

# RÉZ HATÁSA A BÚZAGYÖKEREK K<sup>+</sup> FELVÉTELI RENDSZERÉRE

BUJTÁS KLÁRA és CSEH EDIT

MTA Talajtani és Agrokémiai Kutató Intézete és ELTE Növényélettani Tanszék, Budapest

A nehézfémek szerepe a növények ásványi táplálkozásában 2 fontos gyakorlati problémát vet fel: hogyan biztosítsuk az esszenciális mikroelemeket az optimális koncentrációban, és hogyan szüntessük meg a feleslegben levő, illetve toxikus nehézfémek káros hatását? Izolált sejtorganellumok felhasználásával mutatták ki az anyagcserefolyamatok gátlását a toxikus koncentrációban jelenlevő nehézfémekkel. Az utóbbi évek kutatási eredményei szerint azonban a nehézfémek *primer* károsító hatásának helye valószínűleg a plazmalemma.

Egyre bizonyítottabb a közvetlen összefüggés az ionfelvétel és a plazmalemmában levő K<sup>+</sup>, H<sup>+</sup>-ATPáz működése között, a kationfelvétel az elektrogén pumpaként működő aktív H<sup>+</sup>-kiválasztás következménye (MARRÉ 1977).

KECK (1978), valamint OBERLÄNDER és ROTH (1978) felvetik, hogy egyes nehézfémek (pl. Cd) toxikus hatásukat a gyökérsejtek plazmalemma ATPázára fejtik ki. HENDRIX és HIGINBOTHAM (1974) a Hg<sup>2+</sup> és Ag<sup>+</sup> hatását vizsgálták a borsószár ionfelvételére. Kísérleteikben szerves -SH reagensek hatását is mérték összehasonlításuképpen, mivel sok nehézfém szelektíven reagál -SH csoportokkal. Megállapították, hogy a nehézfémek egy bizonyos koncentráció alatt szelektíven az ionfelvételi folyamatokra hatnak, és nem befolyásolják a légzést. Megemlítik, hogy zab gyökér K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>-ATPáza rendkívül érzékeny Hg<sup>2+</sup>-ra, Ag<sup>+</sup>-re és PCMBs-re (paraklórmerkuribenzén-szulfonsav). A Hg<sup>2+</sup>-nyal és Ag<sup>+</sup>-tel mérgezett enzim unkompetitív kinetikát mutat.

Saját vizsgálatainkban (CSEH, BUJTÁS és SZABADOS 1979, CSEH és BUJTÁS 1980, BUJTÁS és CSEH 1981) a növényi anyagcsere-folyamatokban különböző szerepet játszó nehézfémek hatását tanulmányoztuk gabonafélék (őszi búza, rozs, árpa, kukorica) gyökereinek K<sup>+</sup>-felvételére.

Vizsgálatainkhoz kadmiumot, rezet és higanyt választottunk. A Cd az ipari eredetű környezetszennyezés egyik „jelzőionja”, egyértelműen toxikus a növények számára. A hajtás és gyökér növekedését egyaránt gátolja, és nagy mennyiségben transzlokálódik a hajtásba (10<sup>-4</sup> molos oldatán 10 napig nevelt búza csíranövények hajtásában 360 µg/g szárazsúly volt a Cd-tartalom). Így a növényekből könnyen bekerül a táplálékláncba, és ebben rejlik kiemelt

fontossága a környezetvédelemben. Búzában a Cd már rövid idejű kísérletekben is erősen gátolja a metabolizmustól függő, aktív  $K^+$ -felvételt. A  $Cd^{2+}$  hatása nem a membránszerkezet aspecifikus változtatásán alapul, mivel  $K^+$ -mal előteltített gyökerek elektrolit effluxa 3 órás  $Cd^{2+}$ -kezelés után sem különbözik a kontroll alacsony értékétől, ami a membránszerkezet épségét bizonyítja.

A réz a kadmiummal ellentétben a növények ásványi táplálkozása szempontjából esszenciális mikroelem, amely azonban koncentrációjának emelkedésével hamar toxikussá válik. Vízkultúras növénynevelési kísérleteink eredményei szerint a réz elsősorban a gyökérzet növekedését gátolja, és — valószínűleg a gyökérsejtek károsítása miatt — jóval kisebb mértékben transzlokálódik a hajtásba, mint a Cd. A Cu-felvétel mechanizmusa kérdésében a kapott eredményeket ellentmondóan értelmezik. Az utóbbi években a Cu aktív felvételéről jelennek meg dolgozatok, a Nissen iskola értelmezése szerint. HARRISON és mtsai (1978) árpa gyökerek réz felvételét multifázisosnak tekintik  $0,6-787 \text{ mmól} \cdot \text{dm}^{-3}$  külső koncentráción, 30 perces  $\text{CaCl}_2$ -os mosás után. OBERLÄNDER és ROTH (1978) vizsgálatai szerint a  $K^+$ -felvétel gátlásában a nehézfémeknek az alábbi a sorrendje:  $\text{Cu} > \text{Cd} > \text{Cr} > \text{Ni} > \text{Zn}$ . A  $K^+$ -felvétel erős gátlásával ellentétben a  $\text{Ca}^{2+}$ -abszorpcióra a Cu alig hat (VELTRUP 1981).

A higanyvegyületekről kimutatták, hogy a plazmalemma felületéhez kötődnek (HENDRIX és HIGINBOTHAM 1974). A búzagyökerek  $K^+$ -felvételét a  $\text{Hg}^{2+} 10^{-5} \text{ mól} \cdot \text{dm}^{-3}$  koncentrációban 10 perc alatt kb. 30%-ra gátolja, a gátlás ciszteines mosással feloldható (BUJTÁS és CSEH 1982).

Ebben a dolgozatban a  $\text{Cu}^{2+}$ -nek a búzagyökér  $K^+$ -felvételi rendszerére gyakorolt hatására vonatkozó eredményeinket foglaljuk össze.

### Anyag és módszer

Kísérleteinkben őszi búza (*Triticum aestivum* L. cv. GK Szeged) csíranövények excizált gyökereinek  $K^+$ -felvételét mértük, illetve ennek változását különböző  $\text{Cu}^{2+}$ -kezelések hatására. A kísérletek részletes leírását az eredményeknél közöljük, itt csak a minden kísérletben közös technikai részleteket írjuk le.

