

Joanna Augustynowicz\*, Anna Kołton\*, Andrzej Waloszek\*\*

**WPŁYW SPECJACJI ZWIĄZKÓW CHROMU NA STAN  
APARATU FOTOSYNTETYCZNEGO *CALLITRICHE*  
*COPHOCARPA* SENDTN**

**INFLUENCE OF THE CHROMIUM SPECIATION  
ON THE PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF *CALLITRICHE*  
*COPHOCARPA* SENDTN**

**Słowa kluczowe:** barwniki fotosyntetyczne, *Callitriche*, chrom, fluorescencja chlorofilu, fotosynteza.

**Key words:** *Callitriche*, chlorophyll fluorescence, chromium, photosynthesis, photosynthetic pigments.

**Streszczenie**

*Celem prezentowanej pracy była analiza zmian w aparacie fotosyntetycznym *Callitriche cophocarpa* (rzęśl długoszajkowa) eksponowanej na działanie wysokich stężeń Cr trój- i sześciowartościowego. Ten szeroko rozprzestrzeniony na świecie wodny makrofit został ostatnio zidentyfikowany jako niezwykły fitoremediator Cr [Augustynowicz i in. 2010]. W poniższej pracy pędy *C. cophocarpa*, pozyskane z naturalnego stanowiska rośliny, były inkubowane przez 5 dni w 1 mM (52 mg·l<sup>-1</sup>) roztworach Cr(VI) lub Cr(III), w warunkach semi-naturalnych.*

*Na podstawie zarejestrowanych krzywych indukcji fluorescencji chlorofilu wyliczono parametry przepływu energii w fotosystemie II. Przeprowadzono również wizualizację przestrzennego zróżnicowania potencjalnej, maksymalnej wydajności fotosyntetycznej konwersji energii świetlnej w pędach roślin. Ponadto, określono zawartość chlorofilu i karotenoidów.*

\* *Dr Joanna Augustynowicz, dr Anna Kołton – Katedra Botaniki i Fizjologii Roślin, Wydział Ogrodniczy, Uniwersytet Rolniczy w Krakowie, al. 29 Listopada 54, 31-425 Kraków; e-mail: augustyn@ogr.ur.krakow.pl; koltona@ogr.ur.krakow.pl*

\*\* *Dr Andrzej Waloszek – Zakład Fizjologii i Biochemii Roślin, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, ul. Gronostajowa 7, 30-387 Kraków; e-mail: andrzej.waloszek@uj.edu.pl*

*Stwierdzono korelację między wartościami niektórych parametrów fotosyntezy a specjacją Cr. Rośliny poddane działaniu Cr(VI) wykazywały istotny, w porównaniu z kontrolą, spadek zawartości chlorofilu a, jak również znaczące zmniejszenie wydajności świetlnej fazy fotosyntezy. Na podstawie przeprowadzonych analiz dowiedziono jedynie nieznaczną toksyczność Cr(III) przy zastosowanym stężeniu.*

### **Summary**

*The aim of the present work was the analysis of changes in photosynthetic apparatus of *Callitriche cophocarpa* (water starwort) exposed to high concentration of trivalent or hexavalent Cr. This worldwide-distributed aquatic macrophyte was recently identified as an outstanding Cr phytoremediator [Augustynowicz et al. 2010]. In the study reported here shoots of *C. cophocarpa* collected from the natural stands were incubated in 1 mM (52 mg·l<sup>-1</sup>) Cr(VI) or Cr(III) solutions for five days, in semi-natural conditions.*

*Chlorophyll fluorescence induction curves were recorded following calculations of the parameters of the energy flow in photosystem II. Spatial variation of the potential maximal photosynthetic efficiency of light energy conversion in whole plant shoots was visualized. Additionally, chlorophyll a, b and carotenoid contents were evaluated.*

*Differences in some parameters of photosynthesis were shown to be dependent on the Cr oxidation state. As compared with control, plants influenced by Cr(VI) exhibited significant decline in chlorophyll a content as well as pronounced decrease in photosynthesis quantum efficiency. At applied concentration, according to the presented analysis, only some symptoms of Cr(III) toxicity were shown.*

