



Az ózon szövettani és fiziológiai hatásának vizsgálata
bioindikátor növényfajokon

Doktori értekezés

VILLÁNYI VANDA

Gödöllő

2015

A doktori iskola

Megnevezése: Szent István Egyetem, Biológia Tudományi Doktori Iskola

Tudományága: Biológia

Vezetője: Dr. Nagy Zoltán
Egyetemi tanár, DSc
Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Növénytani és Ökofiziológiai Intézet

Témavezető: Dr. Csintalan Zsolt
Egyetemi docens, PhD
Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Növénytani és Ökofiziológiai Intézet

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

TARTALOMJEGYZÉK

1.	BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK.....	5
1.1	A téma aktualitása és jelentősége	5
1.2	Célkitűzések	6
2.	IRODALMI ÁTTEKINTÉS	7
2.1	Az ózon az növények környezetében	7
2.1.1	A troposzférikus ózon kialakulása, az ózonkoncentráció tér- és időbeli változásai	7
2.1.2	A biogén ózonképződés.....	10
2.1.3	Az ózonszennyezés jelentősége, modellezése, összefüggései egyéb környezeti változókkal .	11
2.2	Az ózon hatásai a növényi szervezetre	15
2.2.1	Fitotoxikus jelleg	15
2.2.2	Az ózon hatása a fotoszintetikus folyamatokra	16
2.2.3	A sztómaműködésre gyakorolt hatások	18
2.2.4	A növények szövettani és morfológiai sajátosságaira gyakorolt hatások	19
2.3	Az ózon és az emelt légköri szén-dioxid együttes hatásai.....	21
2.4	Az ózon hatásainak vizsgálati módszerei	24
2.4.1	Bioindikációs és biomonitoring-kísérletek	25
3.	ANYAG ÉS MÓDSZER	29
3.1	Kísérleti helyszínek	29
3.2	Tesztnövények.....	30
3.3	Meteorológiai adatok.....	30
3.4	Szövettani vizsgálatok	31
3.4.1	Epidermisz lenyomatok	32
3.4.2	Keresztmetszet.....	33
3.5	OTC kísérlet	34
3.6	Esettanulmány egy európai biomonitoring program Ljubljánában kihelyezett kísérleti növényein ..	36
3.7	Statisztika	37
4.	EREDMÉNYEK.....	39
4.1	Ózonszenzitív és -rezisztens növényi genotípusok szövettani összehasonlítása	39
4.1.1	Meteorológiai jellemzők a kísérleti időszakban	39
4.1.2	A <i>Phaseolus vulgaris</i> két genotípusára jellemző szövettani tulajdonságok	40
4.1.3	A <i>Trifolium repens</i> két genotípusára jellemző szövettani tulajdonságok	46
4.2	Az emelt légköri szén-dioxid és a légköri ózonerhelés együttes hatásainak vizsgálata	49
4.2.1	Látható tünetek	49
4.2.2	Vegetatív és generatív fejlődés.....	51
4.2.3	Élettani jellemzők	54

4.2.4	Korrelációanalízis.....	56
4.3	Esettanulmány egy európai biomonitoring program Ljubljanában kihelyezett kísérleti növényein ..	60
5.	EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA.....	67
5.1	A vizsgált növényi genotípusok szövettani hasonlóságai és eltérései.....	67
5.1.1	A <i>Phaseolus vulgaris</i> két genotípusának összehasonlítása.....	67
5.1.2	A <i>Trifolium repens</i> két genotípusának összehasonlítása	72
5.1.3	A két vizsgált bioindikátor faj szövettani paramétereinek összehasonlítása	74
5.2	Az OTC kísérlet eredményeinek értékelése	78
5.2.1	Látható tünetek	78
5.2.2	Vegetatív és generatív fejlődés.....	79
5.2.3	Élettani jellemzők.....	82
5.3	Fluoreszcencia-indukció paraméterek napi menete a <i>Phaseolus vulgaris</i> két genotípusán	91
5.4	Új tudományos eredmények.....	95
6.	KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK.....	97
7.	ÖSSZEFOGLALÁS	99
7.	SUMMARY.....	101
8.	MELLÉKLETEK	103
8.1	Irodalomjegyzék.....	103
8.2	Ábrák.....	120
8.3	Táblázatok.....	123
9.	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	131

JELÖLÉSEK, RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

A	– nettó szén-dioxid asszimiláció
AOT40	– az órás átlagos ózonkoncentrációk 40 ppb feletti kumulatív összege
C _i	– belső szén-dioxid koncentráció
DAH	– az utolsó betakarítás és a mérés között eltelt napok száma fehér herénél
DAS	– a magvetés és a mérés között eltelt napok száma bokorbabnál
E	–transzspiráció
FACE	– szabadföldi nyitott szén-dioxid-koncentráció növelő rendszer
F _{ias}	– az intercelluláris járatok levélen belüli aránya
F _m	– sötétadaptált minták maximális fluoreszcencia-hozama
F _m '	– fényadaptált minták maximális fluoreszcencia-hozama
F _o	– sötétadaptált minták minimális fluoreszcencia-hozama
F _v /F _m	– maximális fotokémiai hatékonyság
G _{ias}	– az intercellulárisok gázkonduktanciája
g _M	– a mezofillum konduktanciája
GR	– a sejt expanzív növekedése
g _s	– sztómakonduktancia
HR	– hiperszenzitív reakció
HR-like	– a hiperszenzitív reakcióhoz hasonló tünetegyüttes
ICP-Vegetation	– a légszennyezés hatásait vizsgáló Nemzetközi Együttműködési Program
m	– a sejtfa nyújthatósága
NC-R	– a <i>Trifolium repens</i> faj rezisztens genotípusa
NC-S	– a <i>Trifolium repens</i> faj szenzitív genotípusa
NPQ	– nemfotokémiai kioltás
OTC	– Nyitott Tetejű Kamra
PII	– a látható tünetek mértékének mérőszáma
PPFD	– fotoszintetikus fotonáram-sűrűség
PSII	– második fotokémiai rendszer
Q _A	– a PSII fehérjekomplex elsődleges kinon-akceptora
q _E	– energiafüggő fluoreszcencia-kioltás
q _{Fo}	– a minimális fluoreszcencia nemfotokémiai kioltása
q _P	– fotokémiai kioltás
q _T	– állapotátmenettel járó fluoreszcencia-kioltás
R123	– a <i>Phaseolus vulgaris</i> faj rezisztens genotípusa
RFd	– potenciális fotoszintetikus kvantum-konverzió
ROS	– reaktív oxigénfajták
Rubisco	– Ribulóz -1,5-biszfoszfát karboxiláz/oxigenáz enzim
S/R	– valamely paraméternek a szenzitív és rezisztens genotípuson mért aránya
S156	– a <i>Phaseolus vulgaris</i> faj szenzitív genotípusa
VOC	– illékony szerves vegyület
Y	– a sejtfa megnyúlásához szükséges minimális nyomásérték
Ψ _p	– nyomáspotenciál
Φ _{CO2}	– a fotoszintézis karboxilációs hatékonysága
Φ _{PSII}	– a PSII kvantumhozama

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

1.1 *A téma aktualitása és jelentősége*

Az ózon a sztratoszférában nélkülözhetetlen szerepet játszik, mivel a rövid hullámhosszúságú és nagyenergiájú UV-B sugárzást kiszűri, megakadályozva ezzel, hogy a Föld felszínére érkeve ez az élő szervezetekre káros sugárzás kifejtsen romboló hatását. Ezeknek a fénysugaraknak a kiszűrése az O₃-mal való fotokémiai reakció során történik meg. A rövid hullámhosszú fénysugarak egy része azonban lejut a troposzférába, ahol szén-monoxidból, nitrogén-oxidokból és illékony szerves vegyületekből fotokémiai reakciók során fotooxidánsok, vagyis ózon, valamint az igen mérgező peroxi-acetil-nitrát, salétromsav és aldehidek keletkezését is indukálja. A légkör fotooxidánsok keletkezésének túlsúlyát eredményező állapotát, kémiai összetételét nevezzük „Los Angeles-i szmog”-nak, „summer-smog”-nak, vagy fotokémiai szmognak. A troposzférában megjelenő ózon nagyon erős oxidálószer, emiatt káros hatással van a Föld élővilágára, és a természetett növényfajok termésmennyiségét jelentősen csökkenti, ami minden érintett országban (legfőképpen a mediterrán országokban) hatalmas anyagi károkat jelent. Ezen kívül a globális felmelegedést előidéző üvegház hatású gázok egyikeként is kifejti káros hatását. Az üvegházhatást közvetetten is erősíti, mivel csökkenti a növények szárazanyag-termelését, és ez által a megkötött CO₂ mennyiségét.

A sztratoszféra ózonkoncentrációja mintegy négyszer magasabb, mint a troposzféra ózonkoncentrációja, de ez az érték folyamatosan csökken az antropogén eredetű, és az ózon bomlását okozó vegyületek sztratoszférában való megjelenése miatt. A troposzférikus ózon mennyisége ezzel szemben az elmúlt évtizedek során folyamatosan nőtt, és – a nemzetközi erőfeszítések, valamint az egyre szigorúbb szabályozások ellenére – még ma is növekvő tendenciát mutat. A háttérterhelés az iparosodás kezdete óta megduplázódott, de a legnagyobb kárt a növényzetben a gyakran előforduló úgynevezett „ózonepizódok” teszik, amikor az ózonkoncentráció egy adott területen napokon át 50-60 ppb felett marad. A toxikus mennyiségű ózon jelenlétét először az 1950-es években írták le Los Angelesben, ahol a mostani határérték tízszeresét is meghaladta. Az 1970-es évektől a maximális ózonkoncentráció értékek az akkorinak a harmadára csökkentek, de még mindig nagyon magas, 200 ppb körüli maximális értékek mérhetők.

Mindezek miatt a fitotoxikus ózonterhelés jelenlétének jelzése és mennyiségének meghatározása, valamint szövettani és fiziológiai hatásának vizsgálata mind gazdasági, mind környezetvédelmi szempontból rendkívül fontos feladat. Az ózon hatásainak vizsgálata önmagában, szabályozott körülmények között természetesen sem társulás, sem egyed szintű tanulmányok során nem fog teljesen objektív képet adni. A klímaváltozás, az emelkedő hőmérséklet és CO₂-szint, az UV sugárzás, a fokozódó szárazság egymással kölcsönhatásban és együttesen fogják meghatározni a

növények fiziológiai állapotát és az egyes növényi genotípusok versenyképességét. Ezek megismeréséhez az egy adott helyszín klimatikus viszonyai között, természetes környezetben történő, hosszú távú kísérletekre van szükség. Ilyen vizsgálatok teszik lehetővé a jövőbeli klimatikus adottságok mellett kialakuló bioszféra-kép, a légkör-kémiai és evolúciós események előrejelzését.

1.2 Célkitűzések

A két ózon bioindikátor faj szenzitív és rezisztens genotípusain elvégzett kísérletsorozatokkal az alábbi kérdésekre kerestünk választ:

1. Van-e valamilyen, az eltérő ózonérzékenységgel, vagy az eltérő fiziológiai működéssel összefüggésbe hozható szövettani különbség a szenzitív és rezisztens genotípusok között? (5.1 fejezet)

2. Mi állhat a szenzitív genotípusok fokozott stresszérzékenységének és alacsonyabb teljesítményének hátterében? (5.1 és 5.3 fejezet)

3. Az emelt légköri szén-dioxid szint hogyan befolyásolja az ózonválaszt szenzitív és rezisztens genotípusokban? (5.2 fejezet)

4. Eltér-e a *Phaseolus vulgaris* S156 (szenzitív) és R123 (rezisztens) genotípusainak fotoszintetikus hatékonysága? Ha igen, ez milyen folyamatoknak köszönhető, és vajon ez az eltérés oka-e, vagy következménye az eltérő ózonérzékenységnek? (5.2 és 5.3 fejezet)

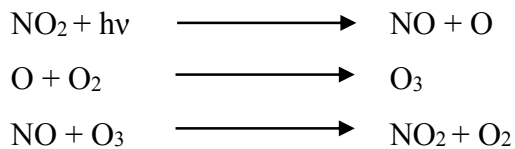
5. Melyek az ózon bioindikátor fajokon mérhető, a bioindikáció szempontjából leghatékonyabb paraméterek? (5.4 fejezet)

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

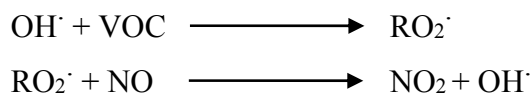
2.1 Az ózon az növények környezetében

2.1.1 A troposzférikus ózon kialakulása, az ózonkoncentráció tér- és időbeli változásai

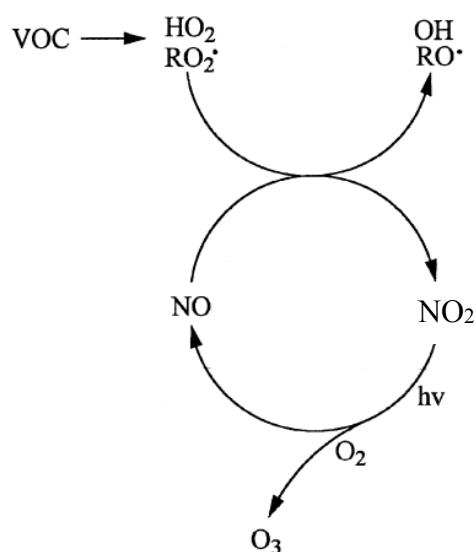
A háromatomos oxigén egy rendkívül reaktív molekula. Természetes körülmények között a sztratoszférában keletkezik, de a fotokémiai szmog láncreakciói során a troposzférában is kialakulhat. A fotokémiai szmog az erősen szennyezett levegőjű városi és ipari területekről származó légtömegekben, napsugárzás jelenlétében jön létre, ilyen körülmények között keletkezik a troposzférikus ózon, nitrogén-oxidokból ultraibolya-sugárzás hatására lehasadó szinglet oxigénnek az oxigénmolekulákkal való reakciója során. Ez a reakció gyors és reverzibilis, így az ózonmolekulák képződése és bomlása egy egyensúlyt mutat, melyet [STAEHELIN et al. \(2000\)](#) fotostacionárius állapotként nevezett meg. Ennek a körfolyamatnak az összegzett egyenlete:



Ehhez a gyökös láncreakcióhoz a troposzféra gázfázisú kémiai folyamataiban egy másik, sokkal bonyolultabb gyökös láncreakció is kapcsolódik, melyet (rendkívül leegyszerűsítve) a következő képpen összegezhethetünk (bővebben lásd: [STAEHELIN et al. 2000](#)):



A két kapcsolódó körfolyamatot az alábbi, szintén leegyszerűsített egyenlettel vázoljuk ([ATKINSON 2000](#)):



A fotostacionárius állapot nem vezet nettó ózonképződéshez. Viszont, ha a légkörben szénhidrogének vagy illékony szerves vegyületek is jelen vannak, ezek felborítják ezt az egyensúlyt, megakadályozva az ózon oxigénmolekulákká történő visszaalakulását. A fotooxidáció szempontjából jelentős illékony szerves vegyületek lehetnek növényi eredetűek, ilyenek az izoprének és a terpének. A humán eredetű VOC-k az üzemanyagok (pl. gázolaj) és azok melléktermékei, valamint a különböző tisztítószerekből és festékekből származó anyagok; például az etil-acetát és az aceton, az alifás szénhidrogének, a glikol-éterek, a metilén-klorid, a tetraklór-etilén, vagy a metil-tert-butil-éter. Vannak humán (pl. kipufogógázok, olajafinomítás) és természetes forrásból (pl. vulkánkitörések és erdőtüzek nyomán, vagy a földgázból) egyaránt származtatható VOC-k, ilyenek a benzol és az etán. A metán és a klórfluorokarbonok kevésbé jelentősek a troposzféra fotooxidációs folyamataiban (STAEHELIN et al. 2000).

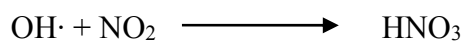
Így az ózon mennyisége információt ad a fotokémiai szmog jellegéről és összetevőiről is. Az ózon keletkezésének mértéke a nitrogén-oxidok és az illékony szerves vegyületek, valamint a szén-monoxid koncentrációinak arányától függ. Ezért sok esetben az ózon mennyisége a legszennyezettebb területektől – például a városoktól, ahol a nitrogén-oxidok vannak túlsúlyban – csak nagy távolságban fog megemelkedni. A mintegy 65%-ban biogén eredetű illékony szerves vegyületek nagymértékű jelenléte bizonyos területeken emelkedést okoz a troposzférikus ózon mennyiségében. Ha pedig a nitrogén-oxidok mennyisége 10 ppb alá csökken, akkor az ózon bomlása dominál. Mint maga az ózon, az ózon perkurzorai is forrásuktól több száz kilométert vándorolhatnak a mozgó légtömegekkel. Az ózon kialakulása gyakran csak ennek a vándorlásnak a folyamán történik meg. Mivel a városoktól távol az ózon bomlását elősegítő nitrogén-oxidból kevés van a levegőben, az ózon mennyisége a városi levegőben általában relatíve alacsony, míg a városoktól távolodva ez a mennyiség fokozatosan növekszik. Így a városokból származó szennyezés tulajdonképpen a városoktól távoli területen fejlődő természetes és termesztett vegetációt veszélyezteti (LORENZINI és SAITANIS 2003).

Az ózon kialakulásában szerepet játszó vegyületek: a nitrogén-oxidok (NO_x), az illékony szerves vegyületek (VOC), és a szén-monoxid biogén vagy antropogén eredetűek lehetnek.

Tipikus folyamatok az ózon-perkurzorokkal terhelt légtömegben (STAEHELIN et al. 2000):

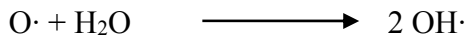
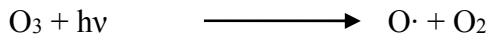
1. Egyensúlyi állapot: a keletkező ózon nitrogén-oxiddal reagálva azonnal lebomlik.

2. VOC-limitáció: Városi környezetben a NO₂-koncentráció általában elég magas ahhoz, hogy a légkörben jelenlévő hidroxilgyökök reakciói a salétromsav keletkezése irányába tolódjanak el, így csak kis mennyiségű ózon keletkezik:

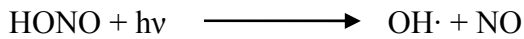


Ilyen körülmények között az ózon koncentrációja a VOC koncentrációval együtt növekszik (lásd: 1B ábra: a D és E pontok között a VOC koncentráció kismértékű változása az ózonkoncentráció

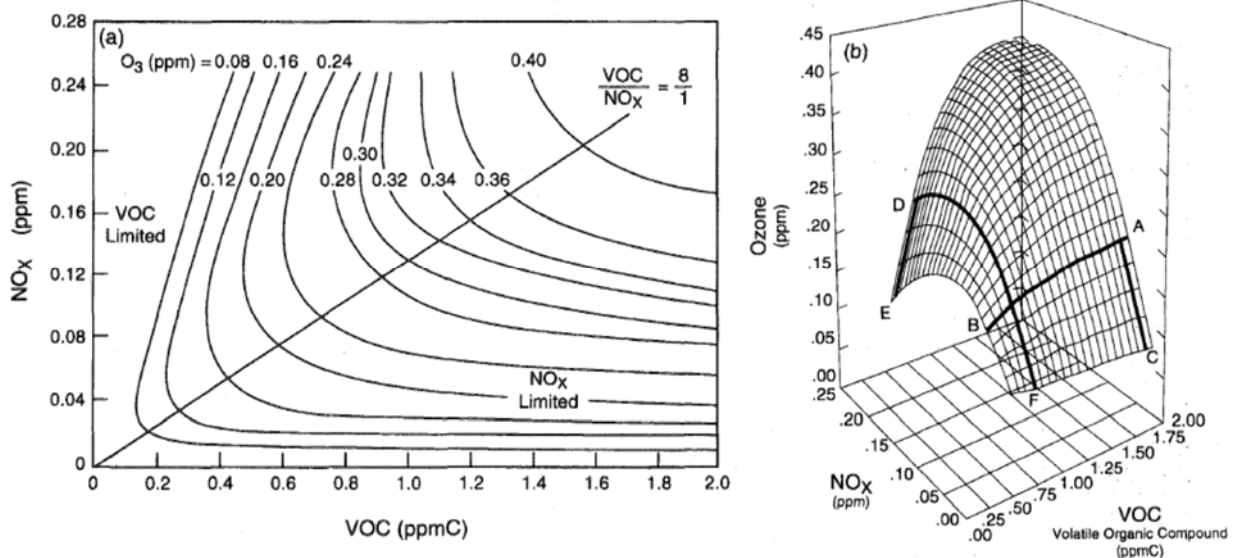
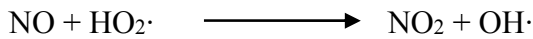
jelentős mértékű változását vonja maga után). Az ebben a folyamatban szerepet játszó hidroxilgyökök keletkezése a következő reakciókban történik:



valamint:



és:



1. ábra: Az ózonkoncentrációk csúcserkéinek alakulása a légkör kezdeti NO_x és VOC koncentrációinak függvényében, két (a) és háromdimenziós (b) ábrán. Az a) ábra az EKMA modellt mutatja be (DODGE 1977). Részletes magyarázat a forrásműben (FINLAYSON-PITTS és PITTS 1993).

3. Átmeneti állapot: maximális ózonképződés. Ha az NO_x (=NO+NO₂) koncentráció tartósan csökkenni kezd, a VOC (pontosabban az ózon képződését elősegítő szénhidrogének) és az NO_x molekulák koncentrációjának aránya elér egy pontot, ahol az előbbiek mennyisége alapján az ózonképződés a maximumra jut.

4. NO_x-limitáció: amikor az NO_x koncentráció tovább csökken, az ózonképződést az adott légtömegben megtalálható NO_x mennyisége limitálja. Ez az állapot főként vidéki környezetben fordul elő (lásd: 1B ábra az A és C pontok között az NO_x koncentráció kismértékű változása az ózonkoncentráció jelentős mértékű változását vonja maga után).

5. Az ózon bomlása. Nagyon tiszta levegőben fordul elő (NO_x <10 ppt).

Mindezek alapján három alapvető okra vezethető vissza, hogy a troposzféra ózonerhelése a városoktól távol eső területeken magasabb, mint a városok levegőjében (GREGG et al. 2003):

- Az ózon nem közvetlen kibocsátással kerül a légkörbe, ezért jelentős részben prekursorainak forrásától távol alakul csak ki, mivel kialakulását megelőzheti a prekursor vegyületek több száz kilométer távolságra történő transzportja a mozgó légtömegekkel.

- A városok szennyezett levegőjében a nagy mennyiségben jelenlévő nitrogén-oxidok a hidroxilgyökök reakcióit a salétromsav képződésének irányába tolják el, ami miatt ilyen körülmények között alacsony az ózonkoncentráció.

- Vidéki környezetben a biogén eredetű illékony szerves komponensek (szénhidrogének vagy egyéb, kis mennyiségben jelen lévő gázok) hozzájárulnak az ózon keletkezéséhez.

A háttérszennyezés (vagyis az egy adott területen az antropogén hatásoktól függetlenül is mindenképpen jelenlévő szennyezés) forrásai lehetnek:

- A sztratoszférából történő lefelé irányuló transzport.

- Ózon keletkezhet lúpvidékek felett is a metán és nitrogén-oxidok reakciójából. A nitrogén-oxidok ebben az esetben villámlások nyomán, vagy a talajban alakulnak ki, de transzportálódhatnak a sztratoszférából is.

- Az ózon transzportálódhat nagy távolságokból érkező, ózont, vagy az ózon kialakulását előidéző vegyületeket tartalmazó szennyezett légtömegekkel.

Az ózonterhelés napi maximumát dél körül éri el, éves szinten északon májusban, a mediterrán területeken június és augusztus között tetőzik (PAOLETTI 2006). Nagy tengerszint feletti magasságban az ózon mennyisége több, mivel itt mind a szennyezett légtömegek cirkulációja, mind a sztratoszférából származó transzport jelentősebb mértékű, mint az alacsonyabban fekvő területeken (PAOLETTI 2007).

Bár a maximális ózonkoncentráció-értékek a környezetvédelmi rendelkezéseknek köszönhetően ma már csökkennek (MIDGLEY et al. 2002), az állandósult háttérértékek még mindig növekedő tendenciát mutatnak (GRENNFELT 2004). Az északi félgömbön a troposzférikus ózon mennyisége éves átlagban 20 és 45 ppb között van, de a háttérértékek évi 0,5-2%-kal nőnek (VINGARZAN 2004).

2.1.2 A biogén ózonképződés

Az izoprének és monoterpének kibocsátása becslések alapján Portugália eukaliptuszerdeiben a vegetációs periódusban eléri, sőt, egyes helyeken meghaladja az antropogén VOC-kibocsátást (NUNES és PIO 2001). Városoktól távol eső területeken, ahol a biogén szénhidrogének kibocsátása magas, az ózonképződés szempontjából a légkörben jelenlévő nitrogén-oxidok mennyisége meghatározó. Nagyon alacsony NO_x koncentrációk mellett peroxidok, karbonil gyökök és karboxilsavak képződnek, míg, ha azt az NO_x mennyisége nem limitálja, az ózon és a szerves savak keletkezése dominál. Egy, a portugáliai tengerparton, Tábuában történt mérésorozat eredményei 1

ppb NO_x lebomlásával párhuzamosan 16 ppb ózon keletkezését igazolták az adott légköri viszonyok között (HARDER et al. 2001). Egy modellezési tanulmány alapján szintén tengerparti, várostól távoli vidéken az összes VOC-ből a biogén eredetű VOC-k a troposzférikus ózonképződés csúcserősségeinek emelkedéséhez mindössze 10%-kal járultak hozzá (THUNIS és CUVELIER 2000).

2.1.3 Az ózonszennyezés jelentősége, modellezése, összefüggései egyéb környezeti változókkal

Az ózonszennyezés jelentőségét és negatív hatásait már több tanulmányban bebizonyították (HAYES et al. 2007a, HOLLAND et al. 2006, SANDERMANN et al. 1998): az troposzférikus ózon szintje egész Európában meghaladja az Európai Tanács által meghatározott fitotoxikus mennyiséget, és évente további 5-20%-kal növekszik (SANDERMANN et al. 1998). A troposzférikus ózon nem csupán a fotokémiai szmog egyik legfontosabb összetevője, hanem mint üvegházhatású gáz is szerepet játszik a klímaváltozásban. Mivel a termésmennyiséget és a termés minőségét is befolyásolja, a mezőgazdasági termelésben súlyos anyagi károkat okoz (FREI et al. 2010, HAYES et al. 2007b).