A magvakat 3,0%-os  $\text{H}_2\text{O}_2$ -os fertőtlenítés után, rozsdamentes acélhálón csíráztattuk sötétben,  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ -on,  $5 \cdot 10^{-4} \text{ mól} \cdot \text{dm}^{-3}$   $\text{CaSO}_4$  oldaton, 4 napig. Az oldatot naponta cseréltük.

A kísérlet megkezdése előtt a levágott gyökereket egy tömegben kb. 1 órán át  $\text{CaSO}_4$  oldatban levegőztettük a növényi anyag homogénebbé tétele és az izolálási hatás elkerülése végett.

Az egyes variánsokhoz 3–7 paralelt használtunk egy kísérletben, paral-

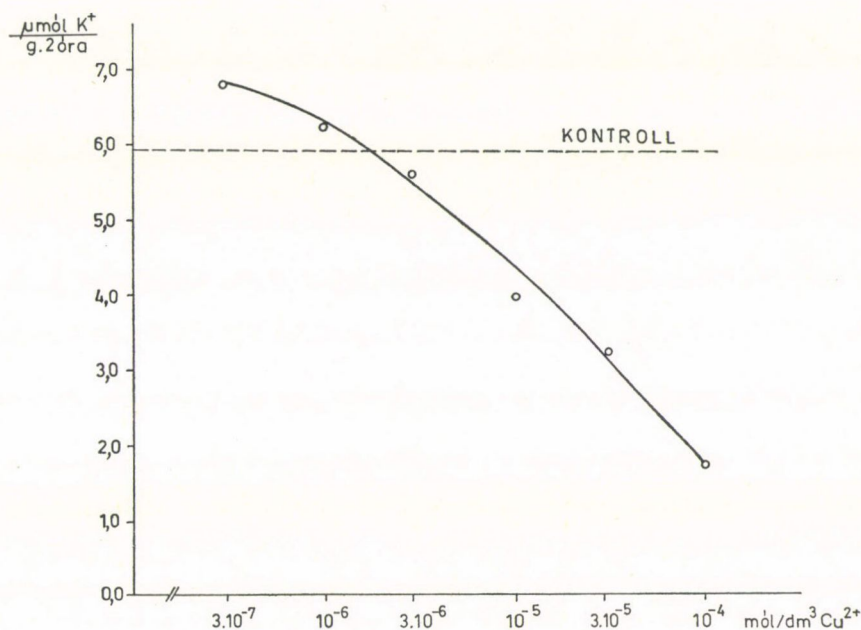
lelenként 0,8 g gyökérrel. A kísérletek időbeli beosztása olyan volt, hogy ez az elrendezés 3–7 önálló kísérletnek felelt meg. A kísérleteket általában 2–3-szor ismételtük.

A méréseket szobahőmérsékleten végeztük. A kísérletekben használt összes oldat tartalmazott  $5 \cdot 10^{-4}$  mól  $\cdot$  dm $^{-3}$  CaSO $_4$ -ot is. A kezelésekhöz a rezet szulfátként mértük be.

A  $K^+$ -felvétel mérésére KCl oldatban  $^{86}\text{Rb}^+$  jelölést használtunk, a felvételi oldatból kiszűrt és 100 cm $^3$  inaktív oldattal leöblített gyökerek aktivitását kútkristályos szcintillációs rendszerben mértük. Az öblítő folyadék általában  $5 \cdot 10^{-4}$  mól  $\cdot$  dm $^{-3}$  CaSO $_4$ -tal készült  $10^{-4}$  mól  $\cdot$  dm $^{-3}$  KCl volt. A standard beütésszámának ismeretében a felvett  $K^+$  abszolút mennyiségét számoltuk.

### Eredmények

A  $\text{Cu}^{2+}$ -hatás koncentráció függését  $3 \cdot 10^{-7}$ – $10^{-4}$  mól  $\cdot$  dm $^{-3}$  koncentrációtartományban vettük fel,  $10^{-4}$  mól  $\cdot$  dm $^{-3}$  KCl jelenlétében, 2 órás felvételi periódus alatt. Előkísérleteinkből megállapítottuk, hogy ennyi idő alatt kialakul a maximális gátlás, a gátlás időfüggését már nem kell figyelembe vennünk.  $3 \cdot 10^{-7}$  és  $10^{-6}$  mól  $\cdot$  dm $^{-3}$  koncentrációban a fentiekben leírt



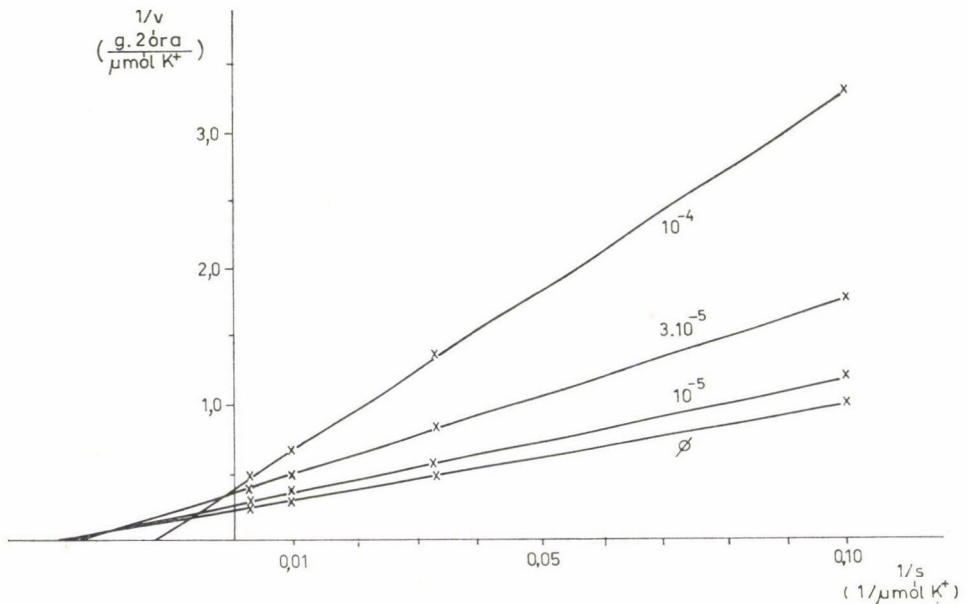
I. ábra. A  $K^+$ -felvétel  $\text{Cu}^{2+}$ -gátlásának koncentrációfüggése. (A felvételi oldat  $5 \cdot 10^{-4}$  mól  $\cdot$  dm $^{-3}$  CaSO $_4$  +  $10^{-4}$  mól  $\cdot$  dm $^{-3}$  KCl + a megfelelő koncentrációjú CuSO $_4$ )

körülmények között a  $\text{Cu}^{2+}$  serkenti a  $\text{K}^+$ -felvételt.  $10^{-6}$   $\text{mól} \cdot \text{dm}^{-3}$  felett a serkentés gátlásba csap át, amely a Cu-koncentráció logaritmusával lineárisan nő (1. ábra).