## **1. WPROWADZENIE**

Chrom (Cr) jest pierwiastkiem należącym do grupy VI B układu okresowego. Jego właściwości fizyczne, w tym ciężar właściwy, przyporządkowują go do tzw. metali ciężkich. Należy jednak podkreślić, że w odniesieniu do roślin, które nie pobierają metali w postaci elementarnej (na zerowym stopniu utlenienia) lecz w postaci rozpuszczonych jonów, określenie „metale ciężkie” wychodzi z użycia [Appenroth 2010]. Chrom jest typowym pierwiastkiem oksyfilnym, posiadającym szereg stopni utlenienia – od 0 do VI – z czego tylko dwa z nich, tj. III oraz VI, są stabilne i powszechne [Kotaś i Stasicka 2000]. Naturalnie występujące minerały chromowe są odporne na erozję, stąd też głównym źródłem chromu w środowisku są zanieczyszczenia antropogeniczne.

Sole chromu przybierają różną barwę. I tak sole Cr(III) mają kolor zielony lub fioletowy, natomiast sole Cr(VI) żółty lub pomarańczowy. W związku z tym wykorzystanie Cr wiąże się, m.in. z przemysłem chemicznym (farby) i włókienniczym (barwniki), a także metalurgicznym (stale chromowe i chromoniklowe) oraz garbarskim [Jacobs i Testa 2004]. Poziomo-

my toksyczności Cr(VI) i Cr(III) są znacząco różne. Cr(III) jest niezbędnym pierwiastkiem śladowym, którego obecność u ssaków jest konieczna w metabolizmie glukozy oraz lipidów [Anderson 1989]. Z drugiej strony Cr(VI), niezwykle łatwo rozpuszczalny, bez trudu przechodzi przez błony biologiczne ujawniając swoje silne własności toksyczne. Ekspozycja ludzi na związki Cr(VI) może powodować nowotwory oskrzeli, z utajonym okresem objawów [Manahan 2010].

Wpływ pierwiastków metalicznych na procesy biochemiczne i fizjologiczne roślin jest szeroko udokumentowany. Prowadzone badania mają na celu poszerzenie wiedzy dotyczącej funkcjonowania organizmu na różnych poziomach jego organizacji. Mogą też mieć znaczenie aplikacyjne związane z odpowiednim doбором materiału roślinnego pod kątem jego optymalnego wykorzystania w remediacji skażeń. W naszej opinii prace dotyczące fizykochemicznych aspektów remediacji pierwiastków metalicznych przez układy biologiczne powinny być jednocześnie osadzone w kontekście metabolizmu żywego organizmu. Uważamy, że jest to warunek konieczny przy opracowywaniu efektywnych strategii bioremediacyjnych.

Przeprowadzone w niniejszej pracy eksperymenty dotyczyły wpływu wysokich stężeń Cr(VI) i Cr(III) na aktywność aparatu fotosyntetycznego wodnej rośliny wyższej *Callitriche cophocarpa*. Gatunek ten został wytypowany do badań ze względu na swój niezwykle wysoki potencjał fitoremediacyjny względem jonów Cr [Augustynowicz i in. 2010]. Doświadczenie prowadzono przez 5 dni, co odpowiadało warunkom, w których wcześniej określono poziom fitoekstrakcji Cr przez badaną roślinę. Ponadto, pozostałe warunki doświadczenia naśladowały warunki naturalne (pH, skład chemiczny wody, natężenie światła), a użyte stężenia oraz postaci jonowe Cr odpowiadały formom występującym w ściekach. Przeprowadzone analizy dotyczyły pomiarów stężenia barwników fotosyntetycznych oraz przez pomiar fluorescencji chlorofilu *a* parametrów przepływu energii przez fotosystem II. Zarówno parametry fluorescencji chlorofilu: ( $F_v/F_m$ ,  $F_v/F_0$ , PI,  $A_m$ , RC/Abs), jak i koncentracje chlorofilu i karotenoidów, są uznawane za znaczące wskaźniki zmian zachodzących w aparacie fotosyntetycznym pod wpływem czynników stresowych [Kalaji i Łoboda 2010; Naumann 2007; Maxwell i Johnson 2000].

