hatások *in situ* vizsgálatára. Ezen oknál fogva a szerző célja volt annak megállapítása, hogy a nyári időszakban, amikor a fényintenzitás a legnagyobb, milyen hatással bír az UV sugárzás a tó fitoplankton együtteseinek fotoszintézisére.
2. A tóban végzett kísérletek eredményeinek fényében a kutatás laboratóriumi körülmények között folytatódott, mely során a szerző azt vizsgálta, hogy egyes jellegzetes zöldalga és cianobaktérium fajok szaporodása és fotoszintetikus pigment tartalma miként alakul a látható fény és az UV sugárzás intenzitásának függvényében. Célul tűzte ki továbbá annak megállapítását, hogy a vizsgált tenyészetek képesek-e a védelemben szerepet játszó UV-abszorbeáló mycosporine-szerű aminosavak szintézisére.
3. Az UV sugárzás és az algák hormontartalma közötti összefüggések feltárására eddig semmilyen formában nem került sor. Így a munka utolsó szakaszában a szerző zöldalga szinkrontenyészetek esetében arra kereste a választ, hogy befolyásolja-e a sugárzás a növényi hormontartalmat, illetve annak időbeli változását, és ez összefüggésben van-e a sejtek növekedésével.

## 2. ANYAG ÉS MÓDSZER

### 2.1. A Balatonban végzett *in situ* kísérletek

A kísérletek két helyszínen, a Siófoki-medencében, Tihanynál és a Keszthelyi-medencében folytak. A vízminták helyszíni inkubálása 0,05, 0,25, 0,50, 1,00, 2,00, illetve 2,75 m-es mélységben vízszintesen felfüggesztett kvarc kémcsövek felhasználásával, a fitoplankton elsődleges termelésének meghatározása  $^{14}\text{C}$ -módszerrel történt (STEEMANN NIELSEN, 1952). A mintákban megkötött  $^{14}\text{C}$  izotóp  $\beta$ -sugárzását LKB 1211-RACKBETA típusú folyadékszintillációs számlálóval mérték. Minden inkubáció délelőtt 10 órától délután 14 óráig tartott.

Az PAR, UV-A és UV-B tartomány szétválasztását mind a terepi, mind a laboratóriumi munka során ún. "cut-off" filterek biztosították, melyek alkalmazásával három kísérleti variáns vált kialakíthatóvá. Az első kezelést alkotó burkolatlan kémcsövek a PAR, UV-A és UV-B sugárzást egyaránt átengedték. A második és harmadik kezelésben a fitoplankton együttest csak PAR és UV-A ill. csak PAR sugárzás érte (kontroll). Az inkubált vízminták elsődleges termelése a fotoszintetikus rátával jellemezhető, ami az egységnyi idő alatt a vízminta egységnyi térfogatában asszimilálódott szén mennyiségével egyenértékű (WETZEL és LIKENS, 1991). Ily módon minden inkubációs vízmélységre külön-külön meg lehet határozni az elsődleges termelés mennyiségét, melynek így kapott vertikális profiljából megállapítható a fotoszintetikus ráta maximum értéke, az ahhoz viszonyított felszínközeli gátlás, valamint az alapterületre vonatkoztatott elsődleges termelés  $\mu\text{gC}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$  értékben.

A minták klorofill-a koncentrációjának meghatározása mind az *in situ*, mind a laboratóriumi kísérletekben forró metanolos extrakciót követő

spektrofotometriás eljárással történt (NÉMETH, 1998). A kapott kivonat fotometrálnak SHIMADZU UV-VIS spektrofotométerrel zajlott.

A felszínen és az inkubációs mélységekben a látható fény (PAR sugárzás) intenzitását a szerző LI-COR LI-185B típusú radiométerrel, síkfelületű ( $2\pi$ ) szenzorral mérte, melyből a Lambert-Beer törvény alapján kiszámítható a víz vertikális extinkciós koefficiense.