Az ózon csökkenti a nettó szárazanyag termelést, és befolyásolja a növényi gázcserét, így csökkenti a különböző termőterületek szervesanyag-ellátottságát, míg növeli ezeknek a mesterséges ökoszisztémáknak a CO₂-kibocsátását. Az ózon számos természetes növényi közösségre is káros hatással van (MILLS et al. 2007). Ezekben a közösségekben a fajösszetételt megváltoztathatja (FAGNANO és MAGGIO 2008), csökkentve a gyengébb kompetitor fajok esélyeit a fennmaradásra (MCDONALD et al. 2002).

Sok tanulmány bizonyítja az erdős társulások veszélyeztetettségét (BAUMGARTEN et al. 2009, PAOLETTI 2007, PAOLETTI et al. 2007a). Az erdei ökoszisztémákban történő megfigyelések biomassza-veszteséget és a szénháztartás egyensúlyának felborulását jelzik, ennek alapján az erdők szénelnyelő potenciálja kimutathatóan csökkent az ózonszennyezés következtében, és ez a csökkenés a jövőben egyre nagyobb mértékű lesz (WITTIG et al. 2009). Egy erdős területeken folytatott monitoring kísérlet során (LORENZ et al. 2005) 67 kísérleti helyszín 55%-án figyeltek meg látható ózontüneteket a fákon. Az ózon közvetlen hatásai az erdők biomassza-termelését várhatóan 1-10%-kal fogják csökkenteni (CHAPPELKA és SAMUELSON 1998). Egy hosszú távú kísérletben az AOT40 értékek (az ózonkoncentrációk 40 ppb feletti részének akkumulált értéke) erős korrelációt mutattak a *Fraxinus excelsior* faj korai lombhullatásának mértékével, valamint számos vizsgált faj esetében a károsodott egyedek számának arányával. A kísérlet során a lombhullató fajok a tűlevelűekhez képest az ózonnal érzékenyebbnak bizonyultak (GIRGZDIENE et al. 2009).

Szubalpin füves társulásban ózon hatására a primer termelés 8%-os csökkenését mutatták ki, ami a fotoszintetikus rendszer károsodására utal. Ennek ellenére, mivel ebben az életközösségben a biomassza nagy része a föld alatt található, és bőséges utánpótlást nyújt a fotoszintetikus szövetek

megújításához, a közösség nettó produkciójában, vagy szárazanyag-hozamában nem történt szignifikáns változás (VOLK et al. 2010). Tehát egy adott életközösség jellege is meghatározza, hogy az ózon milyen mértékű veszteséget okoz a szén-dioxid megkötésében. Mivel az ózon csökkenti a növények produktivitását, ezzel összefüggésben több CO₂ halmozódik fel az atmoszférában, így az ózon indirekt módon fokozza az üvegházhatást. Ez az indirekt hatás valószínűleg nagyobb részben járul hozzá a globális felmelegedéshez, mint amennyivel maga az ózon, mint üvegházhatású gáz erősíti azt (PAOLETTI 2007, SITCH et al. 2007).

A troposféra mai ózonszintje szakértők szerint veszélyezteti a Föld vegetációját (ASHMORE et al. 2004), hatásainak pontos ismerete és megbecslése azonban a rendelkezésre álló adatok komplex értékelését igénylik. Az ózonszint emelkedésének, valamint a klímaváltozás egyéb következményeinek hatásai abiotikus és biotikus faktorok bonyolult kölcsönhatásain alapulnak, ezért azok előrejelzése igen összetett feladat (HARMENS és MILLS 2005, HARMENS et al. 2006), mely különféle hatások közös modellbe építését igényelné, a klímaváltozás hatásainak együttes vizsgálatát célzó hosszú távú szabadföldi kísérletek elvégzését követően.

Az ózon hatásainak pontosabb meghatározását teszi lehetővé, ha nem a légkörben lévő abszolút értelemben vett ózommennyiséget (koncentráció alapú megközelítés, PAOLETTI és MANNING 2007), hanem azt a mennyiséget vesszük alapul, ami ténylegesen behatol a növények szöveteibe (ASHMORE et al. 2004). Ebben a fluxus alapú megközelítésben a maximális sztómakonduktancia-értékek alapján modellezik a növények ózonfelvételét, sokféle környezeti tényező tekintetbe vételével. Ez utóbbi módszer a koncentráció-alapú megközelítésnél jóval pontosabb becslést tesz lehetővé a növények ózonválasztát illetően, de fajspecifikus, vagyis minden vizsgált fajra külön modell kialakítását teszi szükségessé, amit hosszas mérésorozatok kell, hogy megelőzzenek (PAOLETTI et al. 2007a). A fluxus-alapú megközelítéssel készült előrejelzések valamivel enyhébb veszélyeztetettséget mutatnak a vegetációra nézve (BAUMGARTEN et al. 2009). A fluxus-alapú mérőszámokat a kitettség- (vagy koncentráció-) alapú mérőszámoknál széles körben megelőzöbnek tartják az ózon növényekre gyakorolt hatásának vizsgálatára (FREDERICKSEN et al. 1996, KARLSSON et al. 2003b, MATYSSEK et al. 2004, PLEIJEL et al. 2004). Legújabb megközelítés a növénybe bejutó ózommennyiség hatásának modellezése, amihez szintén szükséges a vizsgált fajokra specifikus paraméterek modellbe való beépítése (CALVO et al. 2010, GONZÁLEZ-FERNANDEZ et al. 2010).

ALTIMIR et al. (2004, 2006) erdei fenyvesben végzett vizsgálatokkal kimutatták, hogy az ózon ülepedése nedves körülmények esetén fokozódik. Ilyenkor a sztómán keresztüli ózonfelvétel csak az összes ülepedés felét teszi ki, ami száraz körülmények között ennél sokkal nagyobb arányú. Ebben a kísérletben a relatív nedvesség, ha magasabb volt 60-70%-nál, a vizsgált tényezők közül a legerősebb összefüggést mutatta az ózon ülepedésével (különös tekintettel a nem sztómán keresztüli ülepedésre).

Ez a relatív nedvességnek az a határértéke, amikor a víz kicsapódik a párologtatás miatt a környezetnél valamivel alacsonyabb hőmérsékletű levelek felszínére. Ebből arra lehet következtetni, hogy a vékony felületi folyadékrétegnek az ülepedésben nagy szerepe van, az ózon valószínűleg reakcióba lép ezzel a felületi réteggel.

Annak ellenére, hogy az ózon nem sztómás kiülepedése egy ökoszisztéma lombkoronájában esetenként az 50-70%-ot is elérheti, az ózon fitotoxikus hatását általában a sztómakonduktanciával összefüggésben vizsgálják (BALDOCCHI et al. 1987, MEYERS et al. 1998, SIMPSON et al. 2003). A rendszerből nem sztómán keresztül távozó ózommennyiség ugyanis túlnyomórészt a levél felszínén hőbomlással, vagy a növény által kibocsátott VOC-kal és a levélfelületet borító vékony vízréteggel történő reakciók során (ALTIMIR et al. 2004), vagy száraz ülepedéssel távozik a rendszerből, tehát nem kerül kapcsolatba a növények szöveteivel. A légköri ózonnak a sztómás felvételhez hozzáadódó ülepedésében ezeken felül szerepet játszhatnak az ózonmolekulák reakciói a talaj által kibocsátott VOC-kal és nitrogén-oxidokkal is (DUYZER et al. 1983, GOLDSTEIN et al. 2004, KURPIUS és GOLDSTEIN 2003, MIKKELSEN et al. 2000, PILEGAARD 2001), de az így kiülepedő rész sem kerül kapcsolatba növényi szervezetekkel. Mégis számos tanulmány mutatta ki különböző növényfajok hajtásában az ózon ülepedésének a sztomatikus ózonfelvételtől eltérő, magasabb szintjeit (ALTIMIR et al. 2004, RONDON et al. 1993, VAN HOVE et al. 1999). Ennek magyarázata, hogy a levelek felszínén is történnek olyan fotokémiai reakciók (COE et al. 1995, FOWLER et al. 2001, RONDON et al. 1993), melyek a növényi szövetekre hatnak, de ezen a területen még kevés ismerettel rendelkezünk.

KARLSSON et al. (2003b) tanulmánya alapján Svédországban az ózon a viszonylag alacsony helyi koncentrációk ellenére fafajok növekedésének 2-10%-os, termesztett növények terméshozamának pedig akár 15%-os csökkenését okozza. Ezt a jelenséget a szerzők a növényeknek a csapadékos éghajlati viszonyok miatti fokozott ózonfelvételével magyarázzák (a transzspiráció és a sztómányitás ilyen éghajlat mellett kevésbé gátolt, ami több ózon szövetbe jutását teszi lehetővé a gázcsereenyílasokon át). Az éjszakai sztómás ózonfelvétel sem elhanyagolható az összes ülepedés vizsgálatakor, mivel a sztómák még C₃-as növények esetén sem mindig záródnak be 100%-ig (ALTIMIR et al. 2004).

A kutatók az 1990-es évek óta próbálják kidolgozni a növények levelei által felvett ózommennyiséget megadó indexet, amely a fitotoxikus ózondózist (POD) jellemezné. Ezt az indexet úgy határozták meg, mint egy adott időszakon belül, egy adott határértéken felül felvett ózommennyiséget (MILLS et al. 2010). Az egy bizonyos időintervallum során akkumulálódott ózonfluxus terminológiájának egységesítésére 2009-ben került sor, a paramétert POD_Y (Phytotoxic Ozone Dose over a threshold flux of Y nmol m⁻² s⁻¹) néven határozták meg, ahol Y azt a határértéket jelöli, amely alatt elnyelt ózommennyiséget a növény még képes detoxifikálni a szövetein belül. Ezt

MUSSELMAN et al. (2006) alapján effektív dózisként definiálták. MILLS et al. (2011b) tanulmányukban bebizonyították, hogy a POD_7 érték a károsodások becsléséhez $p < 0,001$ megbízhatósággal ad információt. Ezt a megközelítést alkalmazták DANIELSSON et al. (2013) is, amikor sztómán keresztüli ózonfluxust modelleztek. A modell magában foglalta a levelek öregedésének, a fénynek, a hőmérsékletnek és a páratartalomnak a sztómakonduktanciára gyakorolt hatásait. A POD_7 érték, amely a $7 \text{ nmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ózonfelvételi ráta felett felvett POD értéket jelenti, szintén jobb összefüggést adott a *Phleum pratense* biomassza-veszteségével, mint az AOT40 mérőszám, és a biomassza-veszteséget okozó ózonkoncentrációt erre a fajra maximális sztómakonduktancia esetén 20 nmol mol^{-1} -ban határozták meg.

GEROSA et al. (2009) ózonérzékeny babnövényen meghatározták a sztómákon keresztüli ózonfluxust (NF_{STO} , mmol m^{-2}), amelynek értéke jól korrelált a fotoszintetikus működés károsodását jelző fluoreszcencia és reflektancia értékekkel, és a növényi károsodás mértékének megbecsléséhez megfelelőbbnek találták a korábbi, koncentráció alapú AOT40 értéknél. Az újabban kifejlesztett DO_3SE (Deposition of Ozone for Stomatal Exchange) modell (MILLS et al. 2011b) az ózon levélfelszíni kiülepedését is belekalkulálja a növényekbe jutó ózonfluxus kiszámításakor, de a levélfelszín nedvességi állapotának az ózonfelvételre gyakorolt hatása ebbe a modellbe még nincs beépítve, ez a fejlesztés az elkövetkező évek kihívását jelenti a kutatók számára. A modell kifejlesztői azt is bebizonyították, hogy a fluxus módszerrel az ózon szabadföldi hatásait jobban lehet jelezni, mint a koncentráció alapú modellekkel, és hogy a DO_3SE modell az ózonfluxus napi és éves változásainak jellemzésére jól használható. A SODA (Simulated Ozone Detoxification in the leaf Apoplast) modell az apoplastba jutó ózommennyiség aszkorbinsavval való reakcióját is figyelembe veszi, és így számítja az ózonfluxust a növényi sejtfalon át (PLÖCHL et al. 2000), a MODD modellt pedig az ózon felszíni és sztómás ülepedésének meghatározására fejlesztették ki, szintén figyelembe véve az apoplastban történő detoxifikációs folyamatokat is (TUZET et al. 2011).

Az ózonfluxus modellezésén dolgozó kutatók ma már a sokféle klimatikus viszonyt és növényfajt tartalmazó, minél szélesebb körben elérhető és használható általános megoldások kidolgozásán fáradoznak. Az „UNECE Convention on Long-range Transboundary Air Pollution” protokollja (MILLS et al. 2011b) fajokra a vizsgált fajra és a vizsgálat földrajzi helyének éghajlatára specifikus fluxusmodelleket, sőt, a legáltalánosabban előforduló mezőgazdasági és erdészeti fajokra vonatkozó, kritikus helyzet esetére kidolgozott, gyorsan és széles skálán lefuttatható egyszerűsített modelleket is tartalmaz (MILLS et al. 2010).

Az ózon megváltoztatja az emelt légköri CO_2 növényi produkcióra kifejtett hatását is, ezért a fiziológiai folyamatokra gyakorolt hatásainak a pontos ismerete, és azoknak a jövő klimatikus viszonyait és terméshozamát előrejelző modellekbe való beépítése nélkülözhetetlen (FISCUS et al. 2005). Az ózon hatásának egyéb légszennyezők jelenlététől függő változékonyságára hívja fel a

figyelmet az ENEA (Italian National Agency for New Technologies, Energy and Sustainable Economic Development) tanulmánya (VIALETTO et al. 2002).

2.2 Az ózon hatásai a növényi szervezetre

2.2.1 Fitotoxikus jelleg

Az ózon növényekre kifejtett hatásának alapvetően két formáját ismerjük: rövidtávú hatásként növények levelén (és termésén) megjelenő úgynevezett „látható tüneteket” és a fotoszintézis folyamatának károsodását; míg hosszú távú hatásként a növekedés és terméshozam csökkenését, valamint a szövetek korai öregedését jelölhetjük meg (HARMENS et al. 2006). A felismerhetően ózon hatására kialakuló tüneteket a szakirodalomban használt kifejezéssel élve a dolgozatban mi is „látható tünetek”-ként nevezzük meg.

GEROSA et al. (2009) *Phaseolus vulgaris* fajon kimutatták, hogy a látható tünetek megjelenését megelőzi a sejteknek a felgyülemlett hidrogén-peroxid (H_2O_2) molekulák által okozott oxidatív károsodása. A látható tünetek néhány típuskategórián belül hasonlóképpen jelennek meg, függetlenül a vizsgált növényfajtól. Szabadföldi körülmények között hosszabb napos időszakot követően észlelhetőek, főként a növények napsugárzásnak leginkább kitett részein. A lombhullató fák levelei az érkezőkben barnulnak, vörösödnek, fakulnak vagy apró pöttyök jelennek meg rajtuk. A tűlevelek fakulnak és pettyegetetté válnak (GÜNTHARDT-GOERG és VOLLENWEIDER 2001), a lombhullató fák leveleihez nagyon hasonló módon (DALSTEIN et al. 2002, VOLLENWEIDER et al. 2003). A tanninok okozta szövetbarnulás viszont a tűlevelűeknél nem figyelhető meg (GÜNTHARDT-GOERG és VOLLENWEIDER 2007).

Az ózon hatása nem sokban különbözik egyéb oxidatív jellegű stresszhatásoktól: fokozza az etiléntermelést, a stresszfüggő génexpressziót, és beindítja a növények főbb védekezési mechanizmusait, például a programozott sejthalált (SANDERMANN 1996). SHARMA et al. (1996) *Arabidopsis* növényekben azt találták, hogy ózonkezelés hatására a patogénfertőzéshez hasonlóan a szalicilsav jelátviteli útvonala aktiválódik, sőt, ezekben a növényekben szisztematikus rezisztencia kialakulását tapasztalták. LANGEBARTELS et al. (2002) az ózonérzékenység lényegét abban látják, hogy az ózon hiperszenzitív reakcióhoz hasonló (HR-like) reakciót vált ki a növényekben. Ezt a hipotézist az is megerősíti, hogy a látható ózontünetek nagyon hasonlóak a hiperszenzitív reakció tüneteivel. RAO és DAVIS (1999) szintén a szalicilsav-indukálta sejthalált találták felelősnek a látható tünetek kialakulásáért, egy másik tanulmányban pedig bemutatták, hogy az ózon hatására keletkező hidrogén-peroxid és szuperoxid gyökök részt vesznek a szalicilsav által kiváltott sejthalál jelátviteli láncában (RAO et al. 2002). Szintén a patogénfertőzés és az ózonstressz hasonlóságait írták le SANDERMANN et al. (1998), YALPANI et al. (1994) és KANGASJÄRVI et al. (1994) is. Bár a

hiperszenzitív reakciót alapvetően patogénfertőzés váltja ki a növényekben, MCDONALD és CAHILL (1999) az ebben a folyamatban szereplő ROS-ok ózon hatására történő képződését feltételezték. Későbbi tanulmányokban az ózon és patogénfertőzések hatására egyaránt keletkező ROS-okat, mint a hidrogén-peroxidot, szuperoxidot, szuperoxid-gyököt, valamint a hidroxilgyököt azonosították (RAO et al. 2002, SAMUEL et al. 2000, LANGEBARTELS et al. 2002). Ezek a molekulák részt vesznek a programozott sejthalál folyamatában, valamint olyan géneket aktiválnak, melyek némely stresszhatások elleni védekezési mechanizmusokat irányítanak (HEATH 2008, KANGASJARVI et al. 2005). Reaktív oxigéngyökök az ózon által kiváltott lipidperoxidációval, valamint az erősen bomlékony ózonmolekula oxigénnel vagy más ROS molekulákkal való reakciói folyamán is kialakulnak.

Az ózon a sztómaműködés megváltozásának folyamányaként a növény CO₂ háztartásában is változásokat okoz (ANDERSON et al. 1997, ZHENG et al. 2002). Egyik legfontosabb hatásként változás áll be a szénforrások allokációjának szabályozásában, felborítva annak egyensúlyát, és csökkentve a szén földalatti részek felé történő transzlokációját (ANDERSEN 2003). NEUFELD et al. (2012) szerint az ózonérzékenység genotípusos eredetű, és a metabolikus folyamatoknak az ózon hatására bekövetkező változásain, valamint a fotoszintézis gátlásán alapul, nem pedig a szenzitív növények fokozottabb O₃ felvételén. IRITI és FAORO (2009) is megerősíti, hogy a troposzférikus ózon jelentős változásokat okoz a növényi metabolizmusban, méghozzá úgy, hogy a belső szénforgalom az elsődleges metabolikus utakról a másodlagos folyamatokra terelődik, aminek következtében a rendelkezésre álló energiaforrások tartalékképzés helyett olyan termékek előállítására fordítódnak, amelyeknek valószínűleg a stressz elleni védekezésben van szerepük.

2.2.2 Az ózon hatása a fotoszintetikus folyamatokra

Bár az ózon biomonitoring rendszerek kiterjedten alkalmazzák egyes növényfajok szenzitív és rezisztens genotípusait, az ózonérzékenység élettani hátterével kapcsolatban még sok a tisztázatlan kérdés, ahogyan ez az irodalmi adatok ellentmondásosságából is kitűnik. A növényi ózonválasz vizsgálata során széles körben tanulmányozták a fotoszintetikus folyamatokat (FISCUS et al. 2005), és számos kísérlet bebizonyította, hogy ezek a folyamatok még a látható tünetek megjelenése előtt károsodnak (FREDERICKSEN et al. 1996, GUIDI et al. 2001, PYE 1988, SCHREIBER et al. 1978).

A fotoszintetikus membránok, a fotoszintetikus apparátus ózonterheléssel összefüggő károsodását említik például PELL et al. (1997) és GUIDI et al. (2010). Az ózonhatásnak kitett növények klorofilltartalma csökken (FAORO és IRITI 2005). Ez a csökkenés magyarázható a klorofillmolekulák reaktív oxigéngyökök általi degradációjával, de a növénynek egyfajta akklimatizációjával is, mely által megakadályozza a túlzott fényelnyelés miatti reaktív oxigéngyök-képződést, ami további terhet jelentene az amúgy is oxidatív stressz alatt álló szövetekre

(CASTAGNA et al. 2001). Az egy fajhoz tartozó ózonérzékeny növények klorofilltartalma eredendően alacsonyabb, mint rezisztens genotípuspárjaiké (CROUS et al. (2006), de GEROSA et al. (2009) alapján a szenzitív genotípus érzékenyebb is a növény szöveteiben keletkező, és a membránokat károsító reaktív oxigéngyökök jelenlétére.

Mind természetes, mind termesztett növényfajokban kimutatták, hogy az ózon gátolja a széndioxid asszimilációt (CROUS et al. 2006, GEROSA et al. 2009, GRAMS et al. 1999, HE et al. 2007, MILLER 1987, MORGAN et al. 2003, NEUFELD et al. 2012, PAOLETTI et al. 2007b, PELL et al. 1997). A karboxiláció hatékonyságának ózon hatására bekövetkező csökkenéséről számolnak be CALATAYUD et al. (2002b), CALATAYUD és BARRENO (2001), HE et al. (2007) GRAMS et al. (1999) és CROUS et al. (2006). A Rubisco szintézisének, vagy aktivitásának ózonterhelés által kiváltott csökkenéséről, és a csökkent Rubisco aktivitás ózonérzékenységgel való összefüggését tárgyalja FISCUS et al. (2005) és PELL et al. (1997).

A klorofill-fluoreszcencia mérését számos szerző, mint az ózonstressz korai detektálásának és azonosításának könnyű és hatékony módszerét mutatta be (GUIDI et al. 1997, REILING és DAVISON 1992, SCHREIBER et al. 1978). Sok tanulmány bizonyította, hogy a fluoreszcencia-indukció különféle paramétereit az ózonkezelés, a fotoszintetikus rendszer stresszelt állapotára jellemzően változtatja meg. Csökkenti az Fv/Fm (FISCUS et al. 2005, GRAMS et al. 1999, GUIDI et al. 1997, LEIPNER et al. 2001) és az RFd értéket. Növeli az Fo értéket (GUIDI et al. 2002, GUIDI et al. 2000, LEIPNER et al. 2001), a nemfotokémiai kioltást (CALATAYUD és BARRENO 2001, GEROSA et al. 2009, GRAMS et al. 1999) és az $(1 - qP)/NPQ$ értéket, mely a fotonfeleslegre és a PSII erős besugárzással szembeni érzékenységére ad egy becsült értéket (CALATAYUD et al. 2002b). GUIDI et al. (2010) alapján két babfajta közül az érzékenyebbnek az a képessége, hogy fölösleges gerjesztési energiáját nemfotokémiai kioltás útján vezesse el, alacsonyabb, mint a rezisztens babfajtáé, amit megerősítenek PYE (1988), FREDERICKSEN et al. (1996) és GUIDI et al. (2001) tanulmányai is. A PSII felesleges gerjesztési energiától való megóvására és a reaktív oxigéngyökök képzésének megelőzésére, valamint azok redukálására a szenzitív fajtához tartozó növények lényegesen kisebb kapacitással rendelkeztek. SCHREIBER et al. (1978) már 1978-ban megállapították, hogy az ózon elsődleges célpontja a PSII vízbontó komplexe, amit a két fotoszisztéma közötti elektrontranszport zavara követ.

A szóba jöhető védelmi mechanizmusok számbavétele rávilágít a xantofill ciklus és az abban részt vevő karotinoid molekulák szerepére. Magas hőmérsékletnek kitett növényekben a xantofill ciklus pigmentjei a tilakoid membrán lipidfázisában csökkentik a membrán fluiditását és így növelik annak hőstabilitását (HAVAUX 1998). Mivel ez a folyamat a membrán lipidperoxidációval szembeni érzékenységét csökkenti, lehetséges, hogy egy, az oxidatív stresszel szembeni általános védekezés része. A zeaxantint HAVAUX et al. (1991) úgy is leírták, mint a tilakoid membrán erős fénnel

szembeni fényvédő pigmentjét. Újabb tanulmányok pedig megerősítik a xantofill ciklus ózonválaszban betöltött szerepét. A xantofill ciklus aktiválása miatt bekövetkező hődisszipációt mutatták ki O₃ terhelésnek kitett növényekben GEROSA et al. (2009), FLOWERS et al. (2007) pedig bebizonyították, hogy az O₃ a PSII működésének és a xantofill ciklus komponenseinek szintjén hat a fotoszintetikus elektrontranszportra.

2.2.3 A sztómaműködésre gyakorolt hatások

ROSCHINA és ROSCHINA (2003) szerint az ózon károsítja a sztómaapparátust, valamint megváltoztatja a sztómák természetes működését és ennek a károsító hatásnak a mértéke függ a sztómák méretétől, a levegő nedvességtartalmától, továbbá korrelációt mutat a vizsgált levelek korával és a vizsgálat során alkalmazott fényintenzitással is.

A növényi ózonválasz valószínűsíthetően valamilyen összefüggésben van a sztómaműködéssel, mivel a legáltalánosabb védekezési mechanizmus a sztómakonduktancia csökkenése (HE et al. 2007). Ennek a sztómazáródásnak az okaként PAOLETTI és GRULKE (2005) a csökkent szén-dioxid asszimiláció következtében kialakuló magasabb belső szén-dioxid koncentrációt jelölik meg. Egyes szerzők szerint a sztómazáródás oka a hormonszint megváltozása, az etilén-kibocsátás és a megváltozott ionáramlás (KANGASJARVI et al. 2005), vagy az ózon sztóma zárósejtekre kifejtett közvetlen hatása (GOSTIN 2009, MOLDAU et al. 1990). Számos kísérleti eredmény megerősíti, hogy az ózon közvetlenül befolyásolja a zárósejtek működését azoknak a hidrogén-peroxid molekuláknak a közreműködésével, amelyek gyakorta kialakulnak az ózon különféle molekulákkal való reakciói során (FISCUS et al. 2005, PAOLETTI és GRULKE 2005). A hidrogén-peroxid, a szuperoxid és egyéb reaktív oxigénfajták a sztómazáródás másodlagos hírvivőiként működnek (HETHERINGTON és WOODWARD 2003), és ezekkel a reaktív oxigéngyökökkel reagálva az ózon megváltoztatja a zárósejtek membránjának polarizációját, így befolyásolva a sztómazáródást.