## 2. CEL BADAŃ

Celem niniejszej pracy była analiza aktywności aparatu fotosyntetycznego rzęśli długosztykowej. Praca ta jest kontynuacją badań [Augustynowicz i in. 2011] nad opracowaniem schematu dotyczącego doboru odpowiedniej jakości materiału roślinnego pod kątem jego zastosowania w biotechnologii skażonych wód.

### 3. MATERIAŁY I METODY

#### 3.1. Materiał roślinny oraz inkubacja w roztworach Cr(VI) i Cr(III)

Do badań wykorzystano pędy *Callitriche cophocarpa*, pobrane z rzeki Dłubni (Małopolska – 50°16'N/19°56'E). Rośliny po przewiezieniu do laboratorium natychmiast dokładnie, wielokrotnie płukano w wodzie wodociągowej, a na koniec w wodzie destylowanej i delikatnie suszono. 0,75 g pędów o długości około 10 cm umieszczano w roztworze o objętości 75 ml. Medium do inkubacji stanowiły 1 mM ( $52 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ) roztwory soli Cr(VI) ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ; POCh) lub Cr(III) ( $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$ ; POCh). Sole rozpuszczano w filtrowanej (filtry antybakteryjne  $\phi$  0,2  $\mu\text{m}$ , Supelco) wodzie rzecznej, pochodzącej z naturalnego stanowiska rośliny. Analizę składu chemicznego wody oznaczono z wykorzystaniem metod ICP-OES (Perkin Elmer Optima 7300 DV), TOC (analizator całkowitego węgla organicznego TOC typ 1200, Thermo Elektron) oraz miareczkowych. W składzie pierwiastkowym wody wyróżniono, w  $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ : C nieorganiczny ( $\text{HCO}_3^-$ ) 279,33; C organiczny 4,65; N 6,70; P 0,06; S 27,55; K 2,19; Fe 0,11; Mg 5,62; Mn 0,01; Ca 86,41. Zawartość metali ciężkich takich jak Cr, Ni, Pb, Cd i Zn nie przekraczała dopuszczalnych norm, pH wody wynosiło 7,6, przewodnictwo elektryczne 0,65 ( $\text{mS} \cdot \text{cm}^{-1}$ ), a potencjał redoks -33,0 mV. Przed dodaniem soli Cr(III) obniżano pH roztworu do wartości 5,5, aby zapobiec precypitacji Cr(III) zachodzącej spontanicznie w roztworach alkalicznych. Ostatecznie pH roztworów, po dodaniu soli Cr, wynosiło 7,3 lub 4,8, odpowiednio dla Cr(III) i Cr(VI). Warunki świetlne opisano w pracy Augustynowicz i in. [2011].

#### 3.2. Analiza zawartości barwników fotosyntetycznych

Zwartość barwników fotosyntetycznych oznaczono metodą podaną przez Welburn'a [1994], z pewnymi modyfikacjami. Barwniki ekstrahowano z prób o masie 0,25 g przy użyciu 80% acetonu (POCh), z dodatkiem  $\text{CaCO}_3$  oraz czystego piasku (Sigma). Uzyskany ekstrakt wirowano (ROTINA 380R, Hettich Zentrifugen, Niemcy): 4000 g, 15 min, a nadśącz uzupełniano do 15 ml roztworem acetonu (jak wyżej). Zawartość barwników fotosyntetycznych: chlorofilu *a*, chlorofilu *b* oraz sumy karotenoidów, oznaczano jednocześnie na podstawie pomiarów absorbancji ekstraktu przy trzech długościach fal: 470, 646 oraz 663 nm (spektrofotometr UV-Vis, Hitachi U-2900). Końcowy wynik (w mg barwników na 100 g świeżej masy pędów) obliczono na podstawie stosownych równań empirycznych.