## **2.2. *Desmodesmus armatus* zöldalga vizsgálata PAR és UV-A sugárzás függvényében**

A szerző előzetes laboratóriumi vizsgálatai a Balaton fitoplanktonjában is megtalálható *Desmodesmus armatus* zöldalga szaporodásában, pigmenttartalmában és morfológiájában fellépő, UV-A sugárzás okozta változásokra terjedtek ki. A kísérletek három párhuzamban folytak, az *in situ* vizsgálatban használt kvarc csövek és fóliák felhasználásával. A vizsgálat céljának megfelelően a BG-11 tápoldatban szuszpendált tenyészeteket vagy csak PAR sugárzás, vagy PAR és  $3,75 \text{ mW}\cdot\text{cm}^{-2}$  UV-A sugárzás érte. Kísérletei során 30, 100, 200, 400, illetve  $800 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ -os PAR intenzitást, 14:10 óra világos/sötét periódust, valamint  $23^\circ\text{C}$ -os hőmérsékletet alkalmazott. A szuszpenziók levegőztetését és homogenizálását légpumpa biztosította.

A tenyészetek szaporodását HITACHI F-4500 típusú fluoriméterrel követte nyomon, a klorofill-a naponta mért koncentrációjának változása alapján. A fluorimetriás mérés gerjesztési (excitációs) hullámhossza 650 nm, a detektált emissziós hullámhossz 682 nm volt. A fluoreszcencia intenzitásának detektált értékeiből egy kalibrációs görbe alapján meghatározható a klorofill-a koncentráció. Az UV-A okozta szaporodási gátlás mértékének meghatározása kétféleképpen történt: a szaporodási

görbék alatti területek, valamint az exponenciális fázisban elért maximális szaporodási ráták alapján.

A szerző a kísérletek végén felvette a tenyészetek metanolos extraktumának abszorpciós spektrumát és meghatározta klorofill-a tartalmukat. A kapott abszorpciós spektrumokat klorofill-a-ra normálta. A pigmentkivonatok összkarotinoid tartalmát az abszorpciós spektrumokból, WELLBURN (1994) képlete alapján számította ki. A szerző az inkubáció végén Lugol-oldattal rögzített mintákból az esetleges morfológiai változások nyomon követése céljából UTERMÖHL (1958) fordított mikroszkópos módszere alapján algaszámlálást végzett. A számláló kamra fenéklemezére leülepedett kettő, négy, ill. nyolc sejtből álló cönóbiumokat Zeiss gyártmányú fordított mikroszkóppal számolta meg.

### **2.3. Laboratóriumi tenyészetekkel végzett vizsgálatok**

#### **2.3.1. UV-A és UV-B sugárzásnak kitett zöldalga és cianobaktérium tenyészetek szaporodásának és pigmenttartalmának vizsgálata**

A kísérletek a Nyugat-Magyarországi Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Karának Növényélettan és Növényi Biotechnológia Tanszékén folytak, a vizsgált cianobaktérium és zöldalga törzsek a tanszéken fenntartott alga törzsgyűjteményből (Mosonmagyaróvár Algal Culture Collection – MACC) származtak:

#### Zöldalgák (Chlorophyta):

MACC-203 *Pseudochlorococum typicum*

MACC-458 *Chlorella sp.*

MACC-469 *Scenedesmus sp.*

MACC-534 *Coenochloris sp.*

#### Cianobaktériumok (Cyanobacteria):

MACC-277 *Cylindrospermopsis raciborskii*

MACC-304 *Anabaena sphaerica*

MACC-541 *Synechococcus elongatus*

*Microcystis aeruginosa*

A szerző a tenyészetekből 150 ml-t 35 mm átmérőjű, 30 cm hosszú kvarccsövekben inkubált 10 mg·l<sup>-1</sup> kezdeti szárazanyag tartalommal. A homogenizálást és levegőztetést légpumpa biztosította. Az alkalmazott fényforrások segítségével az alábbi kezelések kerültek kialakításra, három ismétlésben, napi 14 óra megvilágításban:

<b>PAR intenzitás</b>	<b>Kezelések</b>		
85 μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	Kontroll (PAR)	PAR+UV-A (UV-A=1,00 mW·cm <sup>-2</sup> )	PAR+UV-A+UV-B (UV-A = 1,00 mW·cm <sup>-2</sup> ; UV-B = 0,12 mW·cm <sup>-2</sup> )
250 μmol·m <sup>-2</sup> ·s <sup>-1</sup>	Kontroll (PAR)	PAR+UV-A (UV-A=1,00 mW·cm <sup>-2</sup> )	–

A tenyészetek szaporodása az optikai denzitás (750 nm-en detektált abszorpció) naponta mért értékeiből került meghatározásra, Cary 50 UV-Vis spektrofotométerrel. A klorofill-a koncentráció mérése metanolos extrakciót követően szintén fotométerrel történt. A kísérletek végén szárazanyag tartalom mérésére is sor került.