Bizonyos mennyiségű kumulatív ózon lelassítja a sztómák válaszkészségét (PAOLETTI és GRULKE 2005), még nagyobb dózis elégtelen sztómazáródást okoz, így végül a transzspiráció szabályozása is zavart szenved (PAOLETTI 2005). Az ózon hatására bekövetkező megemelkedett éjszakai transzspirációról már több tanulmányban beszámoltak (GRULKE et al. 2004, GRULKE et al. 2007b). Ezzel összefüggésben az ózon a folyadékáramlást is fokozza a növényben, végső soron a sztómákra gyakorolt hatásán keresztül a növényben a szárazságstresszhez hasonló állapotot idéz elő (PAOLETTI 2007). A csökkent sztómaműködés miatti nagyobb arányú vízvesztésről számolnak be PAOLETTI (2005, 2007) és GRULKE et al. (2007b) is. Több kutatás bizonyította, hogy az ózon a sztómáknak a különböző környezeti tényezőkre, úgymint a páratartalomra, a CO₂-koncentrációra (ONANDIA et al. 2011), vagy a sugárzásra adott válaszkészségét csökkenti (WILKINSON et al.

2012), sőt azt is, hogy a sztómáknak ez a gátolt reakciókészsége áll a genotípusosan meghatározott ózonérzékenység háttérében (DUMONT et al. 2013, GRULKE et al. 2007a).

A megváltozott sztómaműködés valószínűleg limitálja a fotoszintézist, bár ezzel kapcsolatosan ellentmondásos irodalmi adatok találhatók. HE et al. (2007) *Ginkgo biloba* fajon végzett kísérletében a fotoszintézis sztómák általi limitáltsága mindvégig magasabb volt az ózonnal kezelt növényekben. A kutatók szerint a vegetációs periódus első felében a fotoszintézis sztómás limitációja volt jellemző az ózonkezelés alatt álló növényeknél, a második felében pedig már a nem-sztómás limitáció dominált: a károsodás hatására bekövetkező események, mint például az enzimaktivitásnak és a klorofilltartalomnak a csökkenése gátolták a fotoszintézist.

Ismert, hogy ózonérzékeny/ellenálló genotípus párok sztómakonduktanciája eltér (FREDERICKSEN et al. 1996, GUIDI et al. 2001, PYE 1988), a bioindikátor fajok szenzitív genotípusainak sztómakonduktanciája általában magasabb (ELAGÖZ et al. 2006, GUIDI et al. 2010, NALI et al. 1998, SALVATORI et al. 2012), különösen ózonterhelésnek kitett növények esetében (CROUS et al. 2006, KOCH et al. 1998). A szenzitív és rezisztens genotípusok sztómakonduktanciája közötti különbség nemcsak azok sztómaműködésének a különbségéből, hanem a sztómákat jellemző paramétereknek az ózon hatására bekövetkező változásaiból is adódik (ELAGÖZ et al. 2006).

2.2.4 A növények szövettani és morfológiai sajátosságaira gyakorolt hatások

Kísérletek során a növényi membránok mutatkoztak az ózonstressz elsődleges célpontjainak (HEATH 1980), de a sztómák szerkezetének bizonyos változásai is az elsődleges növényi választ képviselik (PAOLETTI et al. 2007b). Ezek a hatások a látható tünetek megjelenése előtt lépnek fel. CALATAYUD et al. (2002a, b) ózonkezelés hatására bekövetkező lipidperoxidációról és a membránok tulajdonságainak megváltozásáról számoltak be. A látható tünetek megjelenését megelőzően hidrogén-peroxid molekulák okozta sejtkárosodásról számolnak be GEROSA et al. (2009) *Phaseolus vulgaris* fajon. Az effajta, magas H₂O₂ szintet mutató sejtcsoportok menthetetlenül elpusztulnak, pusztulásukkal előidézve a tipikus látható ózontünetek megjelenését (FAORO és IRITI 2005). Az ózontüneteket FISCUS et al. (2005) is elhalt sejtek tömeges megjelenésével, magát az ózonérzékenységet pedig korai öregedéssel magyarázzák az ózonterhelésnek kitett szövetekben.

HILL et al. (1961) alapján az ózon főként a mezofillum szöveteit károsítja, végzetes károsodás esetén is a sztómák és az epidermiszsejtek pusztulnak el utoljára. A legsúlyosabb elváltozást a paliszád sejtek szenvedik, melyek a hiperszenzitív reakcióhoz (HR) hasonló reakción mennek keresztül (VOLLENWEIDER et al. 2003), míg az őket körülvevő szövetek korai öregedést, valamint az oxidatív stressz tüneteit mutatják (PELLINEN et al. 1999). A látható tüneteket szintén a paliszád sejtek károsodásával magyarázzák (FERDINAND et al. 2000), de bablevelekben kimutatták mind a

paliszád, mind a szivacsos parenchima sejtek ózonterhelés hatására bekövetkező elhalását (FLOWERS et al. 2007).

A sejtfalakon pektin, polifenol vagy fehérjetartalmú betüremkedések, rendellenes sejtfalvastagodások alakulnak ki (GÜNTHARDT-GOERG 1996, GÜNTHARDT-GOERG et al. 1996). Ezek a betüremkedések árnyékleveleken és aszimptomatikus leveleken is megjelennek, ha a levél magas ózonkoncentrációnak van kitéve (VOLLENWEIDER et al. 2003). A szimptomatikus szövetekben a keményítő képződése lelassul, eloszlása pedig rendellenessé válik (GÜNTHARDT-GOERG et al. 1998). Túlevelűek esetében a károsodott sejtekben nagyobb méretű vakuólumok, kondenzálódott sejtmagok, kevesebb és kisebb méretű kloroplasztiszok találhatóak. A levélszövetben elhalt sejtek elkülönült csoportjai, és az apoptotikus testekhez hasonló képződmények láthatók.

Kísérletek kimutatták az ózon sztómasűrűsége fokozó (HETHERINGTON és WOODWARD 2003, PAOLETTI és GRULKE 2005), a sztómák, vagy a légrések méretét viszont csökkentő (AASAMAA et al. 2001, PÄÄKKÖNEN et al. 1997) hatását. ELAGÖZ et al. (2006) babnövényeken végzett kísérletükben bemutatták, hogy az ózonszennyezés a sztómakonduktanciát és a sztómasűrűsége is befolyásolja.

Számos tanulmány bizonyította, hogy a sztómasűrűség és a sejtosztódás szabályozása a fejlődő levelekben összefügg a különböző környezeti stresszekre adott válaszadás szabályozó folyamataival (MIYAZAWA et al. 2006, NADEAU és SACK 2002, WANG et al. 2007). Bizonyított, hogy a sztómasűrűség összefügg a növény vízállapotával, valamint, hogy a sztómák kialakulása a sejtek differenciálódása során olyan gének működésétől függ, melyek a növények fiziológiai sajátosságait, például a sztómakonduktanciát is szabályozzák, és összefüggésben van a levegő CO₂-koncentrációjával (BERGMANN és SACK 2007). A CO₂ gázcsere és a vízháztartás szabályozásának részeként ez a genetikai/hormonális kontroll a környezeti változásoknak megfelelően befolyásolja a sztómák sűrűségét és eloszlását az újonnan kifejlődő levelekben (SUGANO et al. 2010). A sztómák sűrűségének és méretének változása egy fontos, a szennyezőanyagok abszorpcióját kontrolláló mechanizmus a növényekben (GOSTIN 2009).

STENGLEIN et al. (2005) felismerték, hogy a sztómasűrűsége nem csak a sztómák kialakulásának a sejtek differenciálódása során történő indukciója, hanem az epidermiszsejtek mérete is befolyásolja, ami viszont számos környezeti tényező és fejlődési körülmény függvénye: még a kísérleti helyszín tengerszint feletti magassága is befolyásolja a sztómaindexet és a sztómasűrűsége. Az ózon felborítja a sejtek redoxállapotának egyensúlyát, így változásokat okoz a metabolikus folyamatokban és a génexpresszióban, ami hatással van a sejtek növekedésére és fejlődésére. A sejtosztódás különösen érzékeny a sejtek redoxállapotára: az oxidatív stressz olyan változásokat okoz a sejtciklusban, aminek következtében kisebb lesz az érintett szövetben kifejlődő sejtek száma (TAIZ és ZEIGER 2010).

FERDINAND et al. (2000) ózonszenzitív *Prunus serotina*-ban nagyobb sztómasűrűséget és kisebb paliszád/szivacsos parenchima arányt mutattak ki. Szerintük a különbség a növények ózonrezisztenciája között a különböző gázáteresztő képességgel magyarázható, ami viszont az eltérő levélfelépítéssel van összefüggésben, mivel a paliszád parenchima ellenállása fokozottabb, mint a szivacsos parenchimáé. Ennek az elképzelésnek megfelelnek egy olyan kísérletnek az eredményei is, mely során egyes *Trifolium* fajok levelei légszennyezéssel összefüggő eltérést mutattak a levéllemez vastagságában, a paliszád és szivacsos parenchima sejtek, valamint az epidermiszsejtek méretében. Más *Fabaceae* fajok a sztómaindexben mutattak különbséget attól függően, hogy fejlődési helyükön milyen mértékű légszennyezés terhelte őket (GOSTIN 2009).

Tudjuk, hogy a növények különböző mértékben érzékenyek az ózonterhelésre, de az ózonérzékenység vagy rezisztencia lehetséges okait vizsgálva még sok megválaszolatlan kérdés vetődik fel. Az ózon bioindikátor bokorbab (*Phaseolus vulgaris* R123 és S156) és fehér here (*Trifolium repens* NC-S és NC-R) genotípusokat az általuk mutatott tipikus ózontünetek jelenléte vagy hiánya alapján mesterséges szelekcióval állították elő (HEAGLE et al. 1995, REINERT és EASON 2000), az ózonérzékenység élettani vagy egyéb (morfológiai, szövettani) háttere ennek során feltáratlan maradt. Az itt tárgyaltakon túl az ózonnak még sok egyéb növényi jellemzőre gyakorolt hatása nyert bizonyítást. Többek között kísérletek igazolták, hogy az ózon számos faj virágzását, magkötését és termésfejlődését is befolyásolja (BLACK et al. 2000, DARBAH et al. 2007, FUMAGALLI et al. 2001, TONNEIJCK és VANDIJK 1997).

2.3 Az ózon és az emelt légköri szén-dioxid együttes hatásai

A klímaváltozás komponensei közül az atmoszférába kibocsátott CO₂ a globális ökológia szintjén a legnagyobb jelentőséggel bíró környezeti faktor. Az elmúlt két évszázad során légköri koncentrációja 280 ppm-ről 400 ppm-re emelkedett, és a XXI. század végére ennek várhatóan több mint kétszerese lesz. A földfelszín hőmérsékletének növekedése legnagyobb részben az atmoszféra magasabb CO₂ szintjének tulajdonítható. A CO₂ a növényvilágra közvetlen módon is hat: befolyásolja a kémiai összetételt, a fiziológiai folyamatokat és a növényi produkciót is. Hatására a növények stressztoleranciája, reprodukcióképesége, egyedszáma és területi eloszlása is változni fog (TUBA 2005). A természetes vegetációk fajszauma várhatóan csökkenni fog, és az emelt CO₂ szint egyes tanulmányok alapján inkább a kétszikű fajok elterjedésének kedvez (NAGY et al. 1997, TUBA 2003). Az emelt légköri CO₂ növeli a növények szárazság, hő- és fagystresszel, valamint sóstresszel szembeni ellenállóságát.

A légköri CO₂ koncentráció eddigi növekedésének hatására a C₃ fotoszintézis típusú növények szárazanyaghozama az ipari forradalom kezdete óta valószínűsíthetően mintegy 7,5-9,0 %-kal növekedett. Mivel a jelenleg a CO₂ szint a fotoszintézis intenzitását limitáló fő tényező, az emelkedő

légköri szén-dioxid szint serkentőleg hathat a fotoszintézisre, és várható, hogy tovább növeli a növényi produktivitást, amint azt sok kísérlet eredménye is igazolja (CURE és ACOCK 1986, KIMBALL és IDSO 1983, TUBA et al. 1998). Azonban sok, ennek a várakozásnak ellentmondó tanulmány is napvilágot látott (BARTAK et al. 1996, SZERDAHELYI et al. 2004a, VODNIK et al. 2002), melyek alapján, különösen hosszú távon, a magasabb CO₂ koncentráció közvetett módon hátrányosan befolyásolhatja a biomassza-produkciót és a természetes vegetációk fejlődését (TUBA és LICHTENTHALER 2007). Hatásait természetes körülmények között ugyanis a növényen belüli termelés-felhasználás egyensúly, az egyéb tápanyagok és a víz elérhetősége, a hőmérséklet, sugárzásintenzitás, a növényi patogének és az adott területre jellemző művelésmód bonyolult interakcióin keresztül fejt ki (TUBA 2005). Befolyásolják ezeket a hatásokat még az adott növényi genotípusra jellemző tulajdonságok, valamint a kitétség időtartama és mértéke is (NAGY et al. 1997, TUBA et al. 1998). Tulajdonképpen egy olyan stressztényező (NÁDAS et al. 1997), amely a természetes és mesterséges vegetációk környezetét jelentősen megváltoztatja, és amihez a növényeknek alkalmazkodniuk kell. Ezért hosszú távon a legtöbb növénytársulásra negatív hatással van (TUBA 2003). Az emelt CO₂ szint stresszor szerepére utal, hogy csökkenti a klorofilltartalmat és az RFd értéket (TUBA et al. 1994).

Míg a csökkent transzspiráció miatt az emelt CO₂ szint hatására minden vizsgált fajban nő a vízhasznosítási hatékonyság, ugyanennek hatására a lombfelszín hőmérséklete nő (PINTER et al. 2000, TUBA 2003), ami magas külső hőmérséklet esetén stresszhatásként jelenhet meg. Az emelt CO₂ szint a legtöbb esetben csökkenti a nitrogéntartalmat (TUBA et al. 1998), így végső soron a szárazanyag produktiót és a növekedést is csökkentheti (NAGY et al. 2002). A nitrogéntartalomnak ez a csökkenése egyébként elsősorban a Rubisco enzim mennyiségében történt változásnak tulajdonítható (GIELEN et al. 2000). Emelt CO₂ szinten csökken továbbá az asszimilátumok reproduktív szervekbe történő transzlokációja (NAGY et al. 1997, TUBA et al. 1994), amely néhány faj esetében a termésmennyiség csökkenését jelenti (TUBA 2003), de fokozódik az asszimilátumok gyökérbe történő transzportja. Sok esetben csökken az elemtartalom és a növény relatív növekedési rátája, a karboxilációs kapacitás, és a keményítő felhalmozás (FIELD et al. 1992, GIFFORD 1994, JARVIS 1993).

Az emelt CO₂ szint hatása nagyban függ a vizsgált növényfajtól is, az ahhoz való akklimatizáció típusa ugyanis lehet „upward” jellegű, vagyis stimuláló, a legtöbb növényre (főként az egyszikűekre) azonban „downward” jellegű akklimáció a jellemző (CASELLA és SOUSSANA 1997, NÁDAS et al. 1997). Ennek következtében az asszimilációs kapacitás nagymértékben lecsökkenhet, ami végső soron a növekedés gátlását is eredményezheti (NAGY et al. 2002). Egy társulás bizonyos fajainak leszabályozó jellegű akklimációja hosszútávon a teljes ökoszisztéma primer produktóját is csökkentheti (SZERDAHELYI et al. 2004b). Bizonyos, elsősorban egyszikű fajok fotoszintetikus

folyamatai már rövidebb távon is leszabályozással reagálnak, egyes fajok pedig semmilyen reakciót sem mutatnak az emelt CO₂ szintre (NAGY et al. 1997, TUBA 2003). Ez a leszabályozás elsősorban a Rubisco mennyiség és aktivitás csökkenésének tulajdonítható (JACOB et al. 1995, SAGE et al. 1989, TUBA et al. 1994), de gyakorta az asszimilált CO₂ felhasználásának csökkenésén keresztül fejt ki hatását (NAGY et al. 2002), mivel a vízoldható szénhidrátok mennyisége megnő, feedback-gátlást eredményezve a CO₂ asszimilációban (TUBA et al. 1998).

Emelt CO₂ hatására általában csökken a sztómakonduktancia és a transzspiráció (DELUCIA et al. 1985, KIMBALL és IDSO 1983, ROGERS et al. 1983), azonban egyre több tanulmány szól változatlan (NAGY et al. 1997), vagy akár növekvő transzspirációról is (CURTIS et al. 1989, SZENTE et al. 1998). Hosszú távon a sztómaműködés jellemzően a fotoszintézishez hasonló akklimatizációt mutat (TUBA et al. 1996). A vízhasznosítási hatékonyság azonban változatlan vagy megnőtt transzspiráció és sztómakonduktancia ellenére is szinte minden esetben nő emelt CO₂ szinten, ami hozzájárul a növények fokozott szárazságtűréséhez (JARVIS 1993, MORISON 1993, ROGERS et al. 1983, SZENTE et al. 1998).

Sok vizsgálat igazolta, hogy az ózonnak a növekedést csökkentő és egyéb káros hatásait az emelt légköri CO₂ ellensúlyozza (BOOKER és FISCUS 2005, EICHELMANN et al. 2004, GRAMS et al. 1999, PLEIJEL et al. 2000), részben ellensúlyozza (GRAMS et al. 1999), vagy legalábbis enyhíti. Ez a hatás legnagyobb valószínűséggel a sztómakonduktancia csökkenésével, és ebből következően a csökkent ózonfelvétellel függ össze (VANDERMEIREN et al. 2002), bár egyes szerzők vitatják az ózonfelvétel sztómás limitációjának a jelentőségét a növény fotoszintetikus teljesítménye szempontjából (GRAMS et al. 1999).

CARDOSO-VILHENA et al. (2004) a szén-dioxid ózonkárosodást ellensúlyozó hatásának lehetséges magyarázatai között az alacsonyabb sztómakonduktanciával járó lecsökkent ózonfluxuson kívül megemlítik a szénhidrátok jobb elérhetőségét a detoxifikáló és helyreállító folyamatok számára, valamint a levél morfológiai átalakulását emelt CO₂-on, és ennek következményeként az ózon levélen belüli diffúziójának csökkenését.

Fás növényeken sokat vizsgálták az ózon és CO₂ együttes hatásait (WUSTMAN et al. 2001), és ezeknek a vizsgálatoknak az alapján két elmélet látott napvilágot: Az egyik elmélet a sztómakonduktancia és az ózonfelvétel fent említett csökkenése, minek következtében a két hatás kiegyenlíti egymást. Egy másik elmélet alapján azonban az emelt CO₂ fokozza az ózon káros hatásait, mivel csökkenti a fotorespirációt, és gátolja az antioxidatív folyamatokat, olyan jelátviteli útvonalakat indítva be, melyek a növény számára azt jelzik, hogy nem áll stresszhatás alatt. Ezért a magas ózonkoncentrációnak és emelt szén-dioxidnak egyaránt kitett növény szövetekben az oxigéngyökök mennyisége jobban megnő, mint azonos ózonkoncentráción, normál légköri szén-dioxid szint mellett. Az emelt CO₂ a szerzők szerint a betegségekre való fogékonyságot is növeli. Az Aspen-FACE

kísérletben nyírfákat és nyárfákat tettek ki emelt CO₂, valamint emelt ózonszintnek. Ennek a kísérletnek a folyamán mindkét faj növekedése jóval kisebb mértékű volt, ha mindkét gáznak egyidejűleg tették ki a növényeket, mintha csupán emelt CO₂-on növekedtek a fák. Ennek alapján tehát az emelt légköri CO₂-szint következtében fokozódó biomassza-termelés nem kompenzálja az emelt O₃-szint által okozott veszteséget (KARNOSKY et al. 2005). Ezzel szemben - szintén fás szárú növényeken - több vizsgálat is kimutatta, hogy az emelt légköri CO₂ és az ózon együttesen növelik a fotoszintézis hatékonyságát, csökkentve a fotoszintézis sztómás limitációját (PAOLETTI és GRULKE 2005).

Kutatások során az a kérdés is felmerült, hogy, ha rövid távú kísérletek során bebizonyosodna is, hogy a szén-dioxid csökkenti a sztómakonduktanciát, ezáltal csökkentve a levélbe behatoló ózon mennyiségét, valamint fokozza a fotoszintézist, ezáltal kompenzálva az ózon fotoszintézist gátló hatását, vajon hosszú távon a növények CO₂-hoz való alkalmazkodásával mindezen pozitív hatások nem tűnnek-e teljesen el (PAOLETTI és GRULKE 2005, TUBA et al. 1994).

A tudományos megfigyelések tehát igen ellentmondásosak, de mindezek alapján az is lehetséges, hogy a jövő emelt CO₂ és ózontartalmú légkörében az ózon élettani folyamatokat gátló hatásai még fokozottabban fognak érvényesülni.

Mind az élettani, mind a morfológiai, génexpressziós vagy egyéb hatások egymással nagyon bonyolult kölcsönhatásokkal határozzák meg a növények reakcióit, ráadásul ezek a hatások fajtól, genotípustól, de az adott környezeti feltételektől függően is nagyon különbözőek lehetnek. Az ózon hatásainak vizsgálata tehát több tudományterületet felölelő rendkívül komplex feladat. Jelentősége azért is nagy, mivel a növényt érő abiotikus – és a legtöbb biotikus – stressz hatásmechanizmusában meghatározó oxidatív folyamatok közvetlenebb megértésére adhat módot (ANTONELLI et al. 2005, RAO et al. 2000).

Az emelt CO₂ szint hatásai realiztikusan csak hosszú távú, több életcikluson átívelő, és a teljes vegetációs periódust lefedő szabadföldi kísérletekben ismerhetők meg (TUBA et al. 1994), ahol egyidejűleg érvényesülnek az adott klimatikus viszonyok kölcsönhatásai is (TUBA 2003). A légköri ózon és az emelt CO₂ együttes hatásait is ilyen körülmények között érdemes tanulmányozni ahhoz, hogy az eredményekből a jövőre vonatkozó következtetéseket vonhassunk le.

2.4 Az ózon hatásainak vizsgálati módszerei

Az ózon növényekre gyakorolt hatásainak vizsgálata már az 1960-as évektől kutatások témáját képezi. Ezekhez a kutatásokhoz különféle fitotronokat, átalakított üvegházakat használtak, de történtek nyílt szabadföldi és szabadföldi kamrás kísérletek is. Különféle növényi genotípusok ózonérzékenység alapján történő összehasonlításáról az 1970-es évektől kezdődően vannak irodalmi adatok. A növényi biomassza redukciójának hosszú időtartamú kísérletekben történt vizsgálatát az

1980-as évektől írták le. Ezeknek a kezdeti kísérleteknek az összegyűjtött leírása KRUPA és MANNING (1988) művében olvasható. Az OTC-k használata lehetővé teszi mind a légköri ózonterhelés emelését, mind annak csökkentését a levegő szűrésével, mind egyéb légköri gázokkal való együttes hatás vizsgálatát. A nyílt szabadföldi ózonkezelés kísérletek előnye ugyanaz, mint az összes FACE kísérleté a kamrás mérésekkel szemben: nagyobb növényállomány együttes vizsgálata lehetséges, és kiküszöbölhető a kamrának a mikroklímára és a kártevők szaporodására gyakorolt hatása, mely torzíthatja a kísérleti eredményeket. A növények kitehetők a több kísérleti helyszínen természetes körülmények között előforduló ózonszinteknek, ahol a gradienst a helyszínek eltérő terheltsége adja. Ilyen módon a legrealisztikusabb hatások követhetők nyomon, a körülmények és azok változásai azonban csak kevéssé kontrollálhatóak. Ilyenek a ma Európa-szerte működő ózon biomonitoring rendszerek is (DE VRIES et al. 2003, MILLS et al. 2011a), ahol a cél nem a kísérleti növények, hanem a kísérleti helyszínek összehasonlítása az adott helyszín légkörének a speciális bioindikátor növényekre gyakorolt hatása alapján. Itt a bioindikátor növények számára teljesen azonos, lehetőleg minden egyéb stressztől mentes, öntözött körülményeket kell biztosítani, hogy egyéb stresszfaktorok ne zavarják meg a válaszreakciókat. Ennek a módszernek az eredeti verzióját „Cultivar screening”-ként említik a szakirodalomban. Mindezekről a módszerekről és összehasonlításukról bővebben KRUPA és NOSAL (1989) számol be.

A *Phaseolus vulgaris* ózonterhelésre adott válaszreakcióit már hosszú idő óta tanulmányozzák (GEROSA et al. 2009, GUIDI et al. 1997, LEIPNER et al. 2001, SCHREIBER et al. 1978). FLOWERS et al. (2007) javasolják ennek a fajnak a bioindikációra használatos S156 és R123 genotípusait, mint a növényi ózonérzékenység fiziológiai okainak feltárására szolgáló vizsgálatokhoz jól használható kísérleti növényeket.

2.4.1 Bioindikációs és biomonitoring-kísérletek

Az ózon bioindikátor fajok olyan növényfajok, melyek különösen érzékenyek az ózonterhelésre. Ez az érzékenység magában foglalja bizonyos fiziológiai paraméterek változását, a biomassa redukcióját és tipikus, jól felismerhető látható tünetek megjelenését a magas ózonkoncentrációnak való kitettség hatására. Ezeknek a tüneteknek a kiterjedtségéből lehet következtetni az ózon jelenlétére, sőt, bizonyos mértékig a mennyiségére is az adott kísérleti helyszín légkörében. A szenzitív növények legtöbbet vizsgált sajátossága az ózon hatására bekövetkező biomassa-csökkenés (GÜNTHARDT-GOERG 1996, MATYSSEK et al. 1995). Ezekhez a vizsgálatokhoz a szenzitív genotípus mellett sok esetben annak rezisztens párját is felhasználják, amelyet az ózonszenzitív genotípussal párhuzamosan szintén mesterséges szelekcióval állítanak elő (HEAGLE et al. 1994).

Sok növényfaj bizonyult alkalmasnak a troposzférában jelenlevő ózon kimutatására. A legfontosabb, kutatások során használt ózonszenzitív növényfajok a *Nicotiana tabacum* Bel W3 (szenzitív) és Bel B (rezisztens) genotípusai; a *Phaseolus vulgaris* var. *Pinto* (szenzitív), valamint *Phaseolus vulgaris* S156 (szenzitív) és R123 (rezisztens) genotípusok; *Urtica urens* (szenzitív); *Spinacia oleracea* var. *Monnopa* (ARNDT et al. 1985); *Populus x euramericana* var. *Glerica* (ARNDT et al. 1992); *Centaurea jacea* (BUSE et al. 2003); valamint a búza, a mályva és a fehér here (SCHAFLEER 1998), utóbbiból klónszelekcióval előállított bioindikátor genotípuspár a *Trifolium repens* NC-S (szenzitív) és NC-R (rezisztens) genotípusok.