#### 3.3. Parametry przepływu energii w świetlnej fazie fotosyntezy

Fluorescencję chlorofilu *a* rejestrowano z wykorzystaniem spektrofluorymetru Handy-PEA (Hansatech) w oparciu o standardową procedurę aparatu. Warunki pomiaru opisano w pracy Augustynowicz i in. [2011]. Na podstawie zarejestrowanych kinetyk indukcji fluorescencji wyli-

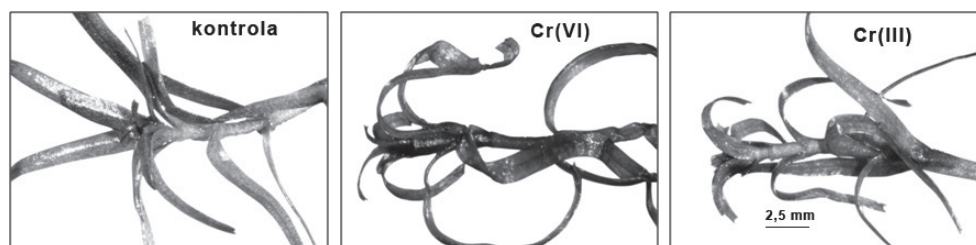
czono następujące parametry: maksymalną efektywność rozszczepienia wody po donorowej stronie fotosystemu II (PS II),  $F_v/F_0$  ( $F_v (=F_0 - F_M)$ ) – fluorescencja zmienna,  $F_0$  – fluorescencja zerowa po adaptacji ciemnościowej,  $F_M$  – fluorescencja maksymalna); maksymalną, potencjalną wydajność kwantową fotosystemu II,  $F_v/F_M$ ; wskaźnik vitalności PSII, PI (ang. *Performance Index*); powierzchnię nad krzywą indukcji fluorescencji chlorofilu a,  $A_M$  (ang. *Area*) oraz względną gęstość centrów reakcji PSII w stosunku do całkowitego chlorofilu, RC/Abs.

Wizualizację przestrzennego rozkładu  $F_v/F_M$  w pędach rośliny rejestrowano przy użyciu systemu do wizualizacji parametrów fotosyntezy, na podstawie fluorescencji chlorofilu (Open FluorCam, Photon System Instruments, Czechy), przy wysycającym świetle czerwonym (600–660 nm,  $1800 \mu\text{mol m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ).

#### 4. WYNIKI

Przedstawione wyniki zostały poddane analizie statystycznej z wykorzystaniem modułu ANOVA oraz NIR-Fishera, przy założonym poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ .

Makroskopowa analiza szczytowych, rozwijających się części pędów *Callitriche* ujawniła zmiany morfologiczne widoczne po 5-dniowej inkubacji roślin w roztworach Cr(III) oraz Cr(VI) (fot. 1).



**Fot. 1.** Makroskopowa struktura szczytowych części pędów *C. cophocarpa* poddanych działaniu chromu na VI i III stopniu utlenienia. Obrazy wykonano z wykorzystaniem lupy binokularnej Nikon SMZ 1500

**Phot. 1.** Macroscopy structure of the apex shoots of *C. cophocarpa* exposed to chromium at VI and III oxidation state. Pictures taken under binocular microscopy Nikon SMZ 1500

Symptomy toksyczności Cr(III) to przede wszystkim skrócenie międzywęźli, zaburzenie wzrostu młodych liści oraz wysoka kruchość tkanek. Pod wpływem Cr(VI) doszło do znacznie poważniejszych nieprawidłowości w rozwoju pędów, co ujawniało się chłorozą, skróceniem międzywęźli, spadkiem turgoru, całkowitym zahamowaniem wzrostu młodych liści oraz charakterystycznym skręceniem liści już wykształconych.

Analiza zawartości barwników fotosyntetycznych pędów poddanych działaniu Cr została przedstawiona w tabeli 1. Z analizy tej wynika, że chlorofil a był najbardziej podatny na

działanie Cr, co więcej jego zawartość była skorelowana ze specjacją tego pierwiastka. Zawartość chlorofilu *a* w próbach poddanych działaniu Cr(VI) zmniejszyła się o ok. 24% w stosunku do kontroli i była istotnie statystycznie mniejsza niż w pędach po inkubacji w roztworze Cr(III), gdzie spadek ten wynosił ok. 13%. Karotenoidy były wrażliwe na obecność Cr w roztworze w mniejszym stopniu niż chlorofil *a*, jak również niezależnie od specjacji pierwiastka. Chlorofil *b* okazał się odporny na działanie Cr.