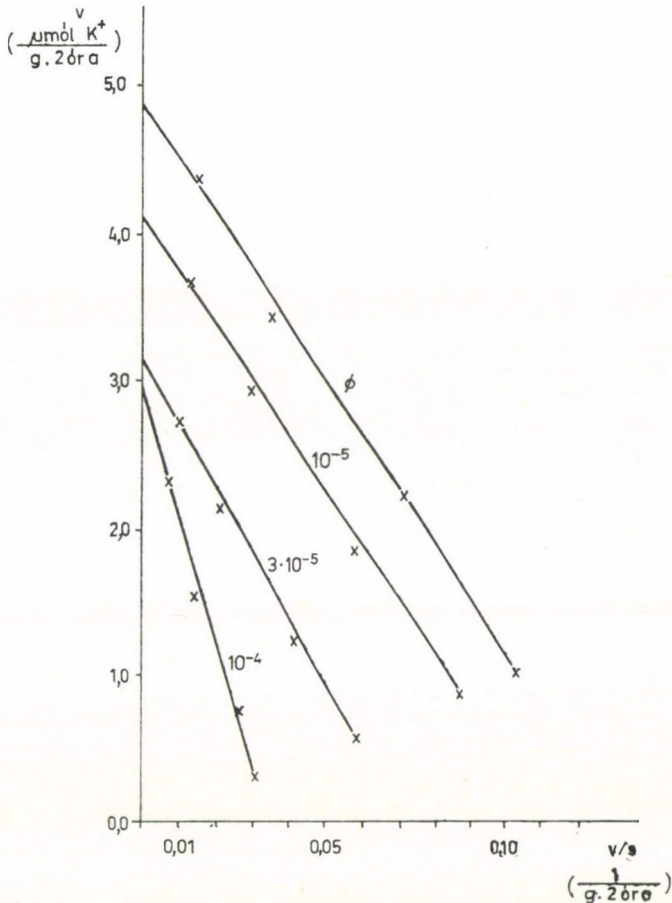
A  $\text{K}^+$ -felvétel (általában a szállítórendszer-közvetítette, anyagcserétől függő, aktív felvétel) a Michaelis–Menten-féle enzimkinetikával analóg módon jellemezhető. Az enzimkinetikai analízishez, a Cu-gátlás típusának megállapításához a Cu-koncentrációsort több  $\text{K}^+$ -koncentráció mellett is felvettük. A kísérletek körülményei megegyeztek az előzővel. Az eredményeket a Lineweaver–Burk (2. ábra) és az Eadie–Hofstee-féle ábrázolás (3. ábra) szerint is bemutatjuk.

Az ábrákon egy pont 9–12 adat (3–4 kísérlet) átlaga, az egyeneseket lineáris regressziószámítás elvégzése alapján rajzoltuk. A 4 különböző Cu-koncentráción (0,  $10^{-5}$ ,  $3 \cdot 10^{-5}$  és  $10^{-4}$   $\text{mól} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) felvett  $\text{K}^+$ -koncentráció-görbék mindkét ábrázolási mód szerint egyeneseket adnak. Az egyeneseknek koordináta-tengelyekkel adott metszéspontjaiból, és az egyenesek meredekségéből meg kell állapítanunk, hogy a Cu hatása egyik, kinetikailag egyszerűen leírható gátlástípusba sem tartozik, annak ellenére, hogy a kinetikai analízishez olyan Cu-koncentrációkat használtunk, amelyek az előző kísérlet adatai szerint a gátlás lineáris szakaszára esnek.

A  $10^{-5}$   $\text{mól} \cdot \text{dm}^{-3}$   $\text{Cu}^{2+}$  hatása csak nagyon kicsit tér el a nem-kompetitív gátlástípustól. A Cu-koncentráció emelkedésével a gátlás típusa a kom-



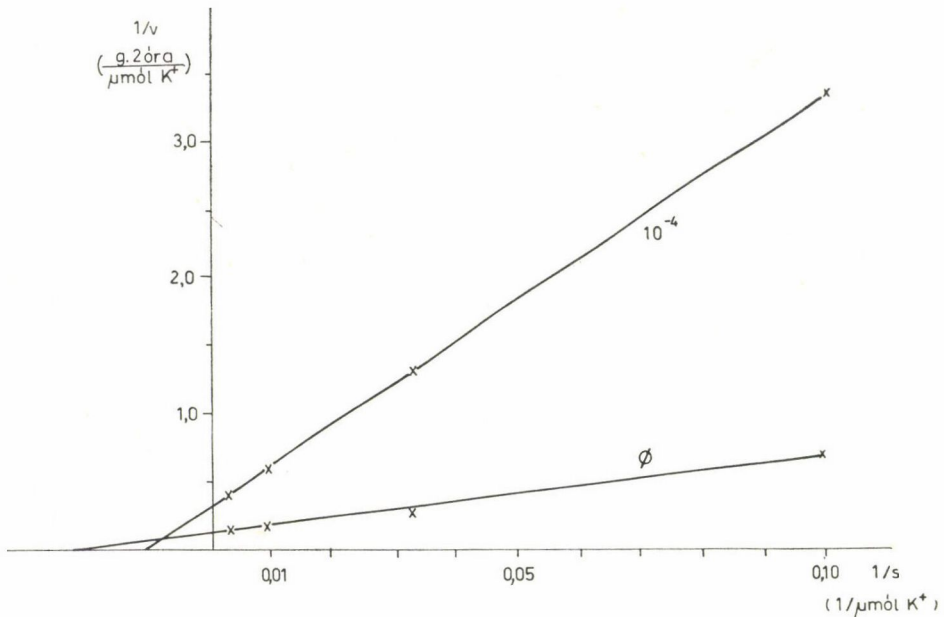
2. ábra. A felvételi periódusban adott  $10^{-5}$ ,  $3 \cdot 10^{-5}$  és  $10^{-4}$   $\text{mól} \cdot \text{dm}^{-3}$   $\text{Cu}^{2+}$  hatása a  $\text{K}^+$ -felvételre a Lineweaver–Burk ábrázolás szerint. (A kontroll a kisebb felvételt mutató populációba tartozik)