A toxikus ózonterhelés detektálására az 1950-es évek óta használnak bioindikátor növényfajokat (KARLSSON et al. 2003a). A rendkívül érzékeny dohányt az 1960-as évek eleje óta használják ózon bioindikációra. Ennek a fajnak a levelein még a fitotoxikus határérték (40 ppb, FUHRER és ACHERMANN 1994) alatti ózonkoncentrációnak rövid ideig való kitettség is klorotikus foltok, majd kiterjedt nekrozisok megjelenését, végül a levelek teljes elszáradását okozza (MÜLLEDER et al. 1992). Hiperérzékenysége miatt a *Nicotiana tabacum* csak más bioindikátor fajokkal együtt használható, mivel a tünetek nagy kiterjedése rövid idő alatt lehetetlenné teszi a rangsorolást a dohány egyes egyedeinek károsodottsága között (KEITEL 1989). Használatának e nehézkessége ellenére a dohányt hosszú távú biomonitoring kísérletekben is alkalmazták (NALI et al. 2006), mivel bizonyítást nyert, hogy az ózon bioindikátor növények között a leginformatívabb a levegő ózonkoncentrációit illetően (RIBAS és PENUELAS 2003). Ezek a növények hatékonyan azonban csak rövid ideig, és alacsony terhelés mellett alkalmazhatók, mivel ózon hatására a teljes lombzat gyors ütemben nekrotikussá válik. A *Trifolium repens* faj „Regal” kultivarjának egyedei az USA-ban az 1980-as évek végén történt szabadföldi kísérlet során ózonérzékenység tekintetében eltérést mutattak. A különböző érzékenységet mutató egyedek továbbszaporításával alakították ki az NC-S (szenzitív) és NC-R (rezisztens) genotípusokat. Ez a genotípuspár normál légköri ózonterhelés mellett a látható tünetek megjelenésének mértékén túl eltérést mutat a biomassza-termelésben is. Ezeknek a különbségeknek az oka máig tisztázatlan (NALI et al. 2005). A bokorbab két genotípusának ózonérzékenységét is eltérőnek találták egy OTC kísérlet során: mesterséges ózonkezelést követően az R123 (rezisztens) genotípus – melyre az alkalmazott kezelés szinte egyáltalán nem volt hatással – mind terméshozamban, mind biomassza-termelésben felülmúlta az S156 (szenzitív) genotípust (FLOWERS et al. 2007).

1996 és 2008 között az International Cooperative Programme on Effects of Air Pollution on Vegetation (ICP-Vegetation) kutatói hálózata a HEAGLE et al. (1995) által kifejlesztett, és a *Trifolium repens* szenzitív és rezisztens genotípusainak használatán alapuló rendszert alkalmazta az ózon hatásainak megfigyelésére és értékelésére egész Európában és az USA-ban (HEAGLE et al. 1995). Kezdetben a két genotípus biomassza-termelését hasonlították össze, a látható tünetek

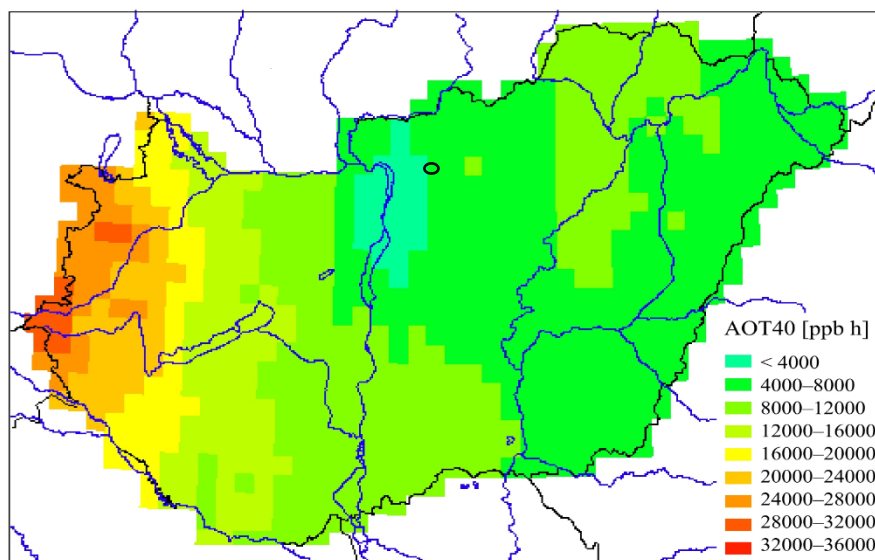
megfigyelése csak a későbbiekben került előtérbe (HARMENS et al. 2006). Az ebből a hosszú távú biomonitoring kísérletből származó adatok feldolgozása és értékelése HARMENS et al. (2004) és HARMENS et al. (2005) munkáiban tekinthető meg. Önálló tanulmányok is szép számmal születtek a fehér here genotípuspár használatával (KARLSSON et al. 2003b, POSTIGLIONE et al. 2000). Az ICP-Vegetation kísérleti protokolljával 1997 és 1998 folyamán nagy volumenű vizsgálatot folytattak a Ruhr-Vidéken, melyben a szenzitív és rezisztens fehér here genotípusokon mutatkozó látható tünetek, azok fehérjetartalma és biomassza-termelése került értékelésre. Ennek a tanulmánynak az alapján a fehér herén mutatkozó látható tünetek a két genotípus biomassza-arányánál megfelelőbb indikátor tulajdonság, amennyiben a kísérleti helyszínen az ózonkoncentráció viszonylag alacsony, vagy, ha a kísérlet célja az ózon korai hatásának kimutatása. Igaz, hogy a látható tünetek alapján nem vonható le pontos következtetés a levegő ózonszintjére vonatkozóan, a szenzitív genotípusok tüneteinek kiterjedtsége mégis sok esetben jó összefüggést mutat azzal (MILLS et al. 1999, RIBAS és PENUELAS 2003).

A *Centaurea jacea* fajt ózonszenzitív voltának felfedezése óta (BUSE et al. 2003) használják bioindikációra: 2002-ben az ICP-Vegetation ózon biomonitoring kísérletét ennek a fajnak a szenzitív és rezisztens genotípusával folytatták le (HARMENS et al. 2006). Minthogy nagy leveleken egyszerűbb az ózontünetek értékelése, az ICP-Vegetation 2008 óta áttért a *Phaseolus vulgaris* szenzitív és rezisztens genotípusainak használatára biomonitoring kísérleteiben. Alkalmazásukat először REINERT és EASON (2000) írta le, majd BURKEY et al. (2005) próbálta ki széleskörűen.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1 Kísérleti helyszínek

Kísérleteinket két helyen folytattuk. Túlnyomó részüket Gödöllőn, a Szent István Egyetem Botanikus Kertjében. Gödöllő az északi szélesség $47^{\circ}36'$ fokán és a keleti hosszúság $19^{\circ}21'$ fokán fekszik 249 m tengerszint feletti magasságon. Klímája mérsékelt kontinentális, az évi középhőmérséklet 9 és 10 °C között van. Az átlagos évi csapadékmennyiség 560 mm. Távolsága a fővárostól 30 kilométer, tehát a főváros szennyezett levegője a légtömeg mozgásának következtében befolyással van az itt kialakuló fotokémiai szmog mértékére. Bár az uralkodó szélirány Nyugat-északnyugati, Budapest pedig inkább Délnyugatra fekszik, a közelség miatt a városban uralkodó légköri viszonyokat meghatározza Budapest erősen szennyezett levegője, melynek helyi fotokémiai átalakulásai az itteni valamivel alacsonyabb NO_x szennyezettség miatt már az ózon kialakulásának kedveznek, bár még nem olyan mértékben, mint a fővárostól jóval távolabb fekvő, vagy hegyvidéki területeken (2. ábra).



2. ábra: Magyarország modellezett ózontérképe. Az értékek az AOT40 óras átlagértékek összegét jelentik 1997 júliusában, 50 W/m^2 -nél magasabb globálsugárzás esetén (MÉSZÁROS és LAGZI 2007). (A fekete karika Gödöllő elhelyezkedését jelöli.)

A 4.3. fejezetben bemutatott mérésorozatot a Ljubljana-i Egyetem Agronómia Tanszékéhez tartozó földterületén mezőgazdasági árnyékoló háló alatt beállított kísérleti helyszínen végeztük Ljubljana Szlovénia területén, az északi szélesség $46^{\circ}03'$, a keleti hosszúság $14^{\circ}30'$ fokánál, 295 méter tengerszint feletti magasságon fekszik. Éghajlata óceáni, de szubtrópusi és kontinentális jelleggel. Évi középhőmérséklete 10 °C, évi átlagos csapadékmennyiség 1400 mm. Ennek a mintegy 272000 lakosú városnak a légköri viszonyait jelentős mértékű közlekedése és fosszilis tüzelőanyag-felhasználása határozza meg. Uralkodó szélirány a kísérleti növények tenyészidőszakában Nyugat-

délnyugati és Északkeleti volt. A Kelet- Délkeleti és Északnyugati irányok alkotta körívről érkező széljárással kisebb ózonkoncentráció-értékek jártak együtt. Ennek megfelel, hogy a mérőállomástól az Északi és Keleti irányokba a város forgalmas része esik.

3.2 *Tesztnövények*

Kísérleteinkhez a bokorbab – *Phaseolus vulgaris* L. ózonérzékeny S156 és ózonrezisztens R123 genotípusait, valamint a fehér here – *Trifolium repens* L. cv. Regal ózonérzékeny NC-S és ózonrezisztens NC-R genotípusait használtuk. Az ültetéshez a szaporítóanyagot az ICP-Vegetation vezetőségétől kaptuk. A növényeket 28 cm átmérőjű, 10 literes cserepekbe ültettük. A növények ültetése, gondozása az ICP-Vegetation (HAYES et al. 2006) protokollja alapján történt.

3.3 *Meteorológiai adatok*

Adataink a Szent István Egyetem Növénytani és Ökofiziológiai Intézetének a gödöllői Botanikus Kertben elhelyezett meteorológiai állomásáról, valamint a Ljubljani Egyetem Agronómia Tanszékének a kísérlet helyszínéhez közel elhelyezett meteorológiai állomásáról származnak.

Kísérletünk eredményeinek értékelésekor mi az egyszerű, koncentráció alapú megközelítést választottuk az ózonterhelés mértékének jellemzésére, mivel adataink gyűjtése idején a bioindikációs vizsgálatoknál alkalmazható fluxusalapú mérőszámok a vizsgált növényfajokra még nem jelentek meg a szakirodalomban vagy protokollokban, és a fluxusalapú megközelítés kísérleti növényeinkre és a kísérlet körülményeire specifikus, és nagyszámú mérés feldolgozását igénylő egyéni modell létrehozását tette volna szükségessé. Az ózonértékeket a dolgozatban a ppb-ben mért koncentráció; az óras átlagos koncentrációk bizonyos időszak alatt mért kumulatív összege (ppbh, ppmh), vagy AOT40 (mértékegysége ppb), vagy kumulatív AOT40 (mértékegysége ppbh, ppmh) formában adtuk meg. Az AOT40 az óras átlagos ózonkoncentrációknak azon kritikus érték (40 ppb) feletti része, mely a WHO levegőminőségre vonatkozó szabályzata alapján a növényi szervezetre már kimutathatóan káros hatással van. Ezt a kritikus értéket a növényi ózonválasz kialakulása alapján határozták meg (FUHRER et al. 1997), és mint “Accumulated exposure Over a Threshold of 40 ppbh” (AOT40) fejezik ki (WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) 2000). A kumulatív AOT40 értéke az AOT40 átlagos óras értékeinek egy bizonyos idő alatt összeadódó összege.

Vizsgálatainkhoz és a kísérleti növényeken megfigyelt válaszreakciók magyarázatához felhasználtuk még a meteorológiai állomásokról származó hőmérséklet, szélirány, szélesebesség, vízgőznyomás-hiány (vapour pressure deficit, VPD), valamint a fotoszintetikus fotonáram-sűrűség (photosynthetic photon flux density, PPFD) adatokat.

3.4 Szövetteni vizsgálatok

Gödöllőn, 2009 telén üvegházban is neveltünk növényeket, hogy különböző paramétereknek az ózonstressztől mentes időszakban a két genotípus között mért különbségének értékeit referenciaként használhassuk, összehasonlítva a nyári magas O₃ szennyezettség mellett mért különbségek értékével. A szövetteni vizsgálatokhoz 2 alkalommal került sor mintavételre, először a téli időszakban, – amikor számottevő troposzférikus ózonerheléssel nem kellett számolni – érett, teljesen kifejlett levelekből. A téli növények üvegházban, kontrollált körülmények között növekedtek. A második mintavételre, mely fiatal, kifejlett, és idős (szenzitív növényeknél tünetes) levelekből történt, augusztusban került sor, miután a növények hosszú időn keresztül magas ózonerhelés mellett fejlődtek. Az azonos növényeken található három különböző fejlettségi fázisú levélből mintavételkor 5-5 darabot gyűjtöttünk be, melyeket a következőképpen határoztunk meg (ez a meghatározás kizárólag a jelen kutatás különböző állapotú levélmintáinak jellemzésére szolgál).

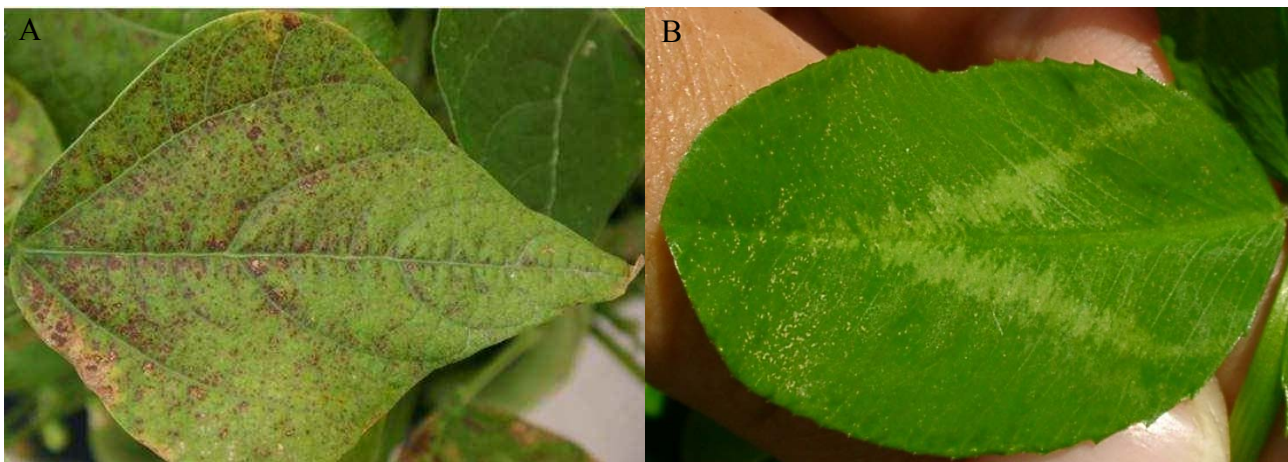
Fiatal levelek *P. vulgaris* esetében azok a lomblevelek, melyek középső levélkéje maximum 7 cm hosszúságú, világoszöld, levéllemeze vékony. *Kifejlett* levelek azon lomblevelek, melyek középső levélkéje legalább 10 cm hosszúságú, élénkzöld, látható tünetek vagy szenescens részek nem találhatóak rajta. *Idős* levél a 10 cm-nél hosszabb középső levélkével rendelkező, sötétzöld lomblevél, mely szenzitív növény esetén a tipikus látható tüneteket (lilas elszíneződéseket), rezisztens növény esetén a szenescencia kezdeti jeleit mutatja. *T. repens fiatal* levelei azok, amelyek középső levélkéje maximum 2,5 cm hosszú, világoszöld, vékony. *Kifejlett* levelek azok, melyek középső levélkéje legalább 3 cm hosszú, élénkzöld, tüneteket, vagy egyéb elhalt, szenescens részeket nem tartalmaz, ép. *Idős* levelek a legalább 3 cm hosszú középső levélkével rendelkező, sötétzöld, vagy kissé fakó színű lomblevelek, melyek szenzitív növényeken tipikus látható tüneteket (fehér színű nekrotikus foltokat), rezisztens növényeken a szenescencia első jeleit mutatják.

A folyamatos megfelelő vízellátást télen és nyáron is öntözéssel biztosítottuk. A téli mintákat az adatok elemzésekor referenciának használtuk, mint az ózonerhelést nem szenvedett növényekből származó vizsgálati anyagot, de kizárólag a genotípusok összehasonlításához. Vagyis a tulajdonképpeni referencia-érték itt az eltérő genotípusokon mérhető paraméterek aránya volt. Bár a kísérleti körülmények a két különböző évszakban – alapvetően a megvilágítás tekintetében – eltérőek voltak, a két genotípus mindkét alkalommal egyforma feltételek mellett nevelkedett. Ezért úgy véltük, hogy a két genotípus között télen mért *eltérések* szolgálhattak az ózonerheléstől mentes időszakot jellemző értéként, amely mellett jobban kiütközik a nyáron tapasztalható klimatikus viszonyoknak a két genotípusra gyakorolt eltérő befolyása. A télen és nyáron mért adatokat kizárólag olyan kontextusban hasonlítottuk össze, hogy a két genotípus mennyiben reagált eltérően a két évszak eltérő klimatikus viszonyaira.

Magvetésre (bokorbabnál) és a sztolók elültetésére (fehér herénél) a téli mintavételhez 2008 decemberében, a nyári kísérlethez 2009 májusában került sor. A mintavétel a vetéstől/ültetéstől számítva 3 hónap elteltével történt.

Mintavétel télen mindkét bioindikátor faj mindkét (szenzitív és rezisztens) genotípusának 3 egyedéből, egyedenként 3-5 kifejlett levélből történt, mind az epidermisz-lenyomatokhoz, mind a keresztmetszet készítéshez. Nyáron szintén 3-3 egyedről, de három különböző (fiatal, kifejlett és idős) fejlettségi állapotú levélből, fejlettségi állapotonként szintén 3-5 levélből vettünk mintát. A szenzitív leveleknél a kifejlett levelek közül a tünetmentes, idős levelek közül a tünetes leveleket választottuk ki a mintavételre, bár az idős szenzitív levelek kevés kivétellel mutatták a tipikus látható tüneteket (3. ábra).

A szövettani méréseket gázcsere-mérésekkel egészítettük ki, melyekre mintavétel előtt került sor. A méréseket a később a szövettani vizsgálatokhoz felhasznált, ép és kifejlett (még nem tünetes és nem szenescens) leveleken végeztük el. Az egész vegetációs periódus alatt folyamatosan gyűjtöttük a meteorológiai és az ózonszennyezésre vonatkozó adatokat.



3. ábra: Tipikus látható ózontünetek A) *P. vulgaris* S156 (SANZ és CALATAYUD 2009), és B) *T. repens* NC-S genotípuson (saját felvétel)

3.4.1 Epidermisz lenyomatok

Az epidermisz lenyomatokat GARDNER et al. (1995) nyomán készítettünk, és ELAGÖZ et al. (2006) nyomán vizsgáltuk. A levéllemezek mindkét oldaláról szintelen körömlakkal készítettünk lenyomatot, melyet körülbelül 1 cm² területre egy rétegben vittünk fel, a főér két oldalán, a levéllemez legszélesebb, középső szakaszában, a nagyobb erek elkerülésével. Néhány órát a növényen száradni hagytuk, majd a lakkréteget lehántottuk, és egy csepp vízzel tárgylemezre helyeztük. Mikroszkóp alatt azonnal felvételeket készítettünk, hogy elkerüljük a lenyomat elmosódását. Genotípusonként és kezelésként (téli növények, nyári fiatal, kifejlett vagy idős levél) 50 felvételt elemeztünk a levéllemez mindkét oldaláról.

A következő paramétereket mértük: a sztómák négyzetmilliméterenkénti száma és mérete, a zárósejtek mérete, epidermisz sejtek négyzetmilliméterenkénti száma és mérete az alsó és a felső epidermiszen. Ezekből számított paraméter a sztómaindex [sztómaszám/(sztómaszám+epidermisz sejtszám)] \times 100, mely normalizálja azt a hatást, amit az epidermiszsejtek expanziója tesz a sztómaszámra (STENGLIN et al. 2005). A sztómanyitottságot a légrés szélességének és hosszúságának arányával jellemeztük.

3.4.2 Keresztmetszet

A keresztmetszeteket BALDINI et al. (1997) nyomán készítettük. A mintákat a levelek középső régiójából vettük, melyeket formalin-ecetsav- 95% etanol – desztillált víz, 10:5:50:35 arányú elegyében fixáltunk, majd dehidratáltuk egy etanol hígítási sorral, végül GMA gyantába ágyaztuk. A metszeteket a gyantába ágyazott levéllemezekből a főérre merőlegesen készítettük kézi mikrotommal (Reichert GmbH, Wien). A metszeteket tárgylemezre helyeztük és toulidinkéssel 5 percig festettük. Fedőlemezzel lefedtük, majd mikroszkóp alatt felvételt készítettünk a metszetekről. Genotípusonként és kezelésként (téli növények, nyári fiatal, kifejlett vagy idős levél) 30-30 felvételt elemeztünk. A mért paraméterek: levéllemez-vastagság, felső és alsó epidermisz vastagsága, paliszád és szivacsos parenchima vastagsága (WANG et al. 2007), a paliszád és szivacsos parenchima kerülete, területe és szivacsos és paliszád parenchima négyzetmilliméterenkénti sejtszáma. A mért paraméterekből számított paraméterek: mezofillum vastagság, összparenchima (négyzetmilliméter keresztmetszet felületen mért) kerülete és területe, paliszád és szivacsos parenchima összparenchimához viszonyított aránya, mezofillumsejtek felülete és térfogata, paliszád és szivacsos parenchima sejtek felülete és térfogata (MIYAZAWA és TERASHIMA 2001), paliszád és szivacsos sejt átlagos keresztmetszeti területe, intercellulárisok térfogata, paliszád és szivacsos parenchimák vastagságának aránya, paliszád és szivacsos parenchimák területének aránya, intercellulárisok aránya. SYVERTSEN et al. (1995) egyenlete alapján az intercelluláris tér gázkonduktanciája (g_{ias} , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) = $(fias)^{1,55}/lk$ ahol 1,55 hatványkitevő a diffúziós út egyenletlenségét írja le, $fias$ az intercellulárisok levélen belüli aránya, l a parenchima vastagsága, és k egy állandó, melyet a szerzőkhöz hasonlóan mi is 1-nek vettünk. Az idézett számítás eredetileg különböző gyümölcsfajok hiposztomatikus leveleire, és CO_2 -ra vonatkozik; mi azonban, az intercelluláris járatok gázátjárhatóságára vonatkozó, közelítő információként mindkét vizsgált fajnál ezt a számítást alkalmaztuk. A konduktancia-érték számítások a sztómakonduktancia esetében is a szén-dioxidra kiszámított konduktanciát vonatkoztatják át vízgőzre, ilyen közelítéseket tehát a tudományban gyakorta alkalmaznak. Mindazonáltal esetünkben a g_{ias} érték csupán durva közelítésnek tekinthető, melyet az egyes genotípusok szöveti tulajdonságainak összehasonlítására alkalmazunk, semmint a kísérleti növényfajok fizikai tulajdonságainak egzakt leírására.

Az epidermisz lenyomatokról 5×10-es 6×10-es, 6×20-as, 6×40-es, 9,3×10-es (a sejtek számlálásához), 9,3×20-as vagy 9,3×40-es (a sejtméretek meghatározásához) nagyításban készültek felvételek, de ezek közül végül szinte kizárólag a 9,3×10-es (a sejtek számlálásához), valamint a 9,3×20-as (a sejtméretek meghatározásához) nagyítású felvételeket használtuk. A keresztmetszetek 6×20-as (a sejtek számlálásához és a levélszövetek vastagságának méréséhez) vagy 6×40-es nagyításban (a sejtméretek meghatározásához) kerültek lefényképezésre. A fényképezőgép típusa G9 Power Shot (Canon Inc., Tokyo, Japan), melyet DM 2500 fénymikroszkópra (Leica Microsystems Inc., Wetzlar, Germany) szereltünk. A képek elemzéséhez használt szoftver az UTHSCSA Image Tool volt. Mintavétel előtt minden levélen végeztünk gázcsere-méréseket CIRAS-2 Portable Photosynthesis System (Version 2.02., PP systems, Hitchin, UK) infravörös gázanalizátorral. A szenzitív/és rezisztens genotípusok, valamint a különböző fejlődési fázisok sztómakonduktanciáját, intercelluláris CO₂ koncentrációját, transzspirációját és nettó fotoszintézis intenzitását hasonlítottuk össze.

3.5 *OTC kísérlet*

Vizsgálatok: 2008-ban július és november között, valamint 2009. június és augusztus között mindkét faj mindkét genotípusából 3-3 cserepet helyeztünk 700 ppm CO₂-al ellátott OTC-be, légköri levegő keringtetéses OTC-be, valamint kamra nélküli szabadföldi plotokba a Szent István Egyetem Botanikus Kertjében. A cserepekben fehér here növényekből 2 db sztólóból hajtattott anyatövet, bokorbab növényekből 2 db magról kelt növényt helyeztünk el. A növényeken 2008. június és november, valamint 2009. június és július között 5 alkalommal mértünk sztómakonduktanciát (AP4 Porometer AT, Delta-T Device, UK) és fluoreszcencia-indukcót (Handy PEA Fluorescence Measurement System, Hansatech Instruments, UK). Nyolc-tíz alkalommal felvételeztük a látható tünetek %-os arányát és a levél/virág/termésszámot valamint 3-5 alkalommal a hüvelytermések (bokorbab) vagy a föld feletti biomassza (fehér here) száraztömegét. Bokorbab esetében betakarítás után újonnan vetett növényekkel dolgoztunk, a fehér here betakarítása a növények leveleinek 4-5 cm magasságban való visszanyírását jelentette, miután az adott növény újonnan fejlesztett lombozatán folytatódottak a vizsgálatok. Ennek megfelelően a „növedék” fehér here esetében az egy levélnövedék kihajtásának kezdetétől (utolsó betakarítástól) az anyatövekről történő lemetszésig eltelt időt, a bokorbab esetében pedig a magról kelt növények teljes életciklusát jelenti.