**Tabela 1.** Zawartość barwników fotosyntetycznych [ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  świeżej masy] oraz stosunek zawartości chl *a* do chl *b*, w pędach *C. cophocarpa* poddanych działaniu chromu na VI i III stopniu utlenienia. Różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie;  $n = 6$

**Table 1.** Content of photosynthetic pigments [ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  fresh weight] and a ratio of chl *a* to chl *b* content in shoots of *C. cophocarpa* exposed to chromium at VI and III oxidation state. Different letters indicate significant statistical differences;  $n = 6$

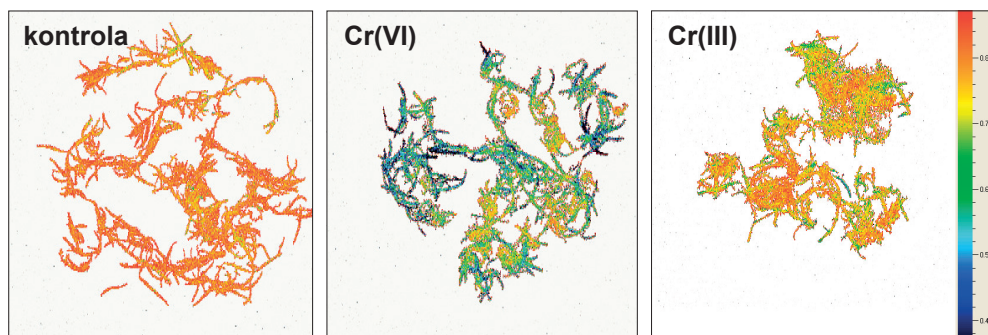
Zawartość barwników fotosyntetycznych				
Rodzaj próby	chl <i>a</i>	chl <i>b</i>	chl <i>a</i> /chl <i>b</i>	karotenoidy
kontrola	0,63 (c)	0,20 (a)	3,21 (b)	0,18 (b)
Cr VI	0,48 (a)	0,17 (a)	2,82 (a)	0,14 (a)
Cr III	0,55 (b)	0,18 (a)	3,03 (ab)	0,15 (a)

Wszystkie parametry fluorescencji chlorofilu *a* zmierzone w liściach rośliny, określające fotochemiczną efektywność fotosystemu II, jednoznacznie wskazują na toksyczny wpływ Cr(VI) na przebieg jasnej fazy fotosyntezy. Wartości wyliczonych współczynników po inkubacji w roztworze Cr(VI) są w każdym wypadku istotnie statystycznie niższe niż wartości kontrolne. W przeciwieństwie do Cr(VI), Cr(III) nie wpłynął ujemnie na żaden z mierzonych parametrów (tab. 2). Przestrzenne obrazowanie aktywności fotosyntetycznej pędów *Callitriche* potwierdza wyniki uzyskane w pomiarach punktowych (rys. 1). Jakkolwiek, w zarejestrowanych obrazach rozkładu parametru  $F_v/F_m$ , widać niewielki, negatywny wpływ Cr(III) na maksymalną potencjalną wydajność kwantową PSII.

**Tabela 2.** Parametry fluorescencji chlorofilu *a*. Różne litery oznaczają różnice istotne statystycznie;  $n = 24$

**Table 2.** Chlorophyll *a* fluorescence parameters. Different letters indicate significant statistical differences;  $n = 24$

Parametry fluorescencji chlorofilu <i>a</i>					
Rodzaj próby	$F_v/F_m$	$F_v/F_0$	PI	$A_m$	RC/Abs
kontrola	0,77 (b)	3,44 (b)	0,66 (b)	12633 (ab)	0,52 (b)
Cr VI	0,55 (a)	1,75 (a)	0,21 (a)	8495 (a)	0,29 (a)
Cr III	0,72 (b)	2,92 (b)	0,64 (b)	15965 (b)	0,49 (b)



**Rys. 1.** Przestrzenny rozkład emisji fluorescencji pędów *Callitriche* poddanych działaniu Cr(VI) i Cr(III). Barwna skala odpowiada wartości parametru  $F_v/F_m$  – od wartości 0,4 oznaczonej kolorem granatowym do wartości 0,9 oznaczonej kolorem czerwonym. Standardowo  $F_v/F_m \cong 0,8$  oznacza rośliny w optymalnej kondycji fizjologicznej