3. ábra. Az előző ábra adatai az Eadie—Hofstee ábrázolás szerint

petitív felé tolódik el, de még  $10^{-4}$  mól · dm<sup>-3</sup> Cu-nél sem éri el az egyenesek metszéspontja az ordinátát.

A gátlás típusának vizsgálatára több kísérletsorozatot végeztünk. Ezek egy részében a kontroll K<sup>+</sup> felvétele magasabb volt, mint az előző ábrákhoz tartozó kísérletekben. Ezekben a magasabb kontroll felvételt mutató kísérletekben csak 0 és  $10^{-4}$  mól · dm<sup>-3</sup> Cu<sup>2+</sup>-koncentrációt használtunk. Eredményeiket szintén bemutatjuk mind a kétszer reciprok, (4. ábra) mind az Eadie—Hofstee-féle ábrázolási módban (5. ábra). Legfeltűnőbb, hogy a kontroll jóval magasabb K<sup>+</sup>-felvételét az Eadie—Hofstee-ábrázolásban nem írhatjuk le egyenessel. A pontokat összekötő görbe, bár monoton csökkenő, a nagyobb K<sup>+</sup>-koncentráció tartományt átfogó hiperbolafüggvény egyetlen szakaszaként sem értelmezhető. A  $10^{-4}$  mól · dm<sup>-3</sup> Cu-koncentrációnál kapott értékek gyakorlatilag megegyeznek az alacsonyabb kontroll felvétel mellett kapott Cu-



4. ábra. A felvételi periódusban adott  $10^{-4}$  mól·dm $^{-3}$  Cu $^{2+}$  hatása a K $^{+}$ -felvételre, kétszer reciprok ábrázolás. (A kontroll a nagyobb felvételt mutató populációba tartozik)

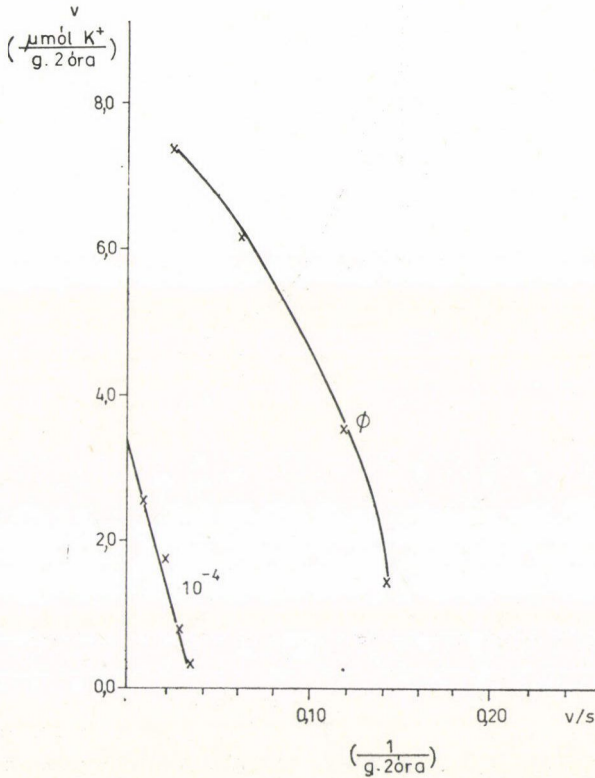
gátlás értékeivel, a különbség a szóráson belül marad. Sőt, inhibitorral és anélkül a Lineweaver-Burk ábrázolás szerint kapott egyenesek metszéspontjai az abszcisszára vetítve azonos helyen vannak, függetlenül a kontroll felvétel értékétől (2. és 4. ábra).

A  $10^{-4}$  mól·dm $^{-3}$  Cu-zel gátolt felvétel értéke tehát a nagyobb és kisebb kontroll felvétel mellett azonos volt, vagyis a Cu-gátlás (%-os érték) nagyobb, ha a felvételi rendszer működése intenzívebb. A Cu $^{2+}$ -gátlás kialakulásának időfüggését 3 féle módon vizsgáltuk:

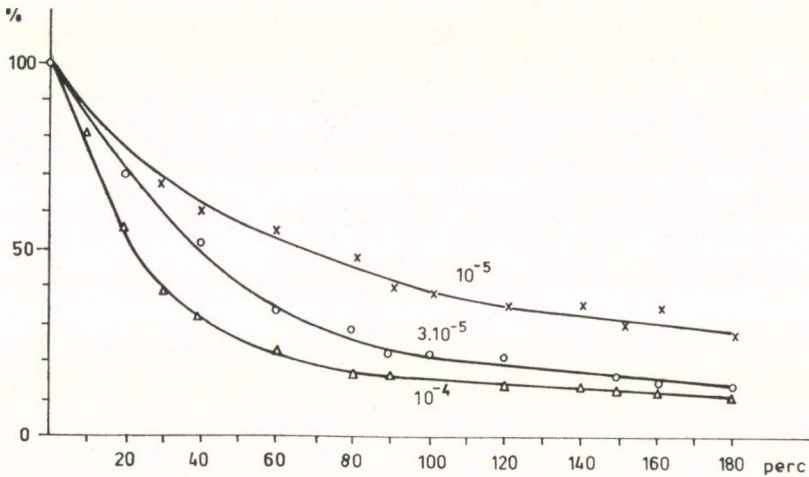
- a) a Cu a felvételi oldatban volt jelen a változó idejű felvételi periódus alatt;
- az inaktív Cu-előkezelés idejét változtattuk;
- a konstans idejű inaktív Cu-előkezelést változó idejű mosási periódus és 20 perces felvétel követte.