A meteorológiai- és ózonadatokat az Országos Meteorológiai Szolgálat, valamint a Szent István Egyetem Növénytani és Ökofiziológiai Intézetének Gödöllői meteorológiai állomásairól gyűjtöttük. A méréseket mérési időpontonként, kezelésenként és növényenként 3-5 ismétlésben végeztük el.

Vizsgált paraméterek: károsodás %-os aránya, valamint ennek átlagos hetenkénti változása 2 mérés között. Levél/virág/termésszám, valamint ezek átlagos hetenkénti változása 2 mérés között.

Száraztömeg, valamint ennek átlagos hetenkénti gyarapodása. Sztómakonduktancia (gs), maximális fotokémiai hatékonyság (Fv/Fm), potenciális fotoszintetikus kvantum-konverzió (RFd). A vizsgálati módszerek magukban foglalják a vizsgált paraméterek S/R arányának meghatározását, amennyiben ez a relatív megközelítés reprezentatívabb információkat nyújt a két genotípus elkülönített vizsgálatánál.

A látható tünetek értékelése fehér here esetén a növények károsodásának becsült mértéke alapján történt, melyet %-ban adtunk meg növényenként, majd ezeket a százalékokat átlagoltuk egy adott plotban. Bokorbab növényeknél az ICP-Vegetation protokollja (ICP-VEGETATION 2012) három kategóriát ad meg a levelek károsodottságának becslésére: az 1-5%-os, az 5-25%-os és a > 25%-os károsodást. A „Plant Injury Index” kiszámítása a $PII = (LA \times AA) / 100$ képlet alapján történik, ahol LA= a károsodott levelek száma százalékban, és AA= a levelek károsodottságának átlagos mértéke %-ban. A Gödöllőn végzett OTC kísérletsorozatnál mi ennek a mérőszámnak (CALATAYUD et al. 2007) egy általunk továbbfejlesztett változatát alkalmaztuk, amelyben megszámloltuk növényenként az egyes, az ICP protokollja szerinti kategóriákba (lásd feljebb) sorolható levelek számát, majd ezeket elosztottuk az adott növényen található összes levélszámmal. A kapott hányadosokat az első kategória esetén 0,03-mal, a második kategóriában 0,15-tel, a harmadik kategóriában pedig 0,6-tal (az egyes kategóriák körülbelüli középértékével) szoroztuk meg. Ezeket az értékeket összeadtuk, így kaptuk meg az egyes növények károsodottságának mértékét. Az egyes plotokban mérhető károsodottságot genotípusonként hat növényen mért százalékos károsodottság átlagában adtuk meg.

Az ózonerhelést ehhez a kísérlethez mind az összes kumulatív ózonerheléssel (az óras átlagértékek összege egy adott expozíciós időszakban, mértékegysége ppbh, ppmh) mind a kumulatív AOT40 (az óras átlagértékek fitotoxikus 40ppb feletti részének összege megadott expozíciós időszakra, mértékegysége ppbh, ppmh) értékkel megadtuk, azt is vizsgálva, hogy az egyes paraméterekkel ezek közül melyik ad jobb összefüggést. A hetenkénti változások követésekor a hetenkénti kumulatív ózonértékek átlagát vettük egy adott időintervallumban. Ez az intervallum vagy a két mérés között (virágszám, termésszám, levélszám esetében), vagy a vetéstől (bokorbabnál) vagy a mérés előtti utolsó betakarítástól (fehér herénél) a mérésig eltelt időszak (száraztömeg esetében). Az élettani paramétereknél, ahol nem a hetenkénti változásokat követtük nyomon, hanem az egy adott időpontban mérhető aktuális értékeket akartuk összehasonlítani, a vetéstől (bokorbab), vagy az utolsó betakarítástól (fehér here) a mérésig számított összes kumulatív ózonerhelést vettük alapul. Az ábrákon az itt leírt időintervallumokat „expozíciós időszak”-ként neveztük meg.

3.6 Esettanulmány egy európai biomonitring program Ljubljanában kihelyezett kísérleti növényein

2009. július 22-én, 25-én és 26-án Ljubljanában az ICP-Vegetation 2009-es biomonitring programjának (MILLS et al. 2011b) keretében kihelyezésre került bokorban növényeken napközben óránként gázcserét és fluoreszcencia-indukciót mértünk, a gázcsere és a sztómakonduktancia különböző meteorológiai paraméterekkel összefüggő változásának meghatározása, valamint a mért paraméterek napi meneteinek összehasonlítása érdekében, légköri CO₂-szinteken. A kísérlethez genotípusonként 5-5 növényt használtunk. Minden mérést három ismétlésben végeztünk, a méréseket pedig mindig ugyanazokon a leveleken végeztük el. A klorofill fluoreszcencia mérésekhez használt fluorométer típusa PAM-2000, DLC-8 típusú sötétadaptáláshoz használt klipszekkel (Walz, Effeltrich, Germany). A méréseket a levelek minimum 25 perces sötétadaptációja után végeztük. Ez az idő elég hosszú ahhoz, hogy a nemfotokémiai kioltás minden gyors komponense lecsengjen, de a lassú komponensekre még nincs hatással.

A fluoreszcencia paramétereiket a következő egyenletek alapján számítottuk:

Maximális fotokémiai hatékonyság: $F_v/F_m = (F_m - F_o)/F_m$

A PSII kvantumhozama: $\Phi_{PSII} = (F_m' - F_s)/F_m'$

Stern-Volmer nemfotokémiai kioltás: $NPQ = (F_m - F_m')/F_m'$

A minimális fluoreszcencia nemfotokémiai kioltása: $qF_o = (F_o - F_o')/F_o'$

Potenciális fotoszintetikus kvantum-konverzió (LICHTENTHALER és BUSCHMANN 1987), másképpen a PSII fotoszintetikus kapacitása (LICHTENTHALER és RINDERLE 1988): $RF_d = (F_m - F_s)/F_s$

A fluoreszcencia-indukció méréseket Ljubljanában a fluorométer által kibocsátott 300 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ konstans aktinikus fényintenzitás mellett végeztük, nem pedig az aktuális külső fényintenzitáshoz alkalmazkodó megvilágítással, a következő okból: A violaxantin-zeaxantin átmenetet elsődlegesen a tilakoid membrán két oldala közötti pH gradiens határozza meg, ami elsősorban a fényintenzitástól függ. Emellett azonban számos más tényező is hatással van rá, úgymint a magas hőmérséklet, ami a tilakoid áteresztőképességét változtatja meg, vagy a rendelkezésre álló CO₂ mennyiség, ami az ATP mennyiségét befolyásolja. Az aktuális NPQ kiszámításakor az adott pillanatban mérhető (és nem a napi maximális, vagyis a napfelkelte előtt mérhető) F_m értéket használtuk.

Gázcsere méréseinket Ljubljanában LI-6400XT Portable Photosynthesis System (LI-COR Inc., Lincoln, Nebraska USA) készülékkel végeztük, a fluoreszcencia-mérésekhez használtakkal azonos korú leveleken. A két genotípus transzspiráció (E) és sztómakonduktancia (g_s) értékeiket hasonlítottuk össze.

A károsodás mértékét a „Plant Injury Index” mérőszám szerint határoztuk meg (CALATAYUD et al. 2007). Ennek kiszámítása a $PII = (LA \times AA) / 100$ képlet alapján történik, ahol LA= a károsodott levelek száma százalékban, és AA= a levelek károsodottságának átlagos mértéke %-ban.

3.7 Statisztika

Statisztikai analízishez az IBM SPSS Statistics 20 szoftverét használtuk. A szövettani adatokon általános lineáris modellel univariancia és multivariancia-analízist végeztünk. A szignifikáns különbségeket mutató paramétereket Tukey-féle Post-Hoc teszttel, a legfontosabb különbségeket okozó faktorokat főkomponens-analízissel határoztuk meg. A szövettani mérések adatai genotípusonként és levéltípusonként epidermisz lenyomat esetében 50, levélkeresztmetszet esetében 30 mérés átlagából készültek.

Az OTC kísérlet során a méréseket 3-5 ismétlésben végeztük el. Eredményeink értékelése során az egyes genotípusokon mért adatokat egyváltozós varianciaanalízissel vetettük össze. Az egyes expozíciós időszakok napjainak számát, valamint kumulatív összes ózon és AOT40 értékeit korreláltattuk a látható tünetek mértékével, valamint a morfológiai és élettani mérések adataival. A szenzitív genotípuson mért értékeket a rezisztens genotípuson mért értékekkel elosztva új paraméterekhez jutottunk, ezeken is elvégeztük a korrelációanalízist. Ezt a korrelációanalízist az egyes kezelések összes adatán, az egyes genotípusok adatain, valamint az összes mért adaton is elvégeztük mindkét faj esetében. A korrelációanalízisben a Spearman-féle korrelációs koefficienssel számoltunk, mivel változóink nem normál eloszlásúak és/vagy a vizsgált összefüggések nemlineárisak voltak.

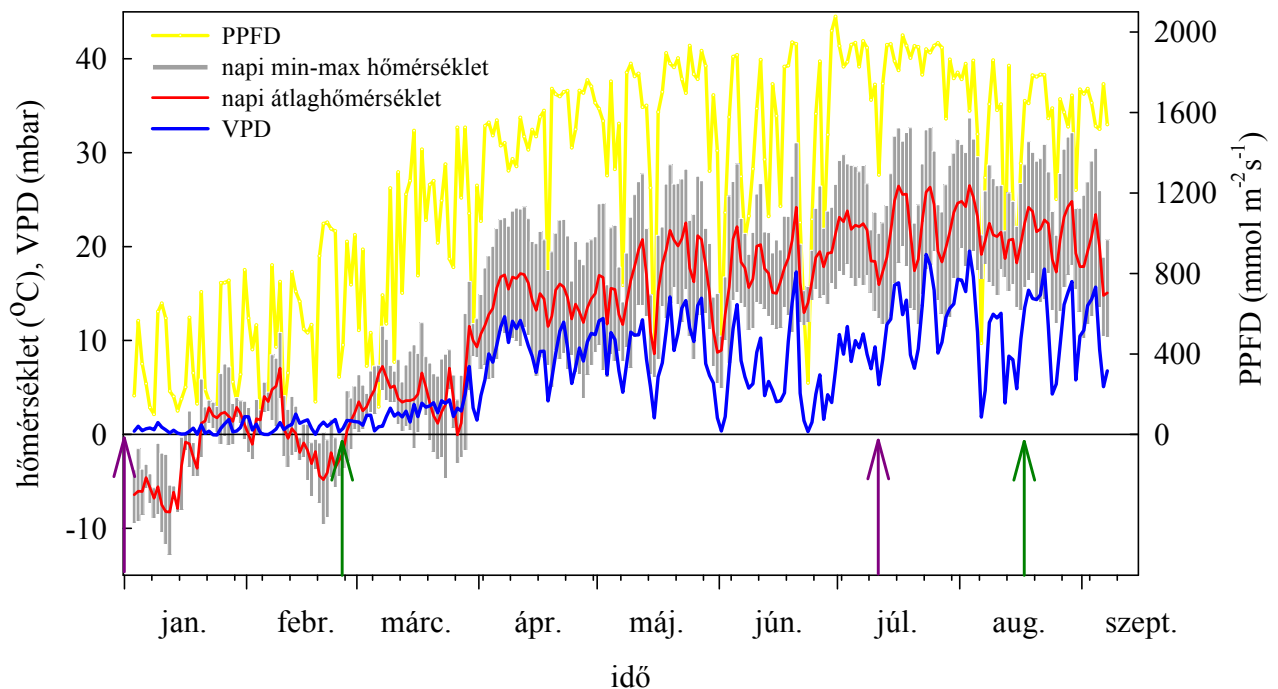
Minden fiziológiai mérést genotípusonként (valamint, ahol releváns, levéltípusonként) három ismétlésben végeztünk el. A napi menet méréseket Ljubljánában délelőtt 8-9 óra között kezdtük és délután 20-21 óra között fejeztük be, óránkénti mérésekkel; fluoreszcencia-indukció mérések esetén három, sztómakonduktancia és transzspiráció mérések esetében két napon át. A két genotípus transzspirációjának és sztómakonduktanciájának napi menetét az általános lineáris modellel hasonlítottuk össze, a fluoreszcencia-indukció paraméterek napi menete során bekövetkező változásokat pedig az általános lineáris modell ismételt mérések (GLM Repeated Measures) módszerrel teszteltük.

4. EREDMÉNYEK

4.1 Ózonszenzitív és -rezisztens növényi genotípusok szövettani összehasonlítása

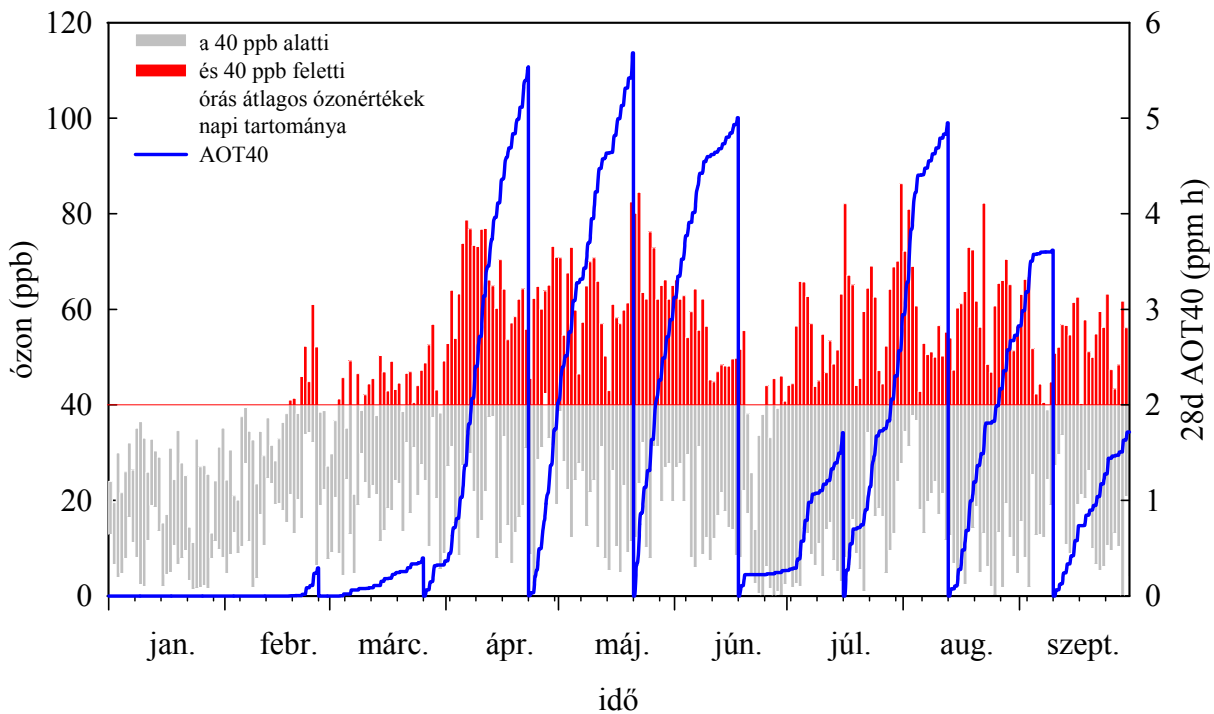
4.1.1 Meteorológiai jellemzők a kísérleti időszakban

A 4. és 5. ábrák szemléltetik a kísérlet időszakában (2009. január és szeptember között) uralkodó, kísérleteink szempontjából fontosabb meteorológiai tényezőket és ózonerhelés-értékeket. Télen napközben a fotoszintetikus fotonflux-sűrűség (PPFD) 400 és 800 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ között változott, az üvegházban a szabályozott hőmérséklet 20°C körüli, míg a páratartalom 80% körüli volt. Nyáron napsütéses időben a PPFD maximum 1800-1900 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, borús napokon pedig 1000-1200 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ között változott. Az átlagos nappali hőmérséklet májusban 20°C, júliusban és augusztusban pedig 25°C körüli volt. A viszonylag esős nyárnak köszönhetően a napi átlag VPD ritkán emelkedett 10 mbar fölé, és a napi maximumok is csak ritkán érték el a 20 mbar-t. A legmagasabb 28d AOT40 május-júniusban mértük, a legalacsonyabb 28d AOT40 július végén, augusztus elején a tartósan alacsony VPD értékekkel egy időben volt mérhető.



4. ábra: A szövettani kísérlet kísérleti időszakának (2009. január-szeptember) fontosabb meteorológiai jellemzői: a fotoszintetikus fotonflux-sűrűség napi maximuma (PPFD), a napi minimum- és maximum-, valamint átlaghőmérsékletek és a vízgőznyomás-hiány (VPD) napi átlagértékei. A téli és nyári vetés vagy ültetés időpontját lila, a mintavételek időpontját zöld nyilak jelölik.

A kumulatív AOT40, ami a vetés vagy az ültetés és a mintavétel időpontja között érte a növényeket, télen 0,108 ppmh, nyáron 5,63 ppmh volt.



5. ábra: Az óras átlagos ózonértékek napi alakulása, valamint a 28 naponkénti kumulatív AOT40 (28d AOT40) a kísérleti időszakban (2009. január 1. és szeptember 31. között).

4.1.2 *A Phaseolus vulgaris* két genotípusára jellemző szövettani tulajdonságok

Mivel a bokorbabnak hiposztomatikus levelei vannak, az epidermiszlenyomatok értékelésekor több figyelmet szentelünk az alsó epidermiszen mért adatoknak. Legtöbb esetben, ha ezt külön nem is emeljük ki, a sztómákkal kapcsolatos paraméterek tárgyalásakor az alsó epidermiszen mérteteket vesszük figyelembe.

Mind a sztómaszám, mind az epidermisz sejtszám télen a szenzitív növényeknél volt magasabb. Nyáron azonban a rezisztens genotípus általában magasabb értékeket mutatott a – főként az epidermisz-lenyomatokon mért – szövettani paraméterek tekintetében, és magasabb sztómaszámmal is rendelkezett, mint a szenzitív genotípus. A sztómaindex (SI) az expanszív sejtnövekedés sztómasűrűségét befolyásoló hatását ellensúlyozó mérőszám, mely relatív módon, az epidermiszsejtsűrűséghez viszonyítva adja meg a sztómasűrűséget (STENGLERIN et al. 2005). A szenzitív növények sztómaindexa általában alacsonyabb volt a rezisztensekéhez képest, de ez a különbség nyáron erőteljesebbnek mutatkozott (1. táblázat).

1. táblázat: A *Phaseolus vulgaris* R123 és S156 genotípusainak alsó és felső epidermisz lenyomatán mért paraméterek átlagértékei a téli időszakban, és a nyári időszak három fejlődési fázisában. A statisztikailag eltérő csoportokat eltérő betűvel jelöltük ($p \leq 0.05$). A könnyebb áttekinthetőség kedvéért vastag betűvel jelöltük a két genotípus közötti, azonos időpontban és azonos fejlettségű levélen mért szignifikáns eltéréseket.

évszak			sztóma-sűrűség (db/mm ²)	epidermiszsejt-sűrűség (db/mm ²)	SI (%)	sztóma területe (μm ²)	légrés területe (μm ²)	zárósejt mérete (μm ²)	légrés hossza (μm)	légrés szélessége (μm)	légrés szélte/hossza	epidermiszsejt területe (μm ²)	légrések összfelülete (μm ² /mm ²)
felső epidermisz													
tél	R	kif	2,31ab	517,8d	0,47ab	243,7ab	49,24ab	97,2ab	17,34a	3,545abcd	0,206bc	2415b	113,5
	Sz	kif	2,0a	470,5d	0,40ab	280,5bc	46,61a	116,9c	21,67bc	2,749a	0,134a	2459b	93,2
nyár	R	fiatal	7,835b	509,9d	1,34ab	224,9a	47,81a	88,5a	15,86a	3,805bcd	0,241c	2100ab	374,6
		kif	4,95ab	241,1ab	1,56ab	302,6cd	66,75c	117,9c	23,69cd	3,565abcd	0,153a	4985e	330,4
		idős	16,123c	282,1bc	5,23c	290,5c	66,69bc	111,9bc	22,18bc	3,862cd	0,178ab	4153cd	1075,2
	Sz	fiatal	0,656a	616,1e	0,10a	220,6a	38,16a	91,2a	17,48a	2,825ab	0,172ab	1668a	25,0
		kif	1,229a	227,8a	0,48ab	338,7d	86,28d	126,2c	25,07d	4,385d	0,178ab	4509de	106,0
		tünetes	5,532ab	300,2c	1,64b	243,0ab	50,3abc	96,4a	21,04b	3,038abc	0,147a	3807c	278,3
alsó epidermisz													
tél	R	kif	197,2b	887,7b	17,91ab	229,5a	55,71a	86,9a	15,77ab	4,350a	0,276ab	1229bc	10987,7
	Sz	kif	264,0c	1245d	16,47ab	237,8a	62,13ab	87,8a	15,49a	5,025abc	0,334c	612a	16400,4
nyár	R	fiatal	292,0cd	1157c	20,07c	254,9ab	56,27a	99,3ab	14,75a	4,824ab	0,332c	1021b	16432,0
		kif	273,3cd	951,9b	22,39d	298,1cd	80,66cd	108,7bc	18,2c	5,583cd	0,308bc	1404cd	22040,1
		idős	200,1b	668,9a	22,65d	329,4de	86,13de	121,6cd	20,66d	5,323bcd	0,263a	2256e	17234,3
	Sz	fiatal	307,8d	1359d	18,41bc	263,5ab	67,72abc	97,9ab	14,91a	5,696cd	0,385d	937b	20842,4
		kif	149,1a	657,3a	18,39bc	362,4e	94,19e	134,1d	19,79d	5,996d	0,303abc	1983e	14041,5
		tünetes	202,3b	827,9b	19,50bc	278,9bc	72,74bcd	103,1b	17,29bc	5,268bc	0,305bc	1578d	14715,4

Nyáron a kifejlett szenzitív levelek alacsonyabb számú (26%-kal az alsó, 31%-kal a felső epidermiszen), de nagyobb méretű epidermiszsejttel, míg a kifejlett rezisztens levelek magasabb számú (csak az alsó epidermiszen, 42%-kal), kisebb méretű epidermiszsejttel rendelkeztek, mint az azonos genotípushoz tartozó idős levelek. Az epidermiszsejtek nagyobb mérete következtében viszont a kifejlett leveleken csökkent a sztómák négyzetmilliméterenkénti sűrűsége az idős levelekéhez képest a szenzitív növényeknél.

Igaz, hogy az idős, tünetes levelekben 36%-kal nagyobb a sztómaszám, mint a kifejlett szenzitív levelekben, a fiatal szenzitív leveleken azonban ismét nagyon magas, 52%-kal magasabb, mint az idős levelekben (1. táblázat). A szenzitív vonal sztómasűrűsége nyáron alacsonyabb volt, mint a rezisztensé (kifejlett rezisztens leveleknél 83%-kal magasabb, mint kifejlett szenzitív leveleknél). Nyáron a rezisztens növények több, míg a szenzitív növények kevesebb sztómát fejlesztettek, mint télen.

A zárósejtek és a sztómák mérete nyáron a következőképpen változott: a növényen legkorábban kifejlődött (a mintavétel időpontjában már idős) levelekhez képest először nagyobb (érett levelek), majd a fiatal leveleken újra kisebb méretűek voltak a szenzitív, míg időben (az időstől a fiatalig) folyamatosan csökkent rezisztens növények esetében (vagyis minél később fejlődött ki egy levél a rezisztens növényeken, annál kisebb méretű sztómák fejlődtek rajta). Emiatt az idős szenzitív levelek sztómái és zárósejtjei kisebbek, mint az idős rezisztens levelekéi, míg kifejlett leveleknél fordított a helyzet. Télen a sztómák és zárósejtek mérete egyforma volt a két genotípusban.

A számottevő troposzférikus ózonterhelés ellenére (5. ábra) nyáron a szenzitív genotípus fotoszintézisének intenzitása 34%-kal magasabb volt, mint a rezisztens genotípusé (2. táblázat). Ez a számottevő különbség a fotoszintetikus rátában azonban nem okozott szignifikáns eltérést a két bokorban genotípus belső CO₂ koncentrációja között. Bár a két babvonal g_s értéke nem különbözött szignifikánsan, az átlagértékek a szenzitív vonalnál magasabbak voltak, ezzel összefügg, hogy az 1. táblázatában látható adatok alapján az S156 genotípusnál télen a sztómasűrűség magasabb és a légrések összfelülete is nagyobb volt, valamint, hogy nyáron a kifejlett leveleknél (amelyeken a gázcsere-mérések is történtek) a sztómák, légrések mérete, légrések hossza és a zárósejtek mérete is a szenzitív genotípusban volt nagyobb.

Az epidermiszlenyomatokon mért paraméterek átlagértékeit a statisztikailag összetartozó csoportok megjelölésével az 1. táblázatban foglaltuk össze. A különböző paraméterek genotípusonkénti, évszakonkénti és fejlődési stádiumonkénti összehasonlítása a Melléklet, 11. táblázatában is megtalálható.