### **2.3.2. *Mycosporine-szerű aminosavak (MAA-k) meghatározása***

Az MAA-k extrahálása és azonosítása SINHA et al. (1999a) módszere alapján történt. A szűrés során az inkubáció a szaporodástól függően 10-14 napig tartott. Az MAA szintetizálására képes törzsekkel végzett vizsgálatokban az inkubáció 7. és 10. napján történt mintavétel a szárazanyag és MAA-tartalom meghatározása céljából.

Az MAA-k kimutatása Cary 50 UV-Vis spektrofotométerrel, azonosításuk Waters W2690 szeparációs modulból, valamint W996 diódasoros UV/VIS detektorból álló HPLC berendezéssel történt. 10 percnyi 1500g-n végzett centrifugálást követően a leüleptett minták 20, ill. 100%-os metanolos extraktumai az abszorpciós spektrumok felvételéhez, ill. az



MAA-k HPLC-s azonosításához kerültek felhasználásra. A vizsgálat során a Thermo Scientific Savant SPD 1010 Speedvac típusú bepárló készülékkel elpárologtatott kivonatok 0,2%-os ecetsavban való visszaoldást követően előtét oszlopos, 4x250 mm-es, 5 µm-es szemcseméretű LiCrospher RP 18 kromatográfiás oszloppal felszerelt HPLC rendszerbe kerültek. 1 ml·min<sup>-1</sup> áramlási sebesség és 0,2%-os ecetsavas mobil fázis alkalmazása mellett a detektálási hullámhossz 330 nm volt.

### **2.3.3. Az UV-A sugárzás *Chlorella* szinkrontenyészet szaporodására és hormon tartalmára gyakorolt hatásának vizsgálata**

A vizsgált MACC-458-as *Chlorella sp.* törzs szinkronizálása többszöri átoltással, 14:10 óra világos/sötét fázis alkalmazásával érhető el. A szerző a szinkronizált tenyészetet 3 ismétlésben, a már ismertetett PAR és PAR+UV-A kezelésekben, 85 µmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup> PAR sugárzás mellett inkubálta. Az utolsó átoltást követő sötét szakasztól kezdődően a rákövetkező fényszakasz végéig kétóránként történt mintavétel. A hormon meghatározáshoz vett mintákat a vizsgálatok kezdetéig -24°C-on tárolták, mikrofotografáláshoz a mintákat Lugol oldattal rögzítették.

A mikrofotografálás Olympus BX60 fénymikroszkóphoz csatlakoztatott SIS View FireWire ColorViewII digitális kamera és Bürker kamra felhasználásával történt. A mikroszkópos felvételek alySIS képfeldolgozó programmal kerültek kiértékelésre, mely sejtszámlálást, ill. sejtméret meghatározást foglalt magában.

A szerző a mintákban előforduló növényi hormonok kimutatását az olomützi egyetem növekedésszabályozó anyagokra szakosodott laboratóriumában végezte (Palacký University, Laboratory of Growth Regulators, Olomouc, Csehország) ELISA teszt felhasználásával (Enzyme-

linked immunosorbent assay), melyet WEILER et al. (1981) módosított módszere alapján hajtott végre.

Az ELISA lemezek 150  $\mu\text{l}$  egér anti-hormon antitest oldattal bevont, egy éjszakán át 4°C-on inkubált, majd desztillált vízzel átmosott reakciós üregekbe 200  $\mu\text{l}$  TBS pufferben (pH 7,5) oldott bovine serum albumine került (200  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ), majd 1 órás, 25°C-os inkubáció következett. Ezután ismételt átmosást követően az üregekbe 50  $\mu\text{l}$  TBS puffert, 50  $\mu\text{l}$  alga mintát vagy standardot és 50  $\mu\text{l}$  *tracer* oldatot adagolt.