Azokban a kísérletekben, ahol a Cu  $10^{-4}$  mól·dm $^{-3}$  koncentrációban a K $^{+}$ -mal együtt, a felvételi oldatban volt jelen, a gátlás már 30 perc elteltével jól mérhető, a Cu-zel gátolt felvétel igen lassan emelkedik, 2 óra után nem nő tovább (BUJTÁS és CSEH 1981).

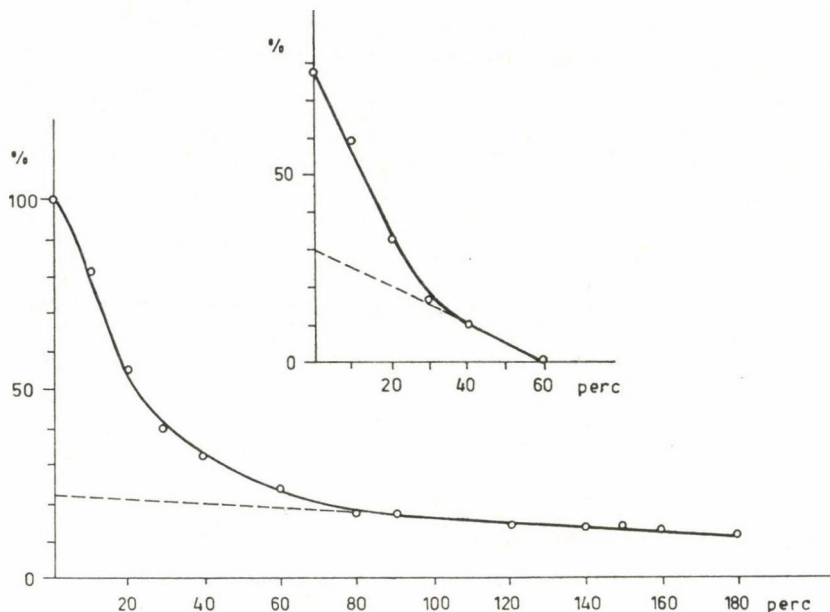
Az időfüggés részletesebb vizsgálatára a Cu-kezelést a radioaktív felvételi periódus előtt, inaktív oldatban végeztük,  $10^{-4}$  mól·dm $^{-3}$  KCl jelenlétében, különböző ideig. A Cu-előkezelést inaktív, Cu-mentes oldattal öblítés, majd 20 perc radioaktív felvételi periódus követte, amelyben a Cu már



5. ábra. Az előző ábra adatai az Eadie—Hofstee ábrázolás szerint



6. ábra. A  $K^+$ -felvétel sebessége  $10^{-5}$ ,  $3 \cdot 10^{-5}$  és  $10^{-4}$   $\text{mól} \cdot \text{dm}^{-3}$  koncentrációjú, változó idejű  $\text{Cu}^{2+}$ -előkezelés után. (Az inaktív előkezelés után 20 perces,  $\text{Cu}^{2+}$ -mentes felvételi periódus. Az adatok az előkezelés nélküli abszolút kontroll felvételének %-ban kifejezve)



7. ábra. A  $10^{-4}$  mól·dm $^{-3}$  Cu $^{2+}$ -előkezelés hatására kialakuló gátlás időbeli felbontása

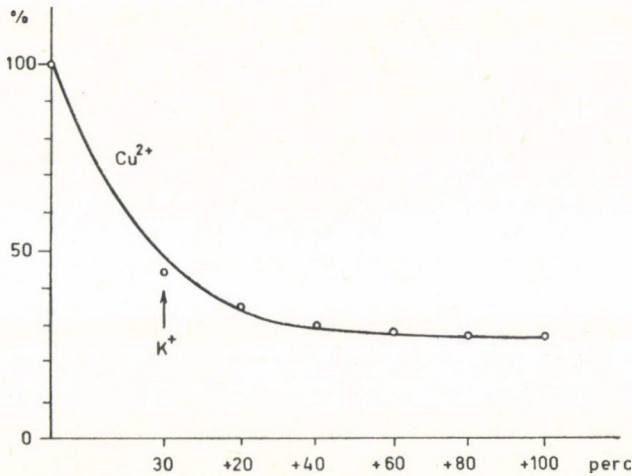
nem volt jelen. Így a különböző idejű Cu-előkezelés után, a sejthez, ill. sejtbén kötődött Cu hatását mérhettük a K $^{+}$ -felvétel sebességére. A kísérleteket 3 Cu-koncentráción ( $10^{-5}$ ,  $3 \cdot 10^{-5}$  és  $10^{-4}$  mól·dm $^{-3}$ ) végeztük. Eredményeinket a Cu-előkezelés nélkül mért abszolút kontroll %-ában fejeztük ki. A 6. ábrán a 3 Cu-koncentráció görbét együtt ábrázoljuk. A görbék lefutása hasonló, monoton csökkenőek, kb. 80 perc után a különböző koncentrációkon felvett görbék különböző határértékhez tartanak.

$10^{-4}$  mól·dm $^{-3}$  Cu-zel végeztük a legtöbb ilyen típusú kísérletet. Ezeknek adatait a kompartment-analízis szerint vizsgálva, a Cu-gátlás kialakulásának 3 szakaszát különíthetjük el (7. ábra). Az első, gyors szakaszban az abszolút kontroll %-ában kifejezett felvétel lineárisan csökken kb. 30 percig, a második, lassúbb szakasz kb. a 80. percig tart, és a 0. percre vetítve 70%-os felvétel-csökkenést okoz. A harmadik, leglassúbb szakaszban további 7,5%-kal csökken a felvétel.