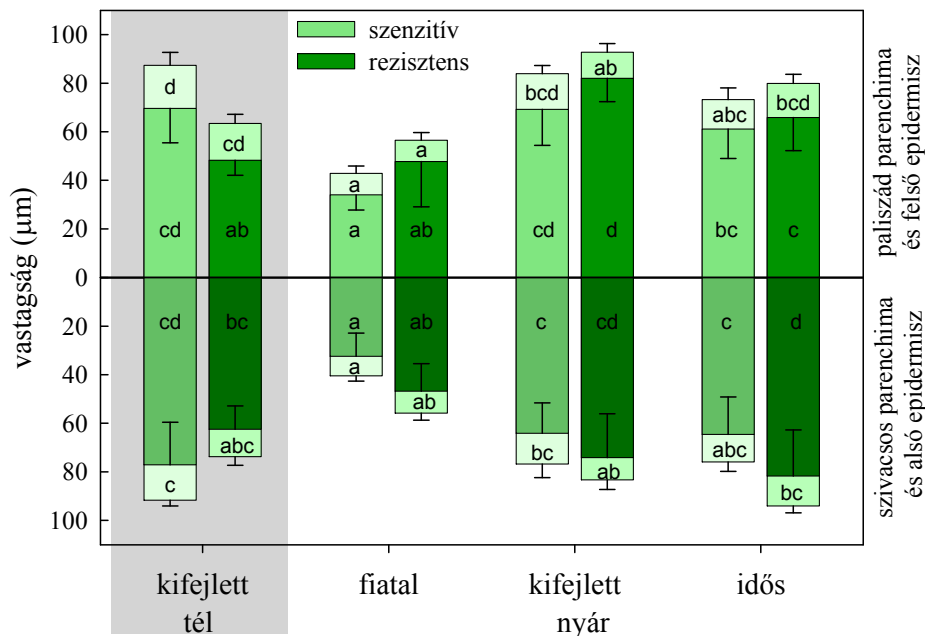
2. táblázat: A *P. vulgaris* S156 és R123 genotípusokban mért fiziológiai paraméterek (A - nettó asszimiláció, E - transzspiráció, g_s - sztómakonduktancia, C_i - belső CO_2 koncentráció, T_L - levélhőmérséklet) átlagértékei és szórásai. A gázcsere-méréseket a kifejlett leveleken végeztük el. A táblázat a két genotípus fiziológiai paramétereit között nyáron és télen mérhető különbségeket mutatja meg. Különböző betűkkel jelöltük a statisztikailag szignifikáns különbségeket $p \leq 0,05$ szignifikancia szinten.

		évszak	genotípus	átlag	SD
<i>Phaseolus vulgaris</i>	A $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	nyár	szenzitív	12,29c	1,76
			rezisztens	9,19b	1,48
		tél	szenzitív	2,71a	0,79
			rezisztens	3,00a	1,31
	E $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	nyár	szenzitív	4,27b	0,98
			rezisztens	3,57b	1,02
		tél	szenzitív	2,97ab	0,56
			rezisztens	2,05a	1,39
	g_s $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	nyár	szenzitív	335,7b	105,3
			rezisztens	269,5ab	125,6
	tél	szenzitív	240,8ab	79,3	
		rezisztens	142,1a	109,7	
C_i ppm	nyár	szenzitív	316,6b	13,34	
		rezisztens	324,4b	14,57	
	tél	szenzitív	322,5b	16,83	
		rezisztens	283,2a	40,19	
T_L $^{\circ}\text{C}$	nyár	szenzitív	24,7b	1,35	
		rezisztens	25,4b	1,64	
	tél	szenzitív	22,3a	1,07	
		rezisztens	23,7ab	0,65	

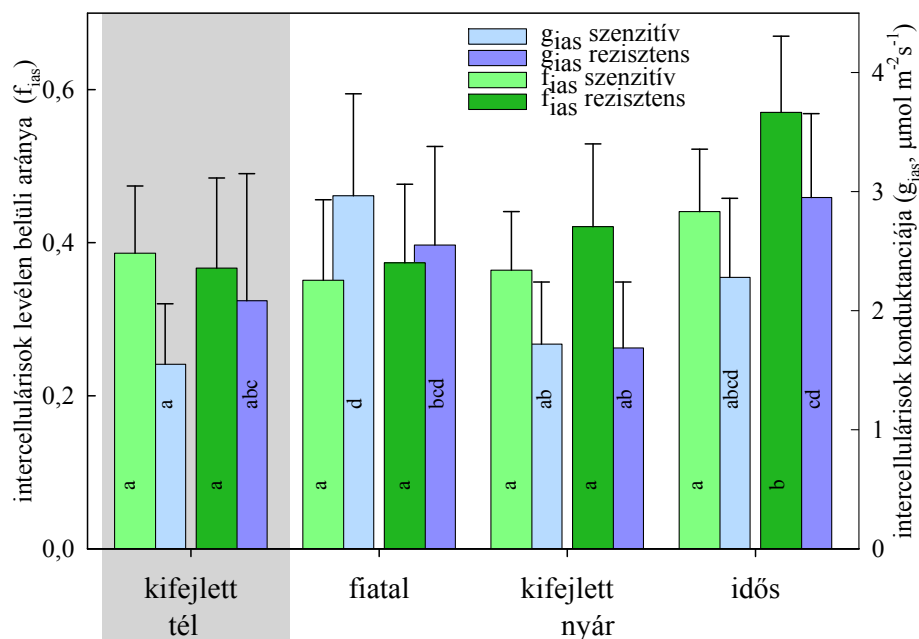
A levél keresztmetszeten mért paraméterek jelentős része (levélvastagság, mezofillum vastagság, paliszád parenchima vastagság, intercellulárisok, mezofillum- és paliszád sejtek felszíne, paliszád és szivacsos parenchima aránya) szignifikánsan magasabb volt augusztusban a téli mérésekhez képest, de csak a rezisztens növényeknél. Ezzel szemben a magasabb fotoszintézis-intenzitás ellenére nyáron az S156 vonal vékonyabb mezofillum réteget és levéllemezt fejlesztett, mint télen. Télen a legtöbb sejt méretet és szövetvastagságot leíró paraméter (levélvastagság, mezofillumvastagság, szivacsos és paliszád parenchima vastagság, átlagos szivacsos sejt méret és térfogat, mezofillum- és paliszád sejtek térfogata és felszíne) szignifikánsan magasabb értékeket mutatott a szenzitív genotípusban (6. ábra, és 3. táblázat. Lásd még: Melléklet, 11. táblázat). Ezek az eltérések azonban a nyári időszak fenotípusos változásai után már nem jelentek meg, sőt, nyáron az eltérések ellenkező irányúak voltak, a rezisztens növények levélszövevei voltak vastagabbak. Nyáron a rezisztens növények korábban létrejött, idős leveleiben kisebb volt a paliszád parenchima, és nagyobb a szivacsos parenchima aránya, mint a később kialakult, kifejlett levelekben (6. ábra). Az idős levelek között a rezisztens növények szivacsos rétege vastagabb volt a szenzitív növényekéhez

viszonyítva, kifejlett levelek esetén pedig az R123 genotípus paliszád sejtjeinek mérete, és szivacsos sejtjeinek térfogata volt nagyobb (3. táblázat).

Nyáron az R123 genotípus mutatott magasabb, az idős levelek esetén szignifikánsan magasabb f_{ias} értéket (7. ábra). A rezisztens levelek intercelluláris terei a levél öregedésével kiterjedtebbekké váltak, amit a szenzitív növényeknél nem tapasztaltunk.



6. ábra: A *P. vulgaris* levélszövevényeinek vastagsága a két genotípus különböző fejlettségi állapotú levelein, télen és nyáron. Az egyes betűk egymástól statisztikailag eltérő csoportokat jelölnek adott szövettípuson belül.



7. ábra: A *P. vulgaris* szenzitív és rezisztens genotípusának intercellulárisainak levélen belüli aránya (f_{ias}), valamint az intercelluláris tér konduktanciája (g_{ias}). A különböző betűjelek a statisztikailag elkülönülő csoportokat jelölik.

3. táblázat: A *P. vulgaris* S156 és R123, valamint a *T. repens* NC-S és NC-R genotípusainak keresztmetszetén mért fontosabb paraméterek átlagértékei. A statisztikailag eltérő csoportokat eltérő betűvel jelöltük ($p \leq 0.05$). Jelzések: L_v: levélvastagság, fep_v: felső epidermisz vastagsága, aep_v: alsó epidermisz vastagsága; M_v: mezofillumvastagság; Pm_v: paliszádmefillum vastagsága; Sm_v: szivacsos mezofillum vastagsága; Pm%: a paliszád parenchima/összparenchima; Pm_ter%: a paliszádmefillum aránya az egész keresztmetszet területén; Fias: az intercellulárisok levélen belüli aránya; Gias: intercelluláris tér gázkonduktanciája; P_xter: átlagos paliszád sejtméret; S_xter: átlagos szivacsos sejtméret; Pvol: átlagos paliszád sejttérfogat; Svol: átlagos szivacsos sejttérfogat; Pv/Sv a paliszád és szivacsos mezofillum vastagságának aránya; Pt/St: a paliszád és szivacsos mezofillum terület aránya a keresztmetszeten. A könnyebb áttekinthetőség kedvéért vastag betűvel jelöltük a két genotípus közötti, azonos időpontban és azonos fejlettségű levélen mért szignifikáns eltéréseket.

évszak	<i>P. vulgaris</i>	L_v μm	fep_v μm	aep_v μm	M_v μm	Pm_v μm	Sm_v μm	Pm%	Pm_ter %	Fias	Gias	P_xter μm^2	S_xter μm^2	Pvol μm^3	Svol μm^3	Pv/Sv	Pt/St	
tél	R	kif	132,8b	15,18cd	11,32abc	106,3bc	48,28ab	62,43bc	,499ab	,266bc	,367a	2,083abc	495,9bc	228,4bc	7556,1b	1593,7ab	,79a	1,052ab
	Sz	kif	182,8e	17,69d	14,55c	150,6e	69,63cd	77,12cd	,506ab	,259bc	,386a	1,55a	529,3bc	353,5d	6720,1b	2949,5c	,992ab	1,118ab
nyár	R	fiatal	106,8a	8,69a	9,04ab	89ab	47,77ab	46,81ab	,522ab	,28bc	,374a	2,551bcd	372,4ab	159,9ab	5214,8ab	1207,3a	1,031ab	1,178ab
		kif	177de	10,69ab	9,14ab	157,2e	82,02d	74,15cd	,582b	,297c	,421a	1,687ab	616,7c	302,7cd	7716,1b	2642,8bc	1,204b	1,478b
		idős	171cde	14,07bcd	12,36bc	144,6de	65,87c	81,66d	,433a	,155a	,570b	2,952cd	362ab	227,2bc	5158,6ab	1778,1abc	0,829ab	,804a
	Sz	fiatal	84,7a	8,91a	8,05a	67,7a	34,03a	32,42a	,48a	,252bc	,351a	2,965d	193,7a	134a	2001,5a	987,2a	1,09ab	,951a
		kif	153,8bcd	14,66bcd	12,67bc	126,5cd	69,21cd	64,14c	,503ab	,266bc	,364a	1,72ab	433,4b	215,3abc	4858,9ab	1235,2a	1,102ab	1,047ab
		idős	148,8bc	12,14abc	11,34abc	125,3cd	61,15bc	64,58c	,454a	,213ab	,441a	2,28abcd	459,2bc	212,6ab	7762,1b	1374,7ab	1,019ab	,86a
évszak	<i>T. repens</i>	L_v μm	fep_v μm	aep_v μm	M_v μm	Pm_v μm	Sm_v μm	Pm%	Pm_ter %	Fias	Gias	P_xter μm^2	S_xter μm^2	Pvol μm^3	Svol μm^3	Pv/Sv	Pt/St	
tél	R	kif	121b	11,57cd	10,57cd	99b	34,87bc	67,63ab	,335a	,146a	,461cd	2,989d	209,1cd	135bcd	2844,3bcd	575,4c	,517b	,527a
	Sz	kif	141c	9,48bc	9,21bc	122,3de	41,67cd	90,73cd	,339a	,145a	,515d	2,952cd	271,6d	114,1b	3960,8d	349,8ab	,516b	,529a
nyár	R	fiatal	89,7a	7,05ab	7,08ab	75,6a	21,25a	97,71a	,308a	,175a	,328ab	2,383abcd	133,7ab	73a	1192,5a	159,3a	,391a	,448a
		kif	151,8c	13,11d	13,34d	125,3de	37,93bcd	61,23de	,298a	,154a	,388bc	1,926a	276,5d	157cd	3564,9cd	487,8bc	,437ab	,433a
		idős	155c	9,58bc	7,57ab	137,9e	44,57d	83,07e	,303a	,163a	,395bc	1,732a	250,1cd	162,2d	2640,4bc	472,1bc	,465ab	,451a
	Sz	fiatal	85,6a	5a	5,6a	75a	19,9a	58,92ab	,272a	,174a	,269a	1,774a	119,3a	77,99a	986,4a	170,6a	,334a	,378a
		kif	137,3bc	9,27bc	9,05bc	119cd	34,86bc	88,91de	,297a	,155a	,408bc	2,12abc	183,4abc	125,1bc	1636,1ab	343,5ab	,395ab	,431a
		idős	119,7b	8,34abc	7,58ab	103,7bc	30,86b	71,53bc	,301a	,143a	,45cd	2,883bcd	192bc	118b	2231,2ab	370,7abc	,441ab	,438a

4.1.3 A *Trifolium repens* két genotípusára jellemző szövettani tulajdonságok

A *T. repens* genotípusain mért szövettani paraméterek átlagértékeit a statisztikailag összetartozó csoportok megjelölésével a 3. és 4. táblázatban foglaltuk össze. A különböző paraméterek genotípusonkénti, évszakonkénti és fejlődési stádiumonkénti összehasonlítása a Melléklet, 12. táblázatában is megtalálható.

Míg télen a szenzitív levelek a vastagabbak, nyáron a fiatal levelek esetében a szenzitív és rezisztens levelek vastagsága megegyezik, a kifejtett leveleknél már a rezisztens levelek valamivel vastagabbak, míg idős levelek esetében már szignifikánsan vastagabbak a rezisztens levelek (8. ábra). A *P. vulgaris*-nál tapasztaltakhoz hasonlóan, a szenzitív genotípusnál sok levélvastagságot meghatározó paraméter magasabb télen, mint nyáron (3. és Melléklet, 12. táblázat). A mezofillum, ezen belül a paliszád és szivacsos réteg külön-külön is télen a szenzitív genotípusnál, míg nyáron a rezisztensnél vastagabb; az alsó és felső epidermisvastagság, valamint a paliszád és szivacsos parenchima sejtek mérete, térfogata nyáron a rezisztens növényben mutat magasabb értéket. Ezzel szemben több, az epidermiszsejtek és sztómák méretét jellemző paraméter télen rezisztens, nyáron szenzitív levelek esetén mutatott magasabb értékeket (4. táblázat). A nyári levelek sztómaszáma és epidermisz sejszáma nagyobb a rezisztens növények esetében, a sztómák, sztómazárósejtek és epidermiszsejtek mérete pedig a szenzitív növényeknél. A felső epidermiszsejtek területe ugyan télen is, nyáron is a szenzitív növényeknél nagyobb, de nyáron a korábban kifejlődött (idős) szenzitív leveleken kisebb méretű epidermiszsejtek találhatók, mint a később kifejlődő (kifejtett) leveleken. Míg télen az NC-R genotípus sztóma- és zárósejt méretei voltak nagyobbak, addig nyáron az NC-S genotípus mutatott minden fejlődési fázisban nagyobb sztómaméreteket.

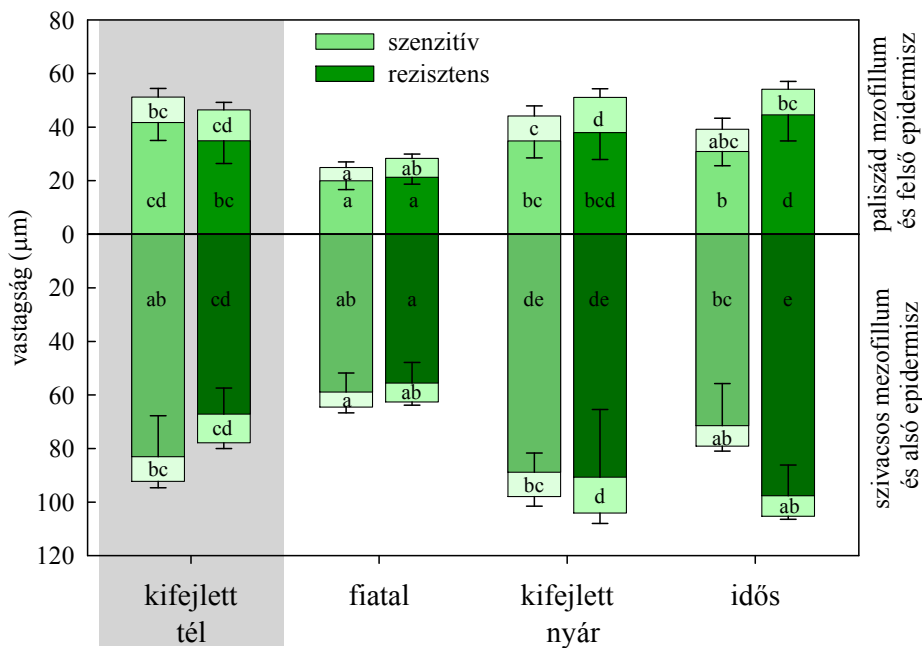
A szövettani mintavételeket megelőző gázcsere-mérések alapján a szenzitív és rezisztens fehér here genotípust összehasonlítva a következőket állapítottuk meg (5. táblázat): A szenzitív növények nettó fotoszintézise a nyári szövettani mintavételezés előtt valamivel magasabb, a téli mintavételkor viszont szignifikánsan alacsonyabb volt. A nyári szignifikánsan magasabb sztómakonduktancia szignifikánsan magasabb transzspirációt eredményezett. Ezzel szemben a belső CO₂ koncentráció csak télen különbözött szignifikánsan, méghozzá a szenzitív növények javára; és a téli azonos mértékű transzspiráció ellenére, a szenzitív növények levélhőmérséklete is csak télen volt szignifikánsan alacsonyabb a rezisztens növényekéihez képest. Az NC-S genotípus szignifikánsan magasabb belső CO₂-szintje télen lehetett a szignifikánsan alacsonyabb CO₂ asszimiláció következménye. A sztómasűrűség és a légrések összfelülete az NC-R genotípus esetén volt magasabb, de az NC-S genotípus nagyobb zárósejt- és sztómamérete és hosszabb sztómányílása összhangban volt ennek magasabb g_s értékeivel.

4. táblázat: A *Trifolium repens* NC-R és NC-S genotípusainak alsó és felső epidermisz lenyomatán mért paraméterek átlagértékei a téli méréskor, valamint a nyári mérési időpont 3 fejlettségi fázisában. A statisztikailag eltérő csoportokat eltérő betűvel jelöltük ($p \leq 0,05$). A könnyebb áttekinthetőség kedvéért vastag betűvel jelöltük a két genotípus közötti, azonos időpontban és azonos fejlettségű levélen mért szignifikáns eltéréseket.

évszak			sztóma- sűrűség (db/mm ²)	epider- miszsejt- sűrűség (db/mm ²)	SI (%)	sztóma területe (μm^2)	légrés területe (μm^2)	zárósejt mérete (μm^2)	légrés hossza (μm)	légrés szélessé- ge (μm)	légrés szélte/ hossza	epider- miszsejt területe (μm^2)	légrések összfelü- lete ($\mu\text{m}^2/\text{mm}^2$)
felső epidermisz													
tél	R	kif	289,6d	1225,3d	19,0bc	85,57b	22,58cd	31,52bc	9,52b	3,02d	0,322cd	813,53b	6560,4
	Sz	kif	218,6ab	1013,1c	17,75b	90,87bc	24,20d	33,35c	10,88d	2,79cd	0,254ab	1136,08d	5275,9
nyár	R	fiatal	287,9d	1205,7d	19,13bc	90,27bc	17,03ab	36,62cd	9,07b	2,36abc	0,257ab	870,88bc	4934,1
		kif	218,0ab	876,4abc	19,86bcd	101,56cd	19,40bc	41,12de	10,43cd	2,34ab	0,221a	1176,13d	4250,1
		idős	242,3bcd	947,0bc	20,31cd	104,78d	20,49bcd	42,22de	9,82bc	2,68bcd	0,272abc	1054,52cd	4983,7
	Sz	fiatal	223,2abc	952,1bc	18,96bc	104,96d	13,21a	45,94e	7,7a	2,18a	0,285bc	1211,22d	3142,7
		kif	191,0a	747,2a	20,44cd	129,12d	21,39cd	54,00f	9,87bc	2,73bcd	0,275abc	1424,4e	4102,5
		idős	238,5abc	846,4ab	21,94d	113,47e	19,77bc	46,93e	9,22b	2,73bcd	0,296bc	1227,6d	4711,9
alsó epidermisz													
tél	R	kif	164,6c	857,9c	16,41bc	304,2de	92,89e	105,57cd	18,1c	6,43c	0,351c	1667,92cd	15370,1
	Sz	kif	101,6a	650,4ab	13,42a	273,6c	85,99de	93,85b	16,71b	6,53c	0,39c	1612,31c	11405,8
nyár	R	fiatal	140,3bc	696,0b	16,73bc	282,29cd	67,51bc	107,24cde	17,84bc	4,8b	0,267b	1569,22c	9722,4
		kif	170,1c	698,7bc	19,51d	265,92c	66,81bc	99,47bc	17,63bc	4,78b	0,267b	1482,74c	12404,0
		idős	153,7bc	619,6ab	19,8d	286,63cd	63,05bc	111,7def	18,31c	4,38ab	0,236ab	1637,51cd	8759,9
	Sz	fiatal	126,9ab	595,9ab	17,3c	291,16cde	56,04ab	117,3ef	18,16c	3,9a	0,21a	1586,32c	7135,6
		kif	121,0ab	512,9a	19,03d	317,57ef	73,56cd	121,76f	19,65d	4,74b	0,237ab	2152,33e	9042,5
		idős	135,8abc	551,9ab	19,61d	340,9f	73,25cd	133,57g	19,69d	4,73b	0,238ab	1900,08de	9989,8

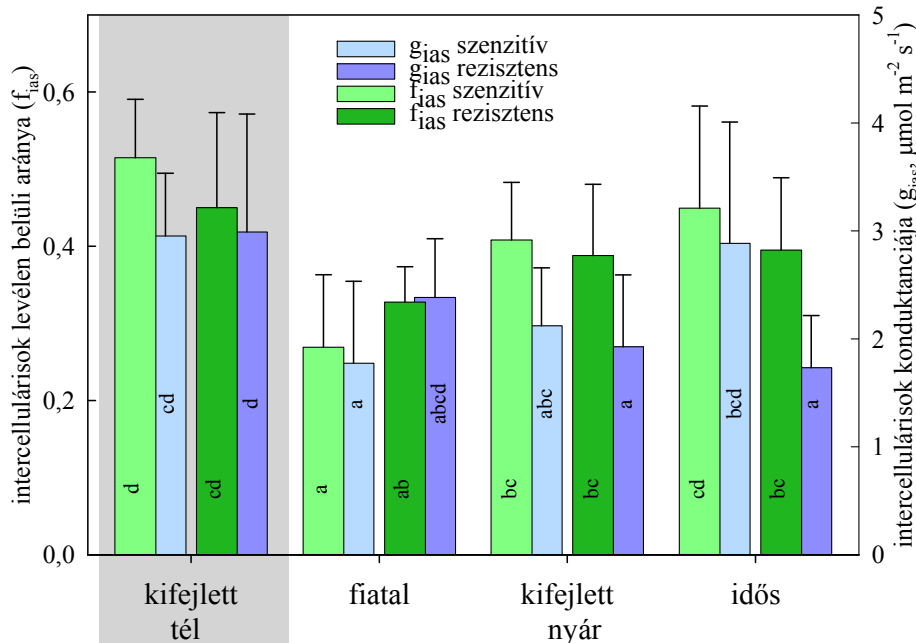
5. táblázat: A *T. repens* fiziológiai paramétereinek átlagértékei és szórásai. (A - nettó asszimiláció, E - transzspiráció, g_s - sztómakonduktancia, C_i - belső CO_2 koncentráció, T_L - levélhőmérséklet) átlagértékei és szórásai. A gázcsere-méréseket a kifejlett leveleken végeztük el. A táblázat a két genotípus fiziológiai paramétere között nyáron és télen mérhető különbségeket mutatja meg. Különböző betűkkel jelöltük a statisztikailag szignifikáns különbségeket $p \leq 0,05$ szignifikancia szinten.

		évszak	genotípus	átlag	SD
<i>Trifolium repens</i>	A $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	nyár	szenzitív	3,39b	1,8
			rezisztens	2,62ab	0,98
		tél	szenzitív	1,74a	0,97
			rezisztens	3,09b	1,06
	E $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	nyár	szenzitív	4,81c	1,04
			rezisztens	3,96b	1,15
		tél	szenzitív	2,62a	0,44
			rezisztens	2,62a	0,66
	g_s $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	nyár	szenzitív	381,9b	128,8
			rezisztens	251,9a	111,1
tél		szenzitív	263,5a	81,2	
		rezisztens	214,0a	87,1	
C_i ppm	nyár	szenzitív	334,6b	8,76	
		rezisztens	333,2b	6,40	
	tél	szenzitív	337,7b	6,14	
		rezisztens	319,1a	8,59	
T_L $^{\circ}\text{C}$	nyár	szenzitív	26,2c	0,96	
		rezisztens	27,0c	0,53	
	tél	szenzitív	18,2a	1,50	
		rezisztens	20,7b	1,67	



8. ábra: A *T. repens* levélszövegeinek vastagsága a két genotípus különböző fejlettségi állapotú levelein, télen és nyáron. Az egyes betűk egymástól statisztikailag eltérő csoportokat jelölnek adott szövettípuson belül.

Az intercelluláris tér aránya szenzitív növényekben nyáron a kifejlett és idős levelekben nagyobb, mint a fiatal levelekben, és az idős levelekben valamivel nagyobb, mint a kifejlett levelekben. A két genotípus f_{ias} értékei között szignifikáns különbséget nem tapasztaltunk. Az intercellulárisok gázkonduktanciája (g_{ias}) nyáron az idős levelek esetén az NC-S genotípusnál volt magasabb. (9. ábra).