**Fig. 1.** Spatial distribution of fluorescence emission of *Callitriche* shoots exposed to Cr(VI) and Cr(III). The colored scale corresponds to the value of  $F_v/F_m$  – from 0.4 marked deep blue up to 0.9 marked red. The standard value of  $F_v/F_m \cong 0.8$  indicates plants in optimal physiological conditions

## 5. DYSKUSJA WYNIKÓW I WNIOSKI

W literaturze brak konkretnych dowodów dotyczących roli Cr u roślin. Również wyniki badań związanych z transportem i akumulacją Cr nie są jednoznaczne. Na przykład poziomy akumulacji Cr, po inkubacji w roztworze zawierającym jony Cr o danej specjacji, są ściśle związane z gatunkiem rośliny. Zayed i współpracownicy wykazali, że rośliny z rodziny *Brassicaceae* wykazują większe powinowactwo, mierzone ilością zakumulowanego pierwiastka, w stosunku do formy sześciowartościowej aniżeli do formy trójwartościowej [Zayed, Terry 2003]. Z kolei w przypadku *Leersia hexandra*, hiperakumulatora Cr pochodzącego z południowych Chin a także *C. cophocarpa*, poziom akumulacji Cr był większy, jeżeli inkubację prowadzono w roztworze Cr(III) aniżeli jeżeli inkubację prowadzono w roztworze Cr(VI) [Zhang i in. 2007] [w przygotowaniu do druku].

Obserwowane w prezentowanej pracy makroskopowe symptomy toksyczności Cr odpowiadają występującym również u innych gatunków roślin [Panda i Choudhury 2005] i są związane z jego kompleksowym oddziaływaniem na fizjologię badanej rośliny. Chrom wpływa na zaburzenia gospodarki wodnej i mineralnej roślin [Prasad i Strzałka 2002]. Należy jednak podkreślić, że obserwowana toksyczność formy trójwartościowej była znacznie mniejsza aniżeli formy sześciowartościowej, zarówno w odniesieniu do składu, jak i funkcjonowania aparatu fotosyntetycznego. Uzyskane wyniki można wiązać z odrębnymi właściwościami fizykochemicznymi oraz innymi mechanizmami transportu i akumulacji chromu

trój- i sześciowartościowego przez rośliny. Wydaje się, że Cr(VI) jako znacznie bardziej biodostępny oraz reaktywny niż Cr(III) może uszkadzać aparat fotosyntetyczny bezpośrednio dostając się do wnętrza komórek, np. przy udziale nośników anionów – fosforanów i siarczanów [Shanker i in. 2005; Chandra i Kulshreshtha 2004]. Problemy, z jakimi boryka się komórka roślinna po inkubacji z Cr, wynikają w dużej mierze z jego własności oksydoredukcyjnych. W szczególności, wysoki potencjał redox Cr(VI), oznaczający, że jest on silnym utleniaczem, prowadzi do bezpośredniego lub pośredniego powstawania reaktywnych form tlenu (ROS; Reactive Oxygen Species). Obecność  $H_2O_2$ ,  $OH^\cdot$ ,  $O_2^\cdot$ , po ekspozycji na Cr(VI) została stwierdzona u wielu roślin. Aktywność ROS skutkuje przede wszystkim peroksydacją lipidów, a także dysfunkcjami dotyczącymi kwasów nukleinowych oraz białek [Panda i Choudhury 2005].