Egy órás 25°C-os inkubáció, majd kétszeri átmosás után a reakciós üregekbe szubsztrátumként 150  $\mu\text{l}$  p-nitrofenilfoszfát oldat került. A reakció leállítása 1 órás 25°C-os inkubációt követően 50  $\mu\text{l}$  0,5M NaOH hozzáadásával történt, majd egy Titertek Multiscan PLUS microplate-olvasó berendezés 405 nm-en mérte az üregekben lévő oldatok abszorpcióját (optikai denzitását). A kapott értékekből meghatározható a minták és a standard oldatok megkötődésének százalékos értéke. A standardok kötődésének százalékos értékeit a hormon koncentráció ( $\text{fmol}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) függvényében ábrázolva kapjuk a kalibrációs görbét, melyből a vizsgált minták hormontartalma is meghatározható.

#### **2.3.4. Statisztikai számítások**

A szerző vizsgálatok eredményeinek statisztikai értékelését SPSS 13 programmal végezte. Minden kísérlet esetében kiszámította a kezelések átlagát és szórását. A párhuzamos kezelésekből származó adatsorokat két, ill. három független változós varianciaanalízissel vetette össze. A kezelések közötti különbségeket Tukey HSD próbával tesztelte.

### 3. EREDMÉNYEK ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

#### 3.1. *In situ* vizsgálatok a Balatonban

Mindkét vizsgálati helyszínen felszínközeli fotoszintetikus gátlás volt megfigyelhető, mely a nagy fényintenzitásból adódó túltelítettség következménye. Tihanynál a nagyobb átlátszóság miatt a fénytelítettség zónája mélyebben található, ami a Keszthelyi-medencénél kapott értékeknél átlagosan kétszer nagyobb mértékű felszíni gátlást eredményezett. A fitoplankton fotoszintézis vertikális profilja alapján az UV sugárzás gátló hatása egyértelműen kimutatható, 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.

A kapott eredmények egyértelműen mutatják, hogy a fitoplankton fotoszintézisének 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- és Keszthelyi-medence felszíni gátlásának 75, ill. 79%-a, területegységre vetített gátlásának 76, ill. 74%-a az UV-A sugárzás hatásának tulajdonítható.

A gátlás értékeire, a globálsugárzásra és az extinkciós koefficiensekre végzett regresszióanalízis alapján egyértelművé vált, hogy a gátlás mértéke nemcsak a vízoszlop extinkciójával, hanem a globálsugárzással is szorosan összefügg.

#### 3.2. Az UV-A sugárzás *Desmodesmus armatusra* (Chlorophyceae)

##### gyakorolt hatása

A vizsgált zöldalgával végzett kísérletek eredményei szignifikáns UV-A hatásokról tanúskodnak. A kontroll tenyészetek  $200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  körüli

értéknél érték el szaporodásuk maximumát, ezen túl a csökkenés feltételezhetőleg a fotoszintézis gátlásával volt összefüggésben. Ezzel szemben az UV-A-val kezelt tenyészeteket szignifikánsan alacsonyabb szaporodási ráták jellemezték, a PAR intenzitás emelkedésével növekvő gátlás volt tapasztalható.

A vizsgált *D. armatus* celluláris karotinoid tartalma UV-A sugárzás jelenlétében megnőtt, míg a látható fény intenzitásának emelkedésével mindkét kezelésben csökkent. Ennek ellenére, a karotinoid/klorofill-a arány növekvő tendenciát mutatott a nagyobb PAR intenzitás felé, 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.

Az eredmények alapján az UV-A sugárzás jelentős befolyással lehet a cönóbiomok fejlődésére. UV-A sugárzás hiányában a 4-sejtes cönóbiomok domináltak, miközben a PAR intenzitás emelkedésével csökkent a 2-sejtes és nőtt a 8-sejtes cönóbiomok relatív gyakorisága. A 2-sejtes és teratológikus formák gyakoriságának UV-A sugárzás jelenlétében tapasztalt növekedését a 4- és 8- sejtes cönóbiomok előfordulásának csökkenése kísérte. Az UV-A sugárzás cönóbiomösszetételre gyakorolt hatásának számtalan következménye lehet (pl. a süllyedés sebességében vagy a fogyasztók táplálkozásában végbemenő változások). Erre vonatkozóan fontos kihangsúlyozni, hogy a *Desmodesmus* morfológiával kapcsolatban korábban végzett laboratóriumi tanulmányokban az itt megfigyelt UV-hatást nem vették figyelembe, így e tanulmányok extrapolálása természetes körülményekre ismételt megfontolás tárgyát képezheti.