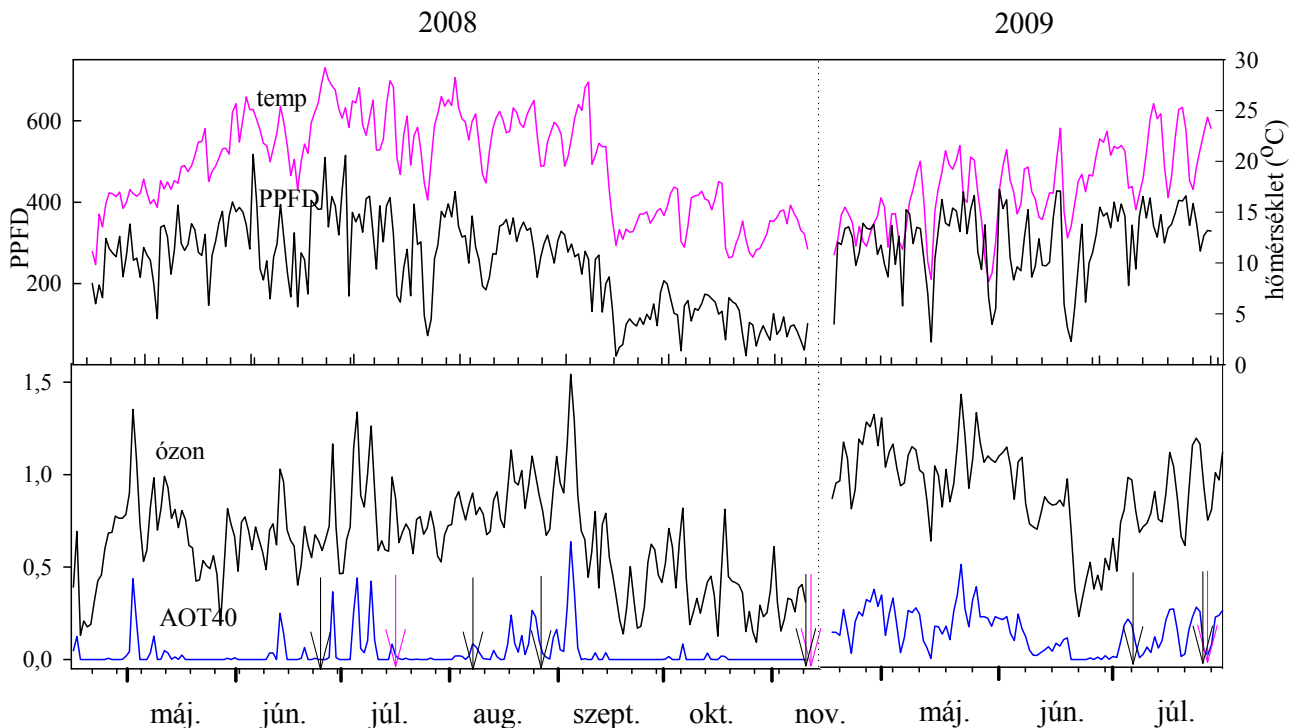
9. ábra: A *T. repens* szenzitív és rezisztens genotípusának intercellulárisainak levélen belüli aránya (f_{ias}), valamint az intercelluláris tér konduktanciája. A különböző betűjelek az egymástól statisztikailag elkülönülő csoportokat jelölik.

4.2 Az emelt légköri szén-dioxid és a légköri ózonerhelés együttes hatásainak vizsgálata

4.2.1 Látható tünetek

Ebben a kísérletsorozatban két egymást követő év vegetációs periódusában 12-12db (hat az S156 és hat az R123 genotípusból) bokorbab, és 12-12db (hat az NC-S és hat az NC-R genotípusból) fehér here növényt helyeztünk ki emelt légköri CO_2 szintű (700 ppm), valamint légköri levegő keringtetéses OTC-kbe (a továbbiakban kontroll OTC-k, és OTC kontroll növények), és kamra nélküli szabadföldi plotokba (a továbbiakban: szabadföld). A bokorbabnak 2008-ban két, 2009-ben egy növedékét, a fehér herének 2008-ban négy, 2009-ben két növedékét (fehér herénél csak levélnövedékről van szó) neveltük fel. Azt vizsgáltuk, hogy az emelt CO_2 szintnek való hosszú idejű kitettséget követően a különböző genotípusok légköri O_3 terhelésre adott válaszreakciói különböznek-e a normál légköri CO_2 szinten nevelkedett növényekéitől. A kísérleti időszaknak a kísérlet szempontjából lényegesebb meteorológiai és ózondatait a 10. ábra szemlélteti. Az ábrán a nyilak a betakarítások időpontjait jelölik. A 2008-ban mért magasabb hőmérséklet ellenére a napi ózonkoncentrációk valamivel alacsonyabban maradnak, mint 2009-ben, bár sokkal határozottabb

kiugró maximális értékekkel. Ezek a kiugró csúcsértékek a napi összes AOT40 változásait jelző kék vonalon is jól láthatók. A 2009-es ózonkoncentráció-értékek magasabban futnak, de csak néhány esetben tapasztalhatók kiugróan magas csúcsértékek.

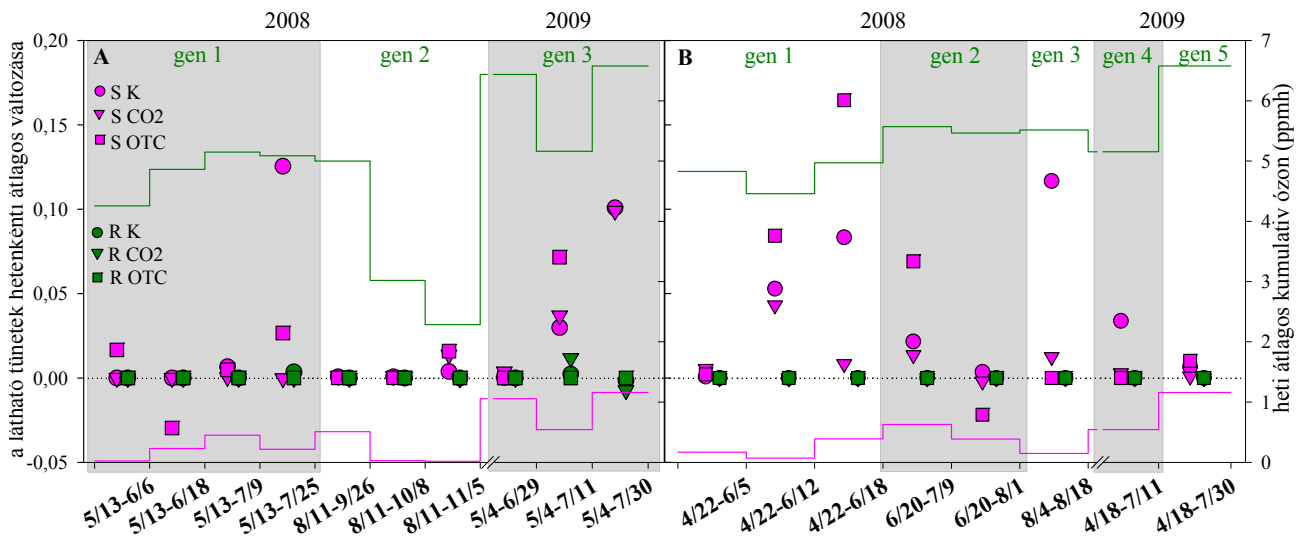


10. ábra: A napi átlagos hőmérséklet (temp, °C) és a fotoszintetikusan aktív sugárzás órák átlagértékeinek napi összege (PPFD, mol/m²/d) valamint az órák átlagos ózonértékek (ózon, ppmh), és az órák átlagos AOT40 értékek (AOT40, ppmh) napi összegei a kísérleti időszakban 2008-ban és 2009-ben. A fekete nyilak a fehér here, a rózsaszín nyilak a bokorbab betakarításának időpontjait jelzik.

A heti átlagos kumulatív ózonerhelés hatása mindhárom kezelésnél nyomon követhető a szenzitív bokorbab leveleken megjelenő tünetek mennyiségének növekedésén, bár ez a hatás olykor csak késleltetve jelentkezik (11A ábra). Rezisztens bokorbabon 2009-ben a látható tünetek kismértékű megjelenését azok arányának azonnali csökkenése követte (zöld szimbólumok).

A szenzitív fehér here tüneteinek hetenkénti átlagos gyarapodása vagy a kontroll OTC (■), vagy a szabadföldi növényeknél (●) a legmagasabb (11B ábra). Ez a kontroll OTC-ben egy alkalommal eléri a 16,5%-os, szabadföldön pedig a 11,6 %-os átlagos hetenkénti növekedést. Emelt szén-dioxidon (▼) a látható tünetek átlagos heti növekedésének maximuma mindössze 4% körüli. Adatainkból azonban egy alkalommal sem mutathattunk ki szignifikáns eltérést a különböző kezeléseken megjelenő tünetek mennyiségében. Rezisztens herén nem figyeltünk meg tüneteket.

A tünetek %-os arányának csökkenése is előfordult kontroll OTC-ben, mindkét fajnál.



11. ábra: A *P. vulgaris* (A) és a *T. repens* (B) látható tünetek arányának átlagos heti növekedése a mérési időpontok között. A zöld vonal az expozíciós időszak kumulatív összes ózonterhelésének, a rózsaszín vonal a kumulatív AOT40 értékeinek heti átlagos növekedését jelöli. Az x tengelyen ezen időszakok kezdetét és végét jelöltük. Szimbólumok: S K=szabadföldi szenzitív; S CO₂=emelt CO₂-os szenzitív; S OTC= szenzitív a kontroll OTC-ben. R K=szabadföldi rezisztens; R CO₂=emelt CO₂-os rezisztens; R OTC= rezisztens a kontroll OTC-ben. Az ábrán feltüntettük a vizsgálat évét és a növedékek (gen) sorszámát is.

4.2.2 Vegetatív és generatív fejlődés

A három bokorbab növedék közül a 2009-es növedéket érte a legmagasabb átlagos heti kumulatív terhelés, ami jelentős különbséget eredményezett a szenzitív és rezisztens növények hüvely száraztömegének átlagos heti növekedése között (12. ábra). Szabadföldi növényeknél 20%-kal, emelt szén-dioxidon nevelt növényeknél 86%-kal, a kontroll OTC-kben pedig 48%-kal múlták fölül termés száraztömegben a rezisztens növények a szenzitíveket. Emelt szén-dioxidon ez az eltérés szignifikáns volt ($p < 0,05$). A kezelések közötti szignifikáns eltérés a bab hüvelytermések száraztömegében csak a 2008-as év őszén mutatkozott ($p < 0,05$, 6. táblázat), mivel ekkor a szabadföldi növények szinte egyáltalán nem hoztak termést.

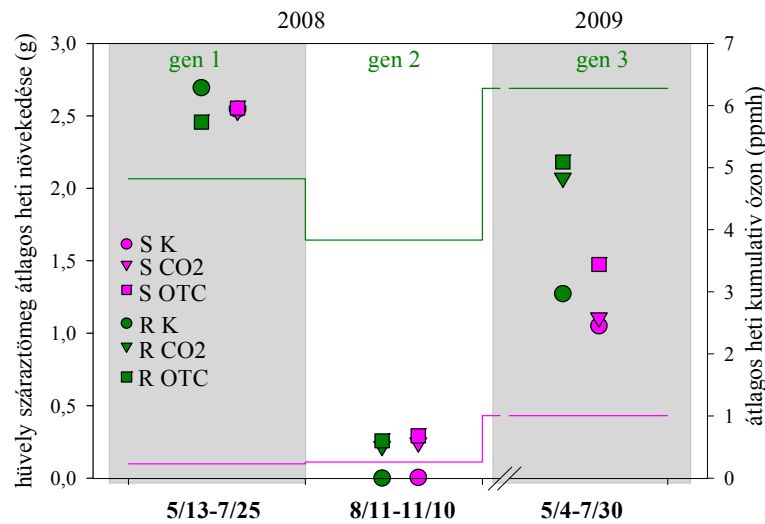
Termésszám tekintetében 2008-ban kissé alacsonyabb ózonzkoncentrációk esetén az S156 növények mindkét növedékben valamivel jobban teljesítettek az R123 növényeknél; 2009-ben, magasabb kumulatív O₃ értékek mellett azonban ennek ellenkezőjét tapasztaltuk. Heti átlagos 5-6 ppmh kumulatív terhelés mellett két hét után (2008. július 9-éről 25-ére) viszont már mindkét genotípus hullatni kezdte a – még be nem érett – termését (13A ábra). A 2008-as nyár végi vetésű bab láthatóan sokkal kevesebb termést fejlesztett mindkét genotípusnál (a szenzitív növények a kora nyári termésnek mindössze 9-11%-át, a rezisztensek pedig csak 7-10%-át produkálták), különösen a szabadföldi növényeknél, ahol az OTC-k melegebb mikroklímája nem érvényesült. Szabadföldön egyáltalán nem fejlődött termés a rezisztens (●), és csak elenyészően kis mennyiségű a szenzitív (●) genotípuson.

6. táblázat: A *P. vulgaris* és *T. repens* sztómakonduktancia (gs) és a száraztömeg (szt) átlagértékei különböző kezeléseken, az összes adaton (a táblázat felső része), az egyes növedékek összes adatán (középső rész), és az egyes genotípusok összes adatán (alsó rész). CO₂= emelt szén-dioxid, K= szabadföld; OTC= kontroll OTC. A különböző betűk egymástól szignifikánsan eltérő csoportokat jelölnek.

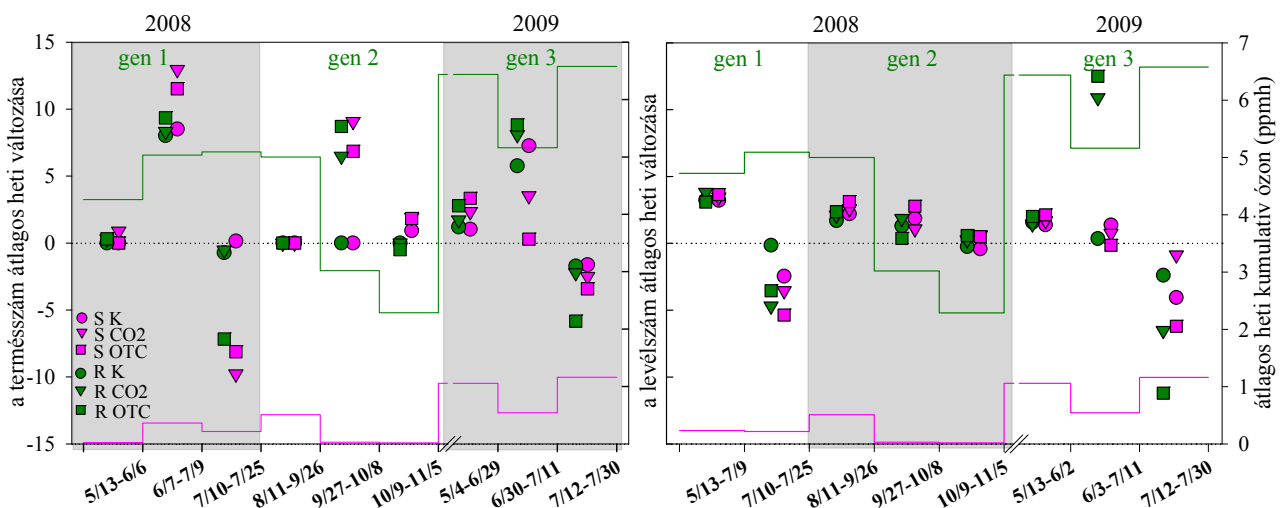
	kezelés	<i>P. vulgaris</i>		<i>T. repens</i>	
		gs (mmol m ⁻² s ⁻¹)	szt (g)	gs (mmol m ⁻² s ⁻¹)	szt (g)
összes	CO ₂	331,68ab	18,70a	407,82b	38,50a
	K	380,70b	16,36a	412,55b	34,66a
	OTC	219,16a	19,71a	252,05a	35,32a
növedék		<i>P. vulgaris</i>		<i>T. repens</i>	
1	CO ₂	529,167a	28,269a	575,833b	36,705a
	K	596,833a	27,051a	210,667a	30,233a
	OTC	262,250a	25,802a	185,667a	20,673a
2	CO ₂	155,641a	3,015b	964,167a	61,647a
	K	221,700a	0,023a	914,667a	60,053a
	OTC	118,278a	3,567b	528,500a	59,262a
3	CO ₂	370,610a	19,710a		22,360a
	K	399,879a	14,400a		18,427a
	OTC	311,932a	22,673a		21,443a
4	CO ₂			192,000a	31,377b
	K			303,778b	17,608a
	OTC			139,600a	41,912b
5	CO ₂			374,850a	39,933a
	K			424,592a	43,908a
	OTC			325,076a	33,815a
genotípus		<i>P. vulgaris</i>		<i>T. repens</i>	
S	CO ₂	374,644a	16,245a	404,773a	39,251a
	K	451,182a	15,103a	405,132a	34,541a
	OTC	280,916a	18,640a	217,610a	35,033a
R	CO ₂	290,587a	21,386a	410,859a	37,748a
	K	310,223a	17,526a	420,324a	34,784a
	OTC	157,405a	20,775a	282,005a	35,608a

A levélszám átlagos hetenkénti változásában (13B ábra) szintén jól nyomon követhető a növényeknek a vegetációs periódus végi öregedése, amit levélhullás kísér. Azonban a levélszám legerőteljesebb csökkenése (heti 6 és 11 levél veszteség a kontroll OTC-kben szenzitív (■) és rezisztens (■) növények esetén) mindkét genotípusnál a legmagasabb heti kumulatív ózonerheléssel jár együtt (6,575 ppmh, 2009. július 30-i mérés). A 2009-es vegetációs periódus kezdetén a heti kumulatív 6,437 ppmh átlagos órás ózonerhelés mellett a levelek száma még növekszik, azonban kisebb mértékben, mint a 2008-as, alacsonyabb ózonerhelésű vegetációs periódus kezdetén. 2008-

ban a vetés utáni tizenegyedik héten (2008. július 25.) a szenzitív növények már mindhárom kezelésnél hullatták a leveleiket. 2009-ben emelt CO₂-on (▼) a szenzitív növények levélszámának növekedési üteme a vetés utáni tizedik hétre (2009. július 11.) a korábbi időszakhoz képest lényegesen lassult, a kontroll OTC-ben pedig a szenzitív növények leveleinek száma ekkorra már csökkenni kezdett.

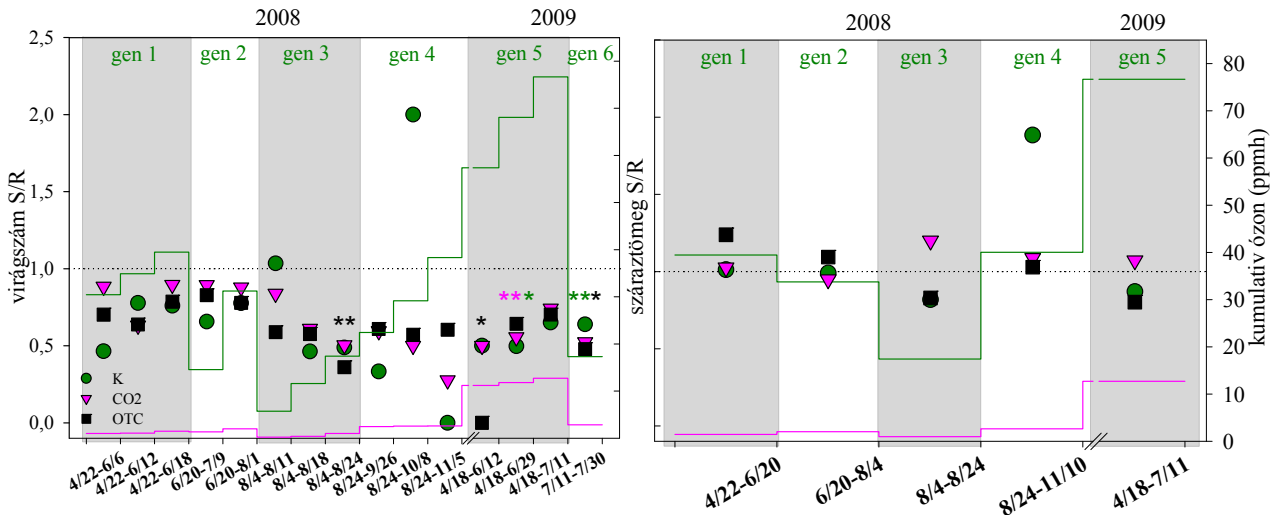


12. ábra: A *P. vulgaris* hüvelytermések száraztömegének heti átlagos növekedése a vetéstől a betakarításig. A zöld vonal az expozíciós időszakok kumulatív összes ózontelhelésének, a rózsaszín vonal a kumulatív AOT40 értékeinek heti átlagos növekedését jelöli. Az x tengelyen ezen időszakok kezdetét és végét jelöltük. Szimbólumok: S K=szabadföldi szenzitív; S CO₂=emelt CO₂-os szenzitív; S OTC= szenzitív a kontroll OTC-ben. R K=szabadföldi rezisztens; R CO₂=emelt CO₂-os rezisztens növények; R OTC= rezisztens a kontroll OTC-ben. Az ábrán feltüntettük a vizsgálat évét és a növedékek (gen) számát is.



13. ábra: A *P. vulgaris* hüvely (A) és levélszámának (B) átlagos heti növekedése a mérési időpontok között. A zöld vonal az expozíciós időszakok kumulatív összes ózontelhelésének, a rózsaszín vonal a kumulatív AOT40 értékeinek heti átlagos növekedését jelöli. Az x tengelyen ezen időszakok kezdetét és végét jelöltük. Szimbólumok: S K=szabadföldi szenzitív; S CO₂=emelt CO₂-os szenzitív; S OTC= szenzitív a kontroll OTC-ben. R K=szabadföldi rezisztens; R CO₂=emelt CO₂-os rezisztens; R OTC= rezisztens a kontroll OTC-ben. Az ábrán feltüntettük a vizsgálat évét és a növedékek (gen) számát is.

Fehér herénél jellemző, hogy a virágszám a rezisztens, míg a száraztömeg a szenzitív növényeknél volt magasabb (14. ábra). A szenzitív növények csak szabadföldön múlták felül a rezisztenseket virágszámában, ez is csak egy-két alkalommal, mindig alacsony kumulatív ózonértékek mellett fordult elő. Szignifikáns eltérés a két genotípus virágszáma között mindhárom kezelésnél előfordult a kísérlet ideje alatt. A száraztömeg néhány kivételtől eltekintve a szenzitív növényeknél volt magasabb, de szignifikáns eltérést egyik kezelésnél sem mértünk.

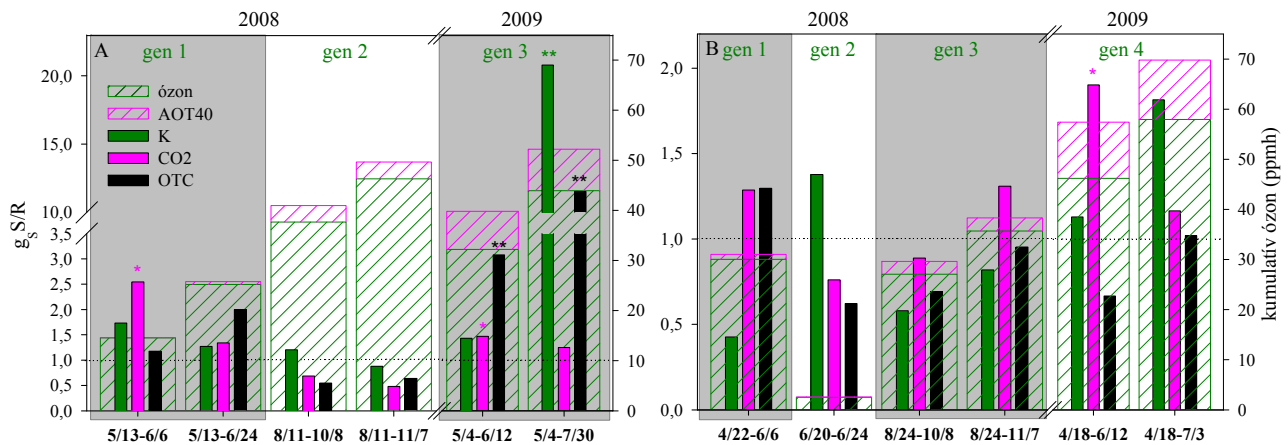


14. ábra: A *T. repens* két genotípusán mért virágszám és száraztömeg-értékek S/R aránya a különböző kezeléseken és időpontokban. A zöld vonal az expozíciós időszakok kumulatív összes ózonterhelésének, a rózsaszín vonal a kumulatív AOT40 értékeinek heti átlagos növekedését jelöli. Az x tengelyen ezen időszakok kezdetét és végét jelöltük. A csillagok a két genotípus közötti szignifikáns eltérést jelölik az azonos színnel jelölt kezelésnél (*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$). Jelölések: K=szabadföld, CO2=emelt CO₂ kezelés, OTC=kontroll OTC kezelés.

4.2.3 Élettani jellemzők

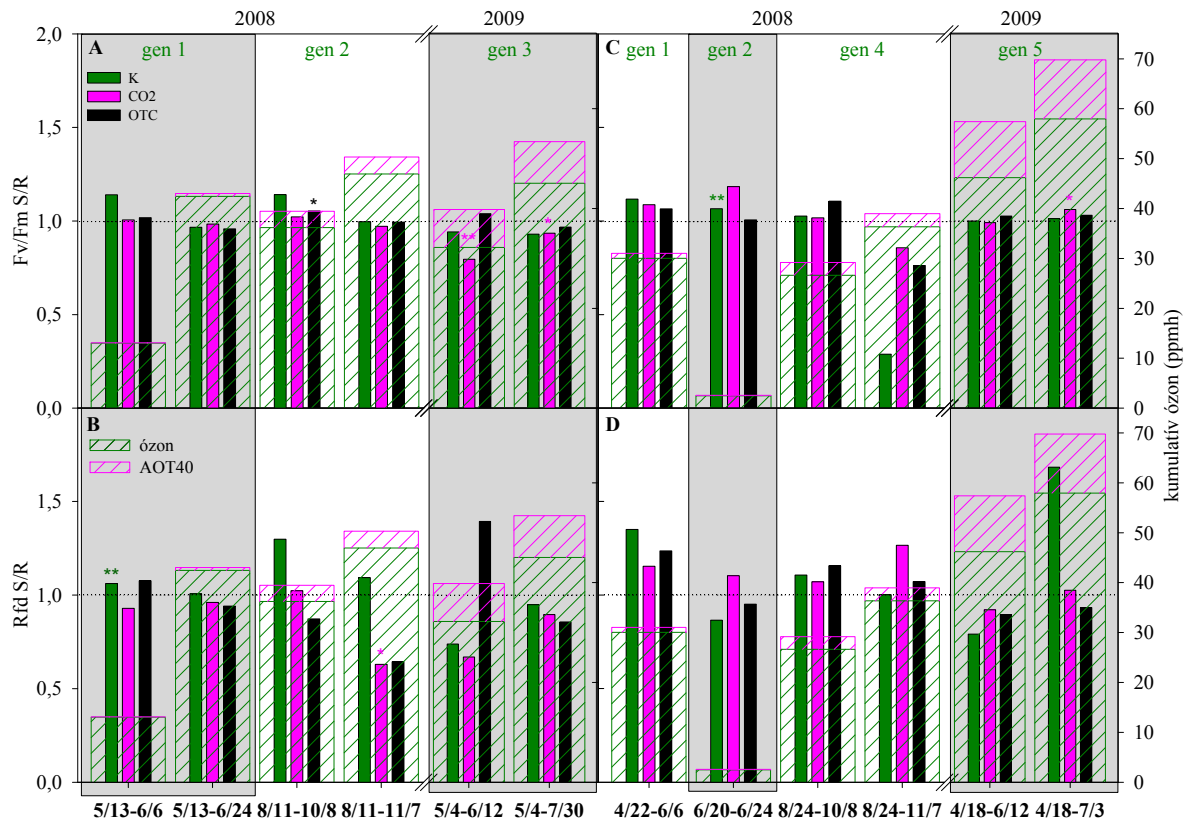
Bokorbabnál csak az őszi hónapokban fordult elő, hogy a szenzitív genotípusnak alacsonyabb volt a sztómakonduktanciája (13%-kal szabadföldön, 107%-kal emelt légköri szén-dioxidon, és 56%-kal a kontroll OTC-ben 2008. november elején, 14A ábra). Szignifikáns eltéréseket a két genotípus sztómakonduktanciája között 2008 júniusában, valamint 2009 júniusában és júliusában tapasztalhatunk. Mindkét genotípust együttesen vizsgálva a szabadföldi növények sztómakonduktanciája volt a legmagasabb, amely a kontroll OTC-ben mérttől szignifikánsan eltért ($p < 0,05$, 6. táblázat). A szabadföldi és OTC kontroll kezelésnél extrém (10-20-szoros) különbség volt megfigyelhető a bokorbab két genotípusának sztómakonduktancia-értékei között. Ez 2009 júliusában történt, amikor a vetéstől a mérésig eltelt időszak összes kumulatív ózonterhelése igen magas, 52,2 ppmh volt (15A ábra). A legnagyobb mértékű kumulatív ózonterhelés időszaka után, 2009 júniusában és júliusában a szenzitív bokorbab növények Fv/Fm értéke emelt CO₂-on szignifikánsan alacsonyabb volt a rezisztensekéinél (16A ábra). Az Rfd értékek valamivel magasabb S/R aránya figyelhető meg a szabadföldi plotokban.