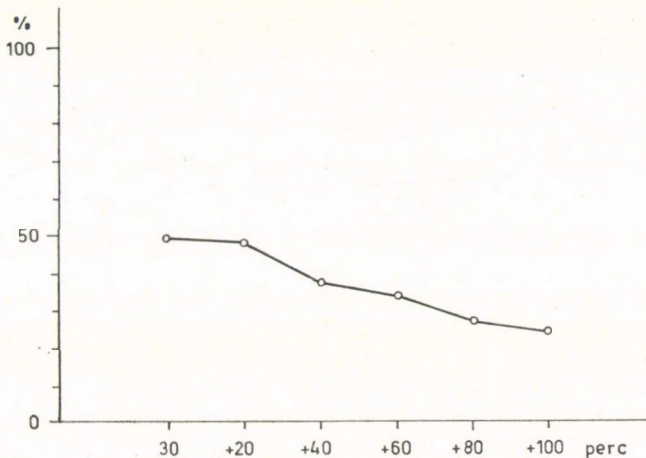
A sejthez (sejtbén?) kötődő Cu hozzáférhetőségéről mosási kísérletekkel akartunk meggyőződni. Ezeknek technikája közös volt: rövid, adott idejű (max. 30 perc) inaktív Cu-előkezelés után Cu-mentes oldattal öblítés, majd szintén Cu-mentes  $10^{-4}$  mól·dm $^{-3}$  K $^{+}$ -tartalmú oldatokkal (kontroll vagy cisztein vagy komplexképzők) különböző idejű mosás következett. Ezután történt a K $^{+}$ -felvétel sebességének mérése 20 perces felvételi periódusban. A felvételt itt is általában az előkezelés és mosás nélküli abszolút kontroll %-ában fejezzük ki.



Ilyen ábrázolásban a kontroll ( $10^{-4}$  mól · dm $^{-3}$   $K^+$ ) oldattal történő mosás görbéje határértékhez közelít (8. ábra). A 30 perces,  $10^{-4}$  mól · dm $^{-3}$  Cu-tartalmú oldattal történt előkezelés a felvételt az abszolút kontroll 45%-ára csökkenti. A felvétel a Cu-mentes oldattal végzett mosás során tovább csökken, egyre lassuló mértékben, kb. 60 percig, majd ezen a szinten marad. Azonban, mint a 9. ábrán látható, ha a Cu-előkezelés utáni kontroll mosáskor kapott értékeket nem az abszolút kontroll %-ában fejezzük ki, hanem az ugyan-

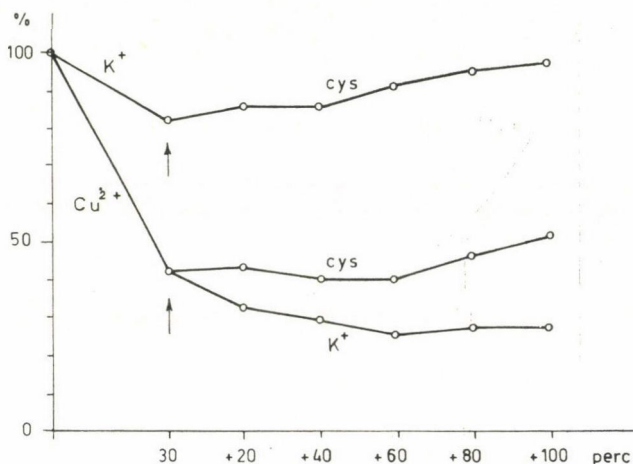


8. ábra.  $Cu^{2+}$ -előkezelés utáni Cu-mentes oldattal végzett mosás időgörbéje. (30 perces,  $10^{-4}$  mól · dm $^{-3}$  koncentrációjú  $Cu^{2+}$ -előkezelés után inaktív mosás  $10^{-4}$  mól · dm $^{-3}$  KCl-dal, majd 20 perces felvételi periódus. Az adatok az előkezelés nélküli abszolút kontroll felvételének %-ában kifejezve.)

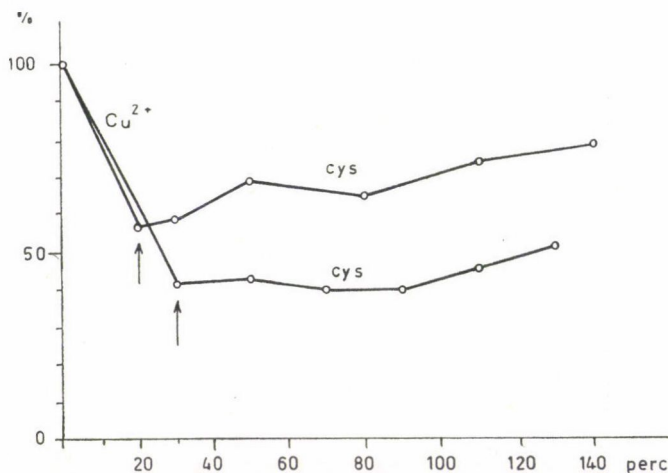


9. ábra. Az előző ábra adatai az ugyanakkor  $Cu^{2+}$ -mentesen,  $K^+$ -mal előkezelt, majd mosott gyökér  $K^+$ -felvételének %-ában kifejezve

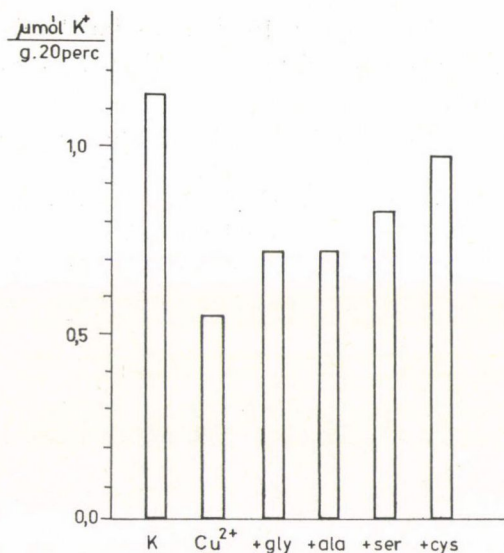
azon kísérletben végzett azonos  $K^+$ -előkezelés utáni kontroll mosáskor kapott érték %-ában, a mosási idő növekedésével gyakorlatilag lineárisan csökkenő felvételi értékeket kapunk, vagyis a gátlás a  $Cu$ -mentes oldattal történő mosáskor lineárisan fokozódik. Ennek a különbségnek az az oka, hogy a  $K^+$ -előkezelés utáni kontroll mosás során, — sokszorososan megismételt kísérleteink tanúsága szerint, — a  $K^+$ -felvétel enyhe minimumgörbét mutat, a hosszabb idejű (60 percnél hosszabb) mosás után a felvétel nő. A  $Cu$ -gátlás fokozódását valójában tehát ehhez a kezeléshez kell viszonyítani.