W przeprowadzonych przez nas badaniach fotosyntetyczny transport elektronów był bardzo silnie zaburzany przez Cr(VI), znacznie słabiej natomiast przez Cr(III). Sądząc po wyliczonych parametrach przepływu energii przez PSII, działanie Cr(VI) wpływało bezpośrednio na aktywność centrum reakcji tego fotosystemu (znaczące zmiany we wszystkich mierzonych parametrach, w tym zmniejszenie  $A_M$ ). Natomiast działanie Cr(III) powodowało mało wyraźne zmiany w funkcjonowaniu strony akceptorowej centrum reakcji, prawdopodobnie układu rozszczepiającego wodę (ang. OEC; Oxygen Evolving Complex) – zmniejszenie  $F_v/F_0$  przy wyraźnym zwiększeniu  $A_M$ . Bezpośrednie oddziaływanie Cr(VI) na aparat fotosyntetyczny przez wywołanie stresu oksydacyjnego, fotodestrukcji centrum reakcji PSII i peroksydacji lipidów obserwowali np. Höröcsik i wsp. [2007]. Cr(VI) zaburza aktywność fotosyntetyczną PSII m.in. przez oddziaływanie z systemem membran komórkowych, układem rozszczepiającym wodę i białkiem D1 (fotoinhibicja PS II) oraz w mniejszym stopniu z systemami zbierającymi światło (LHC; Light Harvesting Complex) [Ait Ali i in. 2006; Appenroth i in. 2003]. Spadek zawartości barwników fotosyntetycznych – obserwowany pod wpływem Cr(VI) również w innych roślinach [np. Vernay i in. 2007] – może być następstwem fotodestrukcji związanej z fotoinhibicją PSII i dezorganizacją transferu energii [por. z Ruban i in. 2007]. Przyczyną spadku zawartości chlorofili może być ponadto również zahamowanie aktywności enzymów zaangażowanych w ich biosyntezę, zawierających w swej budowie cysteinę, np. dehydratazy kwasu  $\delta$ -aminolewulinowego [Panda i Choudhury 2005].

Uzyskane wyniki potwierdzają znacznie większą toksyczność chromu w postaci sześciowartościowej aniżeli w postaci trójwartościowej [Panda i Choudhury 2005]. Zwraca jednak uwagę bardzo duża odporność aparatu fotosyntetycznego *Callitriche* na stres wywołany obecnością Cr(III), który był stosowany w ekstremalnie wysokich, niefizjologicznych stężeniach. Średnia zawartość Cr w rzekach wynosi ok.  $0,7 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  [Kabata-Pendias i Mukherjee 2007], natomiast stężenia zastosowane w tej pracy, wynoszące  $52 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ , odpowiadały występującym w wodach popłucznych i ściekach. Cr(III) jest trudniej transportowany przez rośliny niż Cr(VI) i łatwo ulega sorpcji na powierzchni ścian komórko-



wych, np. przez oddziaływanie z ujemnie naładowanymi grupami funkcyjnymi [Mohan i Pittman 2006, Kotaś i Stasicka 2000]. Stąd też ściany komórkowe rośliny mogą stanowić barierę zabezpieczającą aparat fotosyntetyczny przed toksycznym wpływem tej formy metalu.

Jak wykazano we wcześniejszych badaniach, w warunkach zastosowanych w niniejszej pracy *C. cophocarpa* akumulowała ok. 20 000 mg·kg<sup>-1</sup> s.m., przy jednoczesnym usuwaniu jonów Cr(III) z roztworu o stężeniu dochodzącym do 80% (dane przedstawione do druku). Biorąc pod uwagę wyniki uzyskane w tej pracy, wskazujące na bardzo wysoką odporność aparatu fotosyntetycznego *C. cophocarpa* na działanie jonów Cr(III), wykorzystanie tego gatunku do fitoremediacji wód skażonych wysokimi stężeniami związków Cr(III) ma poważne uzasadnienie.

***Dziękujemy Pani Magdalenie Piotrowskiej za pomoc techniczną w trakcie wykonywania analiz. Wyrażamy również wdzięczność Pani Barbarze Augustynowicz za pomoc przy opracowywaniu zdjęć oraz Panu dr Michałowi Pniakowi za użyczenie lupy.***