### 3.3. 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 érzékenységtől, az UV sugárzás összetételétől, valamint az UV és a PAR sugárzás intenzitásának arányától.

A vizsgált zöldalgák az esetek többségében a cianobaktériumokhoz viszonyítva nagyobb UV-rezisztenciával rendelkeznek. UV-A sugárzás jelenlétében a tenyészetek kezdeti késési fázisa megnyúlt, mely a hozzáadott UV-B sugárzás hatására tovább fokozódott, de az alkalmazkodás folyamata változatlanul bekövetkezett. A törzsek eltérő szaporodási rátáiból interspecifikus érzékenységbeli különbségekre lehet következtetni. A négy cianobaktérium törzs eredményeiből megállapítható, hogy 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, különösen a *C. raciborskii* szaporodása volt elenyésző mértékű. Az egysejtű *Synechococcus elongatus* főleg  $85 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ -nál mutatott számottevő UV-érzékenységet, az UV-A és UV-B sugárzás együttesen tartósabb gátlást okozott, ugyanakkor  $250 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ -nál nagymértékű UV-rezisztencia volt megfigyelhető. Hasonló megállapítás tehető a *Microcystis aeruginosa* rezisztenciája tekintetében is. Alacsonyabb fényintenzitáson az alkalmazott UV-A sugárzáshoz való akklimatizálódás

több időt igényelt, azonban UV-B sugárzás hozzáadásával erőteljes és tartós gátlás volt megfigyelhető.

A cianobaktériumoknál talált alacsony fokú rezisztencia ökológiai szempontból több kérdést is felvet, különösen azon törzsek esetében, amelyek szezonálisan, viszonylag rövid ideig, de nagy tömegben is megjelenhetnek felszíni vizeinkben (*Cylindrospermopsis raciborskii*, *Microcystis aeruginosa*). Felmerül a kérdés, hogy az UV-érzékenységgel szemben milyen ökofiziológiai folyamat, vagy külső tényező nyújt lehetőséget e fajok tömeges elszaporodására? 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.

Klorofill-a tartalom vonatkozásában a vizsgált zöldalga törzsek egységes képet mutattak, míg a cianobaktériumokat nagyfokú változatosság jellemezte. Előbbiek esetében megállapítható, hogy a klorofill-a UV-A sugárzás okozta csökkenése  $250 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  PAR sugárzásnál szignifikánsan nagyobb mértékűnek bizonyult a  $85 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ -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 az a szaporodásnál is megfigyelhető volt, a törzs UV-B-vel szembeni gyenge rezisztenciájára utalhat.

Mindezen tendenciaszerűen megnyilvánuló összefüggések a cianobaktériumoknál nem voltak kimutathatók. A szaporodás tekintetében is legérzékenyebbnek mutatkozó *C. raciborskii* klorofill-a tartalmának UV sugárzás okozta drasztikus csökkenése bizonyos mértékig az *Anabaena*

*sphaerica*-ban is megjelent, bár az UV-B sugárzás további csökkenést nem okozott. Az egysejtű törzsek merőben másképp reagáltak, UV-A sugárzás jelenlétében szignifikáns csökkenés nem jelentkezett, sőt, a legtöbb esetben a klorofill-a tartalom emelkedését eredményezte. Ha azonban UV-B sugárzás is érte a tenyészeteket, erőteljes csökkenés volt tapasztalható.

#### **3.4. Mycosporine-szerű aminosavak (MAA-k) indukciója**

A szerző sikerrel mutatott ki MAA-t az MACC-426-os törzsszámú *Klebsormidium sp.* laboratóriumi tenyészeiben. A HPLC-s vizsgálatból valószínűsíthető, hogy az izolált MAA vegyület a palythine, melynek csúcsa a kromatogramon 4,3 percnél jelentkezett, abszorpciója 320 nm-en éri el maximumát.