10. ábra. A kialakult  $Cu^{2+}$ -gátlás csökkentése ciszteines mosással. (30 perc előkezelés  $10^{-4}$   $mól \cdot dm^{-3}$   $K^+$  + 0 vagy  $3 \cdot 10^{-5}$   $mól \cdot dm^{-3}$   $Cu^{2+}$ -zel, inaktív, változó idejű mosás  $10^{-4}$   $K^+$  + 0 vagy  $10^{-4}$   $mól \cdot dm^{-3}$  ciszteinnel, majd 20 perces felvételi periódus. Az adatok a kezelés nélküli abszolút kontroll %-ában kifejezve)



11. ábra A ciszteines mosás gátlást csökkentő hatása 20, illetve 30 perces  $Cu^{2+}$ -előkezelés után. (A kísérlet körülményeit l. az előző ábránál)



12. ábra. A Cu<sup>2+</sup>-gátlás megakadályozása egyidejűleg adott aminosavakkal. ( $3 \cdot 10^{-5}$  mól · dm<sup>-3</sup> Cu<sup>2+</sup> +  $10^{-4}$  mól · dm<sup>-3</sup> aminosav a 20 perces felvételi periódusban)

A 30 perces,  $3 \cdot 10^{-5}$  mól · dm<sup>-3</sup> koncentrációjú Cu-előkezelés után  $10^{-4}$  mól · dm<sup>-3</sup> ciszteinnel mosott gyökér K<sup>+</sup>-felvételének adatait a 10. ábrán mutatjuk be. A ciszteintől akkor várható a gátlás csökkentése, ha a Cu a K<sup>+</sup>-felvételi rendszert -SH csoportokhoz kötődés útján gátolja. A cisztein : Cu arányt 3 : 1-re választottuk, mert az előző és egyéb vizsgálatainkban használt komplexképzőknél (EDTA, FMSz = foszfonometilszarkozin) ez bizonyult optimálisnak. Ciszteines mosással a Cu<sup>2+</sup> gátlásának fokozódása elmarad, sőt 60 perc mosás után a felvétel lassan emelkedik, éppúgy, mint a kontroll K<sup>+</sup>-előkezelés után (10. ábra). Rövidebb idejű (20 perces) Cu-előkezelés után a ciszteines mosással a gátlás méginkább csökkenthető, a 20 perc Cu-kezelés utáni 57%-os felvétel 120 perces ciszteines mosás után az abszolút kontroll 80%-ára emelkedik (11. ábra).

Ha a ciszteint, illetve összehasonlításképpen analógjait, az alanint és szerint, valamint a glicint a Cu-zel együtt adtuk, 3 : 1 arányban, 30 perces felvételi periódusban, mindegyik aminosav csökkentette a K<sup>+</sup>-felvétel gátlását. A glicin és alanin egyformán és a legkisebb mértékben hatottak, a szerin valamivel hatékonyabb volt, a cisztein majdnem teljesen megszüntette a gátlást (12. ábra).

### Összefoglalás

Mint a bevezetőben említettük, a Cu a növények ásványi táplálkozása szempontjából esszenciális mikroelem, amely azonban koncentrációjának emelkedésével hamar toxikussá válik. Ennek fényében elgondolkoztató, hogy a

búzagyökér  $K^+$ -felvételi rendszerét  $10^{-6}$  mól · dm $^{-3}$ -nél kisebb koncentrációban, rövid idejű felvételi kísérletekben serkenti, és ennél nagyobb koncentrációban gátolja.

A koncentráció görbék enzimkinetikai analíziséből nem tudtunk egyértelmű következtetést levonni a gátlás típusára vonatkozóan. A kétszer reciprok ábrázolásban a különböző Cu-koncentrációkon felvett görbék és a kontroll görbe egymással szöveget zárnak be, metszéspontjuk  $10^{-5}$  mól · dm $^{-3}$  Cu-koncentrációnál csaknem az abszcisszán van, azaz ebben a Cu-koncentrációban a gátlás a nem-kompetitívhez közelít. A Cu-koncentráció emelkedésével a metszéspont az ordináta felé, vagyis a gátlástípus a kompetitív felé tolódik el. Ezt az eredményt úgy értelmezhetjük, hogy  $10^{-5}$  mól · dm $^{-3}$  Cu kötődni képes a szállítóhoz, de nem akadályozza meg a szubsztrát, azaz a szállított ion kötődését. A Cu koncentrációjának növekedésével a gátlás közelít a kompetitívhez, vagyis a Cu kötődése megakadályozza a szállított ion kötődését. Mivel régebbi kísérleteinkben a Cu a búzagyökerek  $H^+$ -effluxát is gátolta (CSEH és BUJTÁS 1981), nem dönthetjük el, hogy jelen esetben a  $K^+ \rightleftharpoons H^+$ -szállító rendszerre hol fejt ki az elsődleges hatását.

Több éven át végzett, hasonló felépítésű kísérleteinkből megállapíthatjuk, hogy a  $K^+$ -felvétel szempontjából kísérleti anyagunk 2 populációra oszlik: a 2 óra alatt mért  $K^+$ -felvétel kb.  $6 \mu\text{mól} \cdot \text{g}^{-1}$ , ill.  $3-3,5 \mu\text{mól} \cdot \text{g}^{-1}$  értéket ad. A  $10^{-4}$  mól · dm $^{-3}$  Cu-zel gátolt  $K^+$ -felvétel mindkét esetben azonos, így a nagyobb felvétel %-osan jobban gátolható Cu-zel. Érdekes ezt összevetni régebbi adatainkkal, melyek szerint tél végén, január–február hónapban, a kontrollált körülmények között nevelt növények  $K^+$ -felvétele erős minimumot mutat, amely alig haladja meg a passzív adszorpciót és Cu-zel alig gátolható (BUJTÁS és CSEH 1981).

A Cu tehát mindig egy bizonyos szintig csökkenti a  $K^+$ -felvételt, az éppen mérhető kontroll felvétel értékétől függetlenül.