## PIŚMIENICTWO

- AIT ALI N., DAWEZ D., DIDUR O., POPOVIC R. 2006. Inhibition of photosystem II photochemistry by Cr is caused by the alteration of both D1 protein and oxygen evolving complex. *Photosynth. Res.* 89: 81–87.
- ANDERSON R.A. 1989. Essentiality of chromium in humans. *Sci. Tot. Environ.* 86: 75–81.
- APPENROTH K.J. 2010. What are “heavy metals” in Plant Sciences? *Acta Physiol. Plant* 32: 615–619.
- APPENROTH K.J., KERESZTES A., SAVARI E., JAGLARZ A., FISCHER W. 2003. Multiple effect of chromate on *Spirodela polyrhiza*: Electron microscopy and biochemical investigations. *Plant Biol.* 5: 315–323.
- AUGUSTYNOWICZ J., GROSICKI M., HANUS-FAJERSKA E., LEKKA M., WALOSZEK A., KOŁOCZEK H. 2010. Chromium(VI) bioremediation by aquatic macrophyte *Callitriche cophocarpa* Sendtn. *Chemosphere* 79: 1077–1083.
- AUGUSTYNOWICZ J., KOŁTON A., BARAN A., ŚWIDERSKI A. 2011. Bioremediacja metali w kontekście stanu fizjologicznego roślin. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych* 49: 61–70.
- CHANDRA P., KULSHRESHTHA J. 2004. Chromium accumulation and toxicity in aquatic vascular plants. *The Botanical Review* 70: 313–327.
- HÖRCSIK Z.T., KOVÁCS L., LÁPOSI R., MÉSZÁROS I., LAKATOS G., GARAB G. 2007. Effect of chromium on photosystem 2 in the unicellular green alga, *Chlorella pyrenoidosa*. *Photosynthetica* 45: 65–69.

- JACOBS J., TESTA S.M. 2004. Overview of Chromium(VI) in the Environment: Background and History. W: GUERTIN J., JACOBS J.A., AVAKIAN C.P. (Ed.), Chromium(VI) Handbook. CRC Press: 1–22.
- KABATA-PENDIAS A., MUKHERJEE A.B. 2007. Trace Elements from Soil to Human. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- KALAJI M.H., ŁOBODA T. 2010. Fluorescencja chlorofilu w badaniach stanu fizjologicznego roślin. Wydawnictwo SGGW, Warszawa.
- KOTAŚ J., STASICKA Z. 2000. Chromium occurrence in the environment and methods of its speciation. Environ. Poll. 107: 263–283.
- MANAHAN S.E. 2010. Toksykologia Środowiska. Aspekty chemiczne i biochemiczne. Wydawnictwo naukowe PWN, Warszawa.
- MAXWELL K., JOHNSON G.N. 2000: Chlorophyll fluorescence – a practical guide. Journal Exp. Bot. 51: 659–668.
- MOHAN D., PITTMAN Jr., CH.U. 2006. Activated carbon and low cost adsorbents for remediation of tri- and hexavalent chromium form water. J. Hazard. Mater. 137: 762–811.
- NAUMANN B., EBERIUS M., APPENROTH K.J. 2007. Growth rate bases dose-response relationships and EC-values of ten heavy metals using the duckweed growth inhibition test (ISO 20079) with *Lemna minor* L. clone St. J. Plant Physiol. 164: 1656–1664.
- PANDA S.K., CHOUDHURY S. 2005. Chromium stress in plants. Braz. Journal Plant Physiol. 17: 95–102.
- PRASAD M.N.V., STRZAŁKA K. 2002. Physiology and Biochemistry of Metal Toxicity and Tolerance in Plants. Kluwer Academic Publishers, London.
- RUBAN A.V., BERERA R., ILIOAIA C., VAN STOKKUM I.H.M., KENNIS J.T.M., PASCAL A.A., VAN AMERONGEN H., ROBERT B., HROTON P., VAN GRONDELLE R. 2007. Identification of a mechanism of photoprotective energy dissipation in higher plants. Nature 450: 575–578.
- SHANKER A.K., CERVANTES C., LOZA-TAVERA H., AVUDAINAYAGAM S. 2005. Chromium toxicity in plants. Environ. Int. 31: 739– 753.
- VERNAY P., GAUTHIER-MOUSSARD C., HITMI A. 2007. Interaction of bioaccumulation of heavy metal chromium with water relation, mineral nutrition and photosynthesis in developed leaves of *Lolium perenne* L. Chemosphere 68: 1563–1575.
- WELLBURN A.R. 2004. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. Journal Plant Physiol. 144: 301–313.
- ZAYED A.M., TERRY N. 2003. Chromium in the environment: factors affecting biological remediation. Plant and Soil 249: 139–156.
- ZHANG X.-H., LIU J., HUANG H.-T., CHEN J., ZHU Y.-N., WANG D.-Q. 2007. Chromium accumulation by the hyperaccumulator plant *Leersia hexandra* Swartz. Chemosphere 67: 1138–1143.