Az extraktumok spektrofotométeres vizsgálata szerint a vegyület csak az UV sugárzással kezelt tenyészetekből volt kimutatható. Akkumulációját illetően eredményeinkből leszűrhető, hogy legnagyobb mértékben az UV-B sugárzás indukálta, bár az akcióspektrum 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. Az UV sugárzásnak kitett tenyészetek szárazanyag tartalma a kontrolhoz képest alacsonyabbnak mutatkozott, ugyanakkor a mintavételi napok között mérhető változás kezelésenként eltérő mértékű volt. A 10. napra elért szárazanyag gyarapodás 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.

Káros UV-hatásokkal szemben az algákban több különböző védekezési mechanizmus is kifejlődött, melyek egymást kiegészítve lépnek működésbe. Mindez bizonyos értelemben a *Klebsormidium sp.* karotinoid és MAA tartalmában is tetten érhető. Azokban a kezelésekben, ahol a legkisebb volt

az összkarotinoid tartalom (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 karotinoidok termelésével a károsodás már nem ellensúlyozható, a vizsgált faj az MAA vegyület szintézisével növeli rezisztenciáját.

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

A MACC-458-as törzs kezelése sejtméretre gyakorolt hatásukban az inkubációs idő előrehaladtával egyre markánsabb eltérést mutattak. A 4. órában a kisméretű sejtek relatív gyakorisága nagymértékben megnőtt, vagyis a sejtek osztódása a 2. és 4. óra közötti időintervallumban ment végbe. A fényszakasz kezdetével a kezelések között fokozatosan növekvő különbségek voltak megfigyelhetők. A 18. órában a kontroll tenyészetek 10-15  $\mu\text{m}^2$ -es mérettartományba eső sejtjeinek relatív gyakorisága a PAR+UV-A kezeléshez viszonyítva szignifikánsan nagyobb volt. A kísérlet végére a kontrollban a legnagyobb gyakoriságú mérettartomány eggyel meghaladta a PAR+UV-A-val kezelt tenyészetek leggyakoribb méretcsoportját.

Az UV-A sugárzásnak kitett tenyészetek hormon koncentrációja bizonyos időpontokban határozottan eltért a kontrollhoz képest, de ezen eltérések és a sejtméretnél tapasztalt különbségek között egyértelmű összefüggés nem volt kimutatható. A kísérlet végén az UV-A-val kezelt tenyészetekben az izopentenil-ribozid, az indol-3-ecetsav, valamint az abszcizinsav szárazanyagra vonatkoztatott mennyisége szignifikáns mértékben csökkent, tehát az UV-A hatása kimutatható. Annak megállapítása viszont, hogy az UV-A sugárzás milyen mechanizmusokon keresztül befolyásolja a sejtek növekedését, a jelenleginél mélyrehatóbb kutatásokat tenne szükségessé.



#### 4. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Hazai felszíni vizekben a szerző elsőként mutatta ki az ultraibolya sugárzás fitoplankton fotoszintézisre gyakorolt hatását. A Balatonban végzett kísérletek eredményei szerint az UV sugárzás hatásának tulajdonítható felszíni gátlás 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 cönóbiomok 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 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. A szerző a MACC-426-os törzsszámú *Klebsormidium sp.* zöldalgából sikerrel mutatott ki UV-abszorbeáló, mycosporine-szerű aminosavat. A HPLC-s vizsgálattal azonosított palythine szintézisét az alkalmazott UV sugárzás indukálta, melyen belül az UV-B sugárzás hatása bírt nagyobb jelentőséggel.
  
5. Első ízben került sor az UV sugárzás mikroalga tenyészet növényi hormontartalmára gyakorolt hatásának vizsgálatára. Az alkalmazott UV-A sugárzás kismértékben gátolta az MACC-458-as számú *Chlorella sp.* törzs sejtnövekedését, és szignifikáns csökkenést okozott az izopentenil-ribozid, az indol-3-ecetsav, valamint az abszcizinsav szárazanyagra vonatkoztatott mennyiségében. A sejtméret és a hormontartalom időbeli változása között közvetlen összefüggést kísérleteiben a szerző nem talált.

## 5. 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 tenyészetekre. *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.