Amikor nagyobb kontroll felvételi értékeket kaptunk és az adatokat az Eadie–Hofstee féle ábrázolási módon vettük fel, nem kaptunk egyenest. A görbe alakulását nem tudjuk értelmezni. Biztosan nem arról van szó, hogy kettős telítési kinetikát mutató felvételi rendszer(ek) második, emelkedő szakaszába csúszunk át, mert az ilyen átmenetnek az Eadie–Hofstee ábrázolás szerint ellenkező görbülésűnek kellene lennie. Úgy látszik tehát, hogy a nagyobb kontroll felvételi értékek bizonyos értelemben abnormálisnak számítanak.

A Cu-gátlás időbeli kialakulásának részletesebb vizsgálatára felvett előkezelési és mosási görbékből, elsősorban a  $10^{-4}$  mól · dm $^{-3}$  koncentráción a gátlás kialakulásának 3 szakasza különíthető el. A szakaszok értelmezése nem könnyű feladat. Kísérleti technikánk kizárja azt, hogy az első szakaszt, mely kb. 30 percig tart, a sejtfal szabad helyébe kötődésként foghassuk fel, már ebben a periódusban is valószínűleg a plazmalemmához kapcsolódik a réz.

Kérdéses, hogy az ezután következő 2 lassúbb szakaszt minek tulajdonítsuk: a megkötődött Cu egy része más kompartmentekbe jut, vagy ugyanazon a felületen, esetleg más tulajdonságú helyekhez újabb Cu-ionok kapcsolódnak? Mosási kísérleteink tanúsága szerint a 30 perc alatt kötődött Cu nem távolítható el egyszerű Cu-mentes oldattal történő mosással, tehát nincs az ionszere szempontjából hozzáférhető helyen. Sőt, a gátlás fokozódásából arra következtethetünk, hogy a Cu további helyekhez is kapcsolódik („beljebb” vándorol a sejtbe). Ennek a kísérletnek feltétlenül kiegészítése lenne a hasonló kezelési módok után végzett légzésmérés. A mosási kísérletekben a gátlás fokozódása az abszolút kontroll %-ában mérve csak kb. 60 percig tart, ezután a görbe határértéket ér el, vízszintessé válik. A Cu<sup>2+</sup> előkezelés mellett kontrollként K<sup>+</sup>-mal előkezelt variánst is beállítottunk, ennek K<sup>+</sup> felvétele kb. 60 perc után emelkedett, amiből az következik, hogy a Cu<sup>2+</sup>-zel gátolt görbe vízszintes szakasza a gátlás növekedéseként értelmezhető (9. ábra). Ez a jelenség is példája annak, hogy a Cu egy adott szintre csökkenti a K<sup>+</sup> felvételt, függetlenül a kontroll értékétől.

A Cu-gátlás feloldására különböző anyagokkal végzett kísérletek arra az eredményre vezettek, hogy a kialakult Cu-gátlás az -SH csoportokat felszabadító ciszteinnel csak részben revertálható. A gátlás csökkentése aminosavakkal, elsősorban szerinnel, ill. más komplexképzőkkel (FMSz, EDTA) arra utal, hogy a gátlás kialakulásában nem csupán az -SH csoportok blokkolásának van szerepe. Ezt bizonyítják a Hg-nyal végzett kísérleteink (BUJTÁS és CSEH 1982), melyek szerint a jóval kisebb Hg-koncentrációnál, rövidebb idő alatt kialakuló igen erős gátlást ciszteinnel teljesen fel lehet oldani. A kialakult Cu-gátlás feloldásában viszont a cisztein hatása nem 100%-os.

A Cu hatáshelyének megállapításához feltehetően közelebb jutunk, ha a K<sup>+</sup>-felvételi rendszer más gátlóival kombinálva (pl. K<sup>+</sup>-előtelítéssel előidézett influx gátlás körülményei között, H<sup>+</sup>-efflux hiányában) vizsgáljuk a Cu hatását.

#### IRODALOM

- BUJTÁS, C. and CSEH, E.: Effect of heavy metals and chelating agents on potassium uptake of cereal roots. *Plant and Soil* **63**, 97–100 (1981).
- BUJTÁS, C. and CSEH, E.: Mercury inhibition of K<sup>+</sup>-uptake system in roots. *Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung.* **17**, 166 (1982).
- CSEH, E. and BUJTÁS, C.: Effect of heavy metals on growth and K<sup>+</sup>-absorption of wheat. *Proc. 20<sup>th</sup> Hung. Annu. Meet. Biochem.*, pp. 233–234 (1980).
- CSEH E. és BUJTÁS K.: Környezet-zennyezés: nyomelem-toxicitás. *MTA Biol. Tud. Oszt. Közl.* **24**, 247–258 (1981).
- CSEH, E., BUJTÁS, C. and SZABADOS, M.: Preliminary notes about the effects of heavy metals on plant nutrition. In: *Mineral Nutrition of Plants*. (Eds. Kudrev, T.; Stoyanov, I. and Georgieva, V.) Vol. II. pp. 315–319 Sofia (1979).
- HARRISON, S. J.; Lepp, N. W. and Phipps, D. A.: Uptake of copper by excised roots. I. A modified experimental technique for measuring ion uptake by excised roots, and its application in determining uptake characteristics of „free” copper ions in excised *Hordeum* roots. *Z. Pflanzenphysiol.* **90**, 443–450 (1978).

- HENDRIX, D. L. and HIGINBOTHAM, N.: Heavy metals and sulphhydryl reagents as probes of ion uptake in pea stem. In: *Membrane Transport in Plants* (Eds. Zimmermann, U. and Dainty, J.) pp. 412—416 Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1974).
- KECK, R. W.: Cadmium alteration of root physiology and potassium ion fluxes. *Plant Physiol.* **62**, 94—96 (1978).
- MARRÉ, E.: Physiologic implications of the hormonal control of ion transport in plants. In: *Plant Growth Regulation* (Ed.: Pilet, P. E.) pp. 54—66. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1977).
- OBERLÄNDER, H. E. and ROTH, K.: Die Wirkung der Schwermetalle Chrom, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium, Quecksilber und Blei auf die Aufnahme und Verlagerung von Kalium und Phosphat bei jungen Gerstenpflanzen. *Z. Pflanzenernähr. Bodenkd.* **141**, 107—116 (1978).
- VELTRUP, W.: Effect of heavy metals on the calcium absorption by intact barley roots. *J. Plant Nutr.* **3**, 225—231 (1981).