A fehér here genotípusok sztómakonduktanciája között szignifikáns különbséget csak egy alkalommal mérhettünk, emelt CO₂ szinten 2009 júniusában 46,2 ppmh kumulatív ózonerhelés mellett a szenzitív növények sztómakonduktanciája 90%-kal magasabb volt (15B ábra). Az adatok varianciaanalízise alapján a szabadföldi növények sztómakonduktanciája általában magasabb a két OTC-s (kontroll és emelt CO₂) kezelésnél (6. táblázat). A mind a hat időpontban mért adatok együttes vizsgálatakor a kontroll OTC-ben (a bokorbabnál is) szignifikánsan alacsonyabbak a sztómakonduktancia-értékek a másik két kezeléshez képest ($p < 0,05$, 6. táblázat). A többi méréstől eltérően, a 2009-es második mérésnél a szabadföldi növények sztómakonduktanciája mindkét genotípusnál szignifikánsan alacsonyabb volt, mint a kamrás növényekéi (lásd: Melléklet, 17. táblázat). A g_s S/R aránya néhány kivételtől eltekintve, majdnem párhuzamosan változott az ózonerheléssel, és ez mindhárom kezelésre jellemző volt (15B ábra).



15. ábra: A sztómakonduktancia értékek S/R aránya a különböző mérési időpontokban *P. vulgaris* (A) és a *T. repens* (B) genotípusain. Az áttetsző oszlopok a 40 ppb alatti (alsó rekesz) és a 40 ppb feletti (felső rekesz) ózonkoncentrációk óras átlagértékeinek kumulatív összegét jelölik az expozíciós időszakokban, melyek kezdetét és végét jelöltük az x tengelyen. A színes oszlopok a különböző kezeléseket jelölik. (K= szabadföld, CO₂=emelt CO₂ kezelés, OTC=kontroll OTC kezelés). A csillagok a két genotípus közötti szignifikáns eltérést jelölik (*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$).

Szignifikáns eltérés a fehér here genotípusok Fv/Fm értéke között csak a második időpontban (szabadföldön) és az utolsó időpontban (emelt CO₂-on) adódott (16C ábra). Az Fv/Fm értékek tekintetében a szenzitív fehér here növények csak összel maradtak el a rezisztensektől; az ózonerhelés viszonylag alacsony értékénél a 2008-as vegetációs periódus korai szakaszában pedig határozottan felülmúlták azokat. Az Fv/Fm értékek a különböző kezeléseket között nem tértek el szignifikánsan, míg az Rfd értékek sem a kezeléseket, sem a genotípusok között nem mutattak szignifikáns eltérést. (16D ábra).



16. ábra: Az Fv/Fm és Rfd értékek S/R aránya a különböző mérési időpontokban a *P. vulgaris* (A, B), és a *T. repens* (C, D) genotípusain. Az áttetsző oszlopok az ózon és AOT40 óras átlagértékeinek kumulatív összegét jelölik az expozíciós időszakok alatt, melyek kezdetét és végét az x tengelyen jelöltük. A színes oszlopok a különböző kezeléseket jelölik. (K= szabadföld, CO2=emelt CO2 kezelés, OTC=kontroll OTC kezelés). A csillagok a két genotípus közötti szignifikáns eltérést jelölik (*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$).

4.2.4 Korrelációanalízis

Annak kimutatására, hogy a vizsgált paraméterek között vannak-e olyanok, melyek egymással összefüggést mutatnak, a mért adatokat korrelációanalízissel vetettük össze. A korrelációanalízist először az egyes fajokhoz tartozó összes adaton (7. táblázat) végeztük el, hogy egy nagyobb adatállományban, a kezeléseket és a genotípusok hatása nélkül lássuk, a két fajon mért paraméterek változásai – különösen az ózonterheléssel, vagy az idő múlásával összefüggésben – mutatnak-e valami szabályosságot vagy hasonlóságot. Az egyes kezeléseket összes adatán (8. táblázat), azért végeztük el ezt az analízist, hogy találunk-e különbséget a különböző kezeléseken mért összefüggések között, mely eltérések a kezeléseket hatásáról adhatnak információt. Az egyes genotípusok összes adatán (9. táblázat) is elvégeztük a korrelációanalízist, elsősorban azért, hogy az felfedjük az ózonérzékenységtől függő eltéréseket az egyes paraméterek ózonterheléssel összefüggő változásában.

Az összes bokorbab és fehér here növényt vizsgálva a legfontosabb összefüggéseket a 7. táblázatban is kiemeltük. Bokorbabnál a kumulatív ózon és/vagy AOT40 értékekkel negatívan

korrelált a levélszám, a levélszám S/R aránya, a száraztömeg S/R aránya és az RFd érték. A látható tünetek aránya szignifikáns pozitív összefüggést adott az ózonterheléssel. A vetés után eltelt napok számával csökkent a gs, a gs S/R és az RFd érték, növekedett viszont a hüvelytermések számának S/R aránya. Az egyes kezelésekhez tartozó növények adatait vizsgálva bokorbanál (8. táblázat), a látható tünetek mértéke emelt CO₂ szinten nőtt a kumulatív AOT40-nel, de a szabadföldi és OTC kontroll kezeléseken egyik mért paraméter függvényében sem változott. Emelt CO₂-on a sztómakonduktanciának, valamint a hüvelytermések számának S/R aránya és a levélszám is csökkent az ózonterhelés függvényében. A levélszám csökkenése az ózonterhelés függvényében szabadföldön még jelentősebb volt, de itt csökkent a levélszám S/R aránya, valamint az RFd érték is. A levélszám S/R aránya az OTC kontroll kezelésen is határozottan csökkent az ózonterheléssel.

7. táblázat: A *P. vulgaris* és *T. repens* összes egyedén mért paraméterek közötti korrelációk. *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$. A fontosabb összefüggéseket félkövér betűvel emeltük ki.

P. vulgaris összes

Spearman's rho	kum OZONE	kum AOT40	DAS
gs S/R	ns	ns	-,518**
levél S/R	-,541**	ns	ns
hüvely	ns	ns	,297*
szt S/R	-,794**	-,476*	,794**
tünet	,448*	ns	ns
levél	-,536**	-,614**	ns
hüvely	,303*	ns	,390**
szt	,538*	ns	-,538*
gs	ns	ns	-,423*
Fv/Fm	ns	ns	ns
RFd	-,359*	-,340*	-,373*

T. repens összes

Spearman's rho	Kum OZONE	Kum AOT40	növe- dék	DAH
tünet	ns	ns	-,316**	ns
gs	ns	ns	ns	ns
gs S/R	,404*	ns	ns	,379*
virág S/R	ns	ns	-,454**	ns
szt S/R	ns	ns	ns	ns
virág	ns	ns	ns	ns
szt	ns	,466**	ns	ns
Fv/Fm	-,382*	ns	ns	ns
RFd	ns	ns	ns	-,484**

8. táblázat: A *P. vulgaris* és *T. repens* egyes kezeléseken fejlődött összes egyedén mért egyes paraméterek korrelációi. *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$.

P. vulgaris emelt CO₂ *P. vulgaris* szabadföld *P. vulgaris* kontroll OTC

Spearman' s rho	<i>P. vulgaris</i> emelt CO ₂			<i>P. vulgaris</i> szabadföld			<i>P. vulgaris</i> kontroll OTC		
	kum OZONE	kum AOT40	DAS	kum OZONE	kum AOT40	DAS	kum OZONE	kum AOT40	DAS
tünet	ns	,774**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
gs	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Fv/Fm	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
RFd	ns	ns	ns	-0,636*	ns	-0,660*	ns	ns	ns
gs S/R	-0,771**	ns	-0,986**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
levél S/R	ns	ns	ns	-0,595*	ns	ns	-0,762**	ns	ns
hüvely	-0,750**	-0,667**	ns	ns	ns	0,739**	ns	ns	0,628**
levél	-0,521*	-0,621*	ns	-0,604*	-0,791**	ns	ns	ns	ns
hüvely	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

T. repens emelt CO₂

T. repens szabadföld

T. repens kontroll OTC

Spearman' s rho	<i>T. repens</i> emelt CO ₂				<i>T. repens</i> szabadföld				<i>T. repens</i> kontroll OTC			
	Kum OZONE	Kum AOT40	növe- dék	DAH	Kum OZONE	Kum AOT40	növe- dék	DAH	Kum OZONE	Kum AOT40	növe- dék	DAH
tünet	ns	ns	-0,908**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0,372*	ns
gs	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
gs S/R	ns	ns	ns	ns	0,886**	0,657*	ns	0,771**	ns	ns	ns	ns
Fv/Fm	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
RFd	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0,580*	ns	ns	-0,806**
virág	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
virág S/R	ns	-0,411*	-0,685**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0,551**	ns
szt	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
szt S/R	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	-0,900**	ns

Külön vizsgálva az egyes genotípusokhoz tartozó összes bokorban növényt, az R123 genotípusnál csak a levélszám korrelált negatívan a kumulatív O₃ és AOT40 értékekkel, utóbbival ez az összefüggés erősebb volt. Az S156 genotípusnál a kumulatív ózon- és/vagy AOT40 a levélszámmal és az RFd értékkel korrelált negatívan. A látható tünetek aránya viszont növekedett az ózonterheléssel és a vetés és a mérés időpontja között eltelt idővel (DAS) is. A DAS ezen kívül a sztómakonduktanciával és az RFd-vel is negatívan korrelált, vagyis ezek az értékek időbeli csökkenést mutattak. Tehát mind a szenzitív, mind a rezisztens bokorban növények levélszáma szoros negatív korrelációt adott a kumulatív AOT40 értékkel és a kumulatív összes ózonkoncentrációval is, azonban a szenzitív növényeknél ez az összefüggés szorosabb (9. táblázat). A különbség, hogy az S156 esetében az RFd értékek is csökkentek az ózonterheléssel, de a vetéstől eltelt idővel is, valamint, hogy a sztómakonduktancia is csökkent az idővel.

9. táblázat: Az egyes genotípusokon mért különböző paraméterek közötti korrelációk. *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$. A szignifikáns korrelációkat vastag betűvel jelöltük.

Spearman's rho	<i>P. vulgaris</i> R123			<i>P. vulgaris</i> S156		
	kum OZONE	kum AOT40	DAS	kum OZONE	kum AOT40	DAS
tünet	ns	ns	ns	,557**	,467*	,494*
gs	ns	ns	ns	ns	ns	-,490*
Fv/Fm	ns	ns	ns	ns	ns	ns
RFd	ns	ns	ns	-,498*	ns	-,534*
levél	-,364*	-,510*	ns	-,758**	-,759**	ns
hüvely	ns	ns	ns	ns	ns	,449*
sz	ns	ns	ns	ns	ns	ns

T. repens NC-R

T. repens NC-S

Spearman's rho	Kum OZONE	Kum AOT40	növe- dék	DAH	virág	Kum OZONE	Kum AOT40	növe- dék	DAH	virág
	tünet						ns	ns	-,576**	ns
gs	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Fv/Fm	ns	ns	ns	ns	-,645**	-,618**	ns	ns	ns	ns
RFd	ns	ns	ns	ns	ns	-,630**	ns	ns	-,630**	ns
virág	ns	ns	ns	ns	-	ns	ns	ns	ns	-
sz	ns	ns	ns	ns	,757**	ns	ns	ns	ns	,668**

A tünetek százalékos aránya a szenzitív genotípust külön, de az összes fehér here adatait együtt vizsgálva is (7. táblázat) csökkent növedékről növedékre, és ugyanígy csökkent a virágszám S/R aránya is. A sztómakonduktancia S/R aránya egy levélnövedéken belül időben is és a kumulatív ózonerheléssel együtt is növekedett. Egy növedéken belül az utolsó betakarítástól eltelt napok számával (DAH) csökkent az RFd érték, az Fv/Fm érték pedig az ózonerhelés, valamint a sztómakonduktancia növekedésével mutatott negatív összefüggést.

Az egyes kezeléseknek kitett fehér here növények adatait összehasonlítva feltűnő, hogy a gs S/R aránya szabadföldön a kumulatív ózon és AOT40 értékkel is erőteljes pozitív korrelációt mutatott, a többi kezelésen viszont nem mutatott hasonló összefüggést. A látható tünetek aránya viszont nem szabadföldön, hanem az OTC-s kezeléseknél csökkent növedékről növedékre (8. táblázat). Az RFd a kontroll OTC-ben csökkent az ózonerheléssel és az idővel. A virágszám S/R aránya emelt CO₂-on csökkent az ózonerheléssel; szabadföldön, és a kontroll OTC-s kezelésen pedig növedékről növedékre csökkent.

A fehér here két genotípusán mért adatokat külön elemezve, és a kapott eredményeket összevetve számos különbség adódott. Csak az NC-S genotípus RFd értéke csökkent az idővel, és ugyan a látható tünetek megjelenése herén semmilyen összefüggést nem adott az ózonerhelés-

értékekkel (lásd 22. B ábra is), de az NC-S genotípus Fv/Fm és RfD értékei negatív összefüggést adtak azzal (9. táblázat).

4.3 Esettanulmány egy európai biomonitoring program Ljubljanában kihelyezett kísérleti növényein

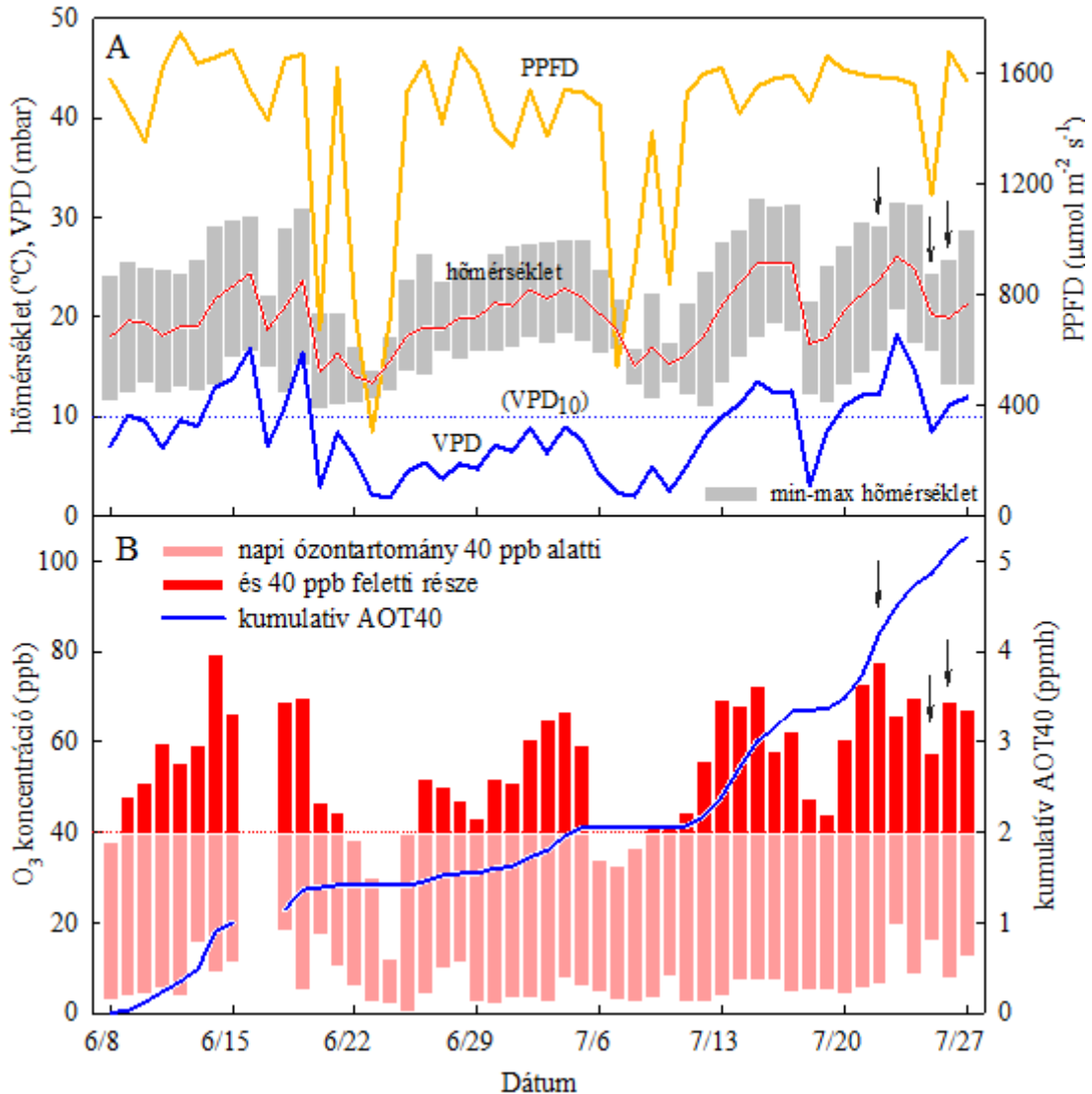
A *P. vulgaris* S156 és R123 növények vetése és a fluoreszcencia-indukció napi menet mérések között eltelt időszakban uralkodó meteorológiai viszonyokat valamint az AOT40 értékek alakulását szemléltetik az 17A és B ábrák. A szabadföldi méréseket megelőző néhány enyhe napot követően a kísérlet időszakában a hőmérséklet viszonylag magas volt. Az első és harmadik mérési nap meleg, napos időjárásával ellentétben július 25-én dél körül egy enyhe esőt kísérően hőmérséklet-csökkenés alakult ki.

Az ózonkoncentráció és az AOT40 érték napi maximuma az első mérési napon volt a legmagasabb és a második napon a legalacsonyabb, majd kettő közötti értékek adódtak az utolsó mérési napon (10. táblázat). A közbeeső napokon, július 23-án magas, 24-én pedig az utolsó mérési naphoz hasonlóan közepes ózonkoncentrációkat mértünk. A 22-e és 26-a közötti összes kumulatív AOT40 1378 ppbh volt, ami jelentős ózonterhelésnek mondható, ráadásul ennek az időszaknak nagy részét viszonylag magas hőmérsékleti értékek jellemezték.

10. táblázat: Az ózonkoncentráció napi maximum és mediánértékei (ppb) és a napi kumulatív AOT40 értékek (ppbh) a mérési időszakban és az azt megelőző napon, 2009 nyarán. A mérési napokat vastag betűvel szedtük.

dátum	O ₃ koncentráció		kumulatív AOT40
	maximum	medián	
július 21	73,1	45,3	249,6
július 22	78,1	69,9	473,1
július 23	66,2	54,5	301,2
július 24	69,9	38,9	235,1
július 25	57,9	36,0	124,2
július 26	69,4	39,6	243,9

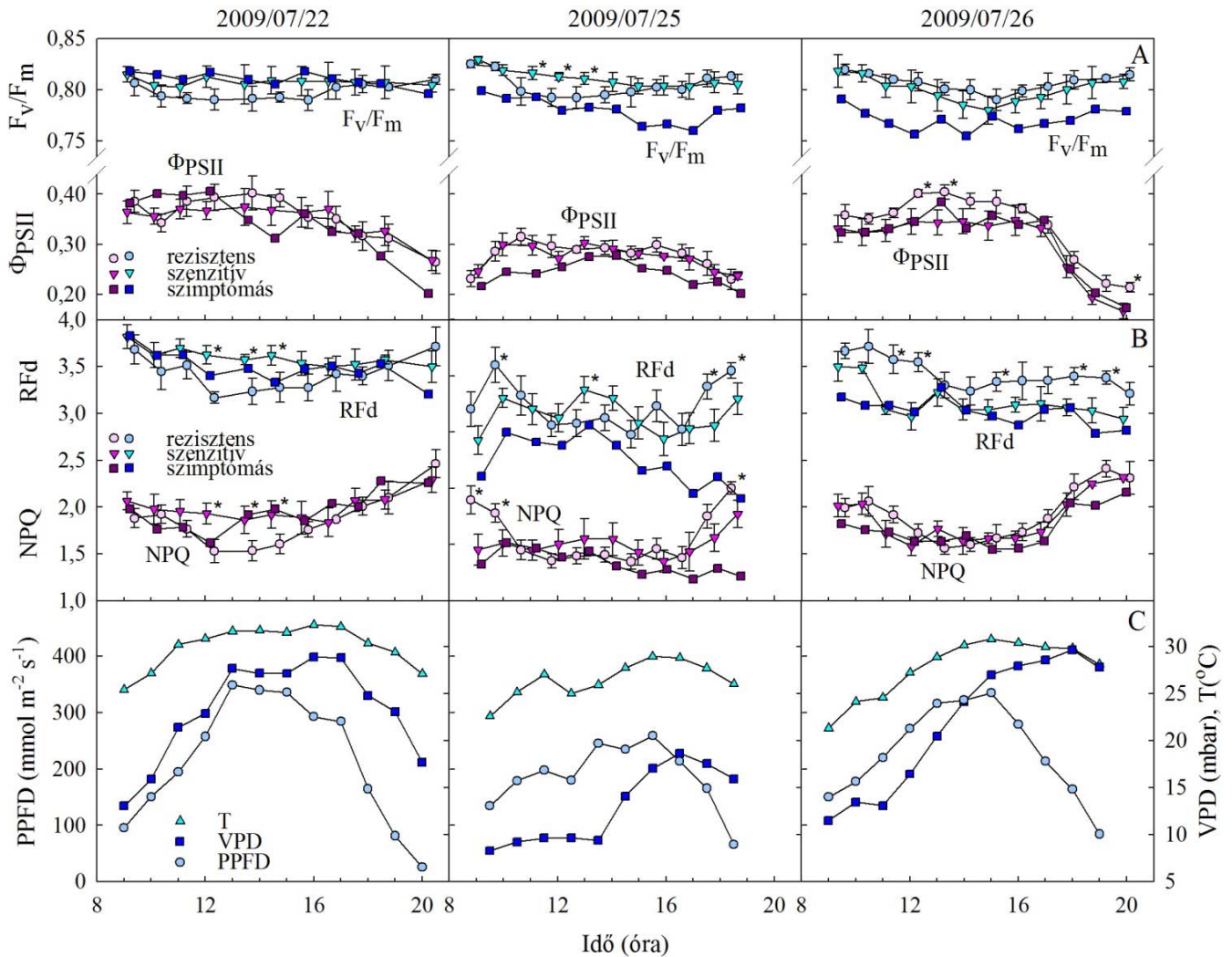
A 18. ábra a három mérési nap fluoreszcencia paramétereit mutatja be. A maximális fotokémiai hatékonyság egy esetben sem változott jelentős mértékben a nap folyamán. A mesterséges árnyékolás miatt a maximális nappali fényintenzitás ($400\text{-}500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) nem volt olyan magas, hogy fénygátlást eredményezhetett volna. Ennek ellenére a nap közepi Fv/Fm értékek valamivel alacsonyabbak voltak a reggeli és esti értékeknél.



17. ábra A) Minimum, maximum és átlaghőmérséklet, fotonflux-sűrűség és VPD értékek Ljubljánában a kísérleti növényeink vegetációs periódusában: a vetés (június 8.) és az utolsó mérési nap (Július 26.) között eltelt időszakban. A nyilak a mérési napokat jelölik. B) Troposzférikus ózonszintek és kumulatív AOT40 értékek (a fitotoxikus határ (40 ppb) feletti koncentrációk) Ljubljánában a kísérleti növényeink vegetációs periódusában: a vetés (június 8.) és az utolsó mérési nap (július 26.) között eltelt időszakban. Az értékek az órás átlagértékek napi átlagából adódnak.

Az első mérési napon (július 22-én) csak a rezisztens növények mutatták ezt a tendenciát, a harmadik napra azonban már a szenzitív növények is hasonló napi menetet mutattak. Mindkét genotípusnál, mind a délelőtti csökkenés, mind a délutáni növekedés szignifikáns volt ($p < 0,05$). A második nap folyamán a tünetmentes és tünetes szenzitív levelek Fv/Fm görbéje is folyamatos csökkenést mutatott ($p < 0,001$). Az első, és egyben legmelegebb mérési napon, amikor a növények a legjelentősebb fitotoxikus ózonerhelésnek voltak kitéve, az átlagos napi Fv/Fm értékek a rezisztens növényeknél voltak a legalacsonyabbak. A következő két mérési nap folyamán (július 25-én és 26-án) ez az érték fokozatosan nőtt ($p = 0,007$), és július 26-án már a rezisztens növények mutatták a legmagasabb Fv/Fm értékeket. A tünetmentes szenzitív levelek átlagos napi Fv/Fm értékei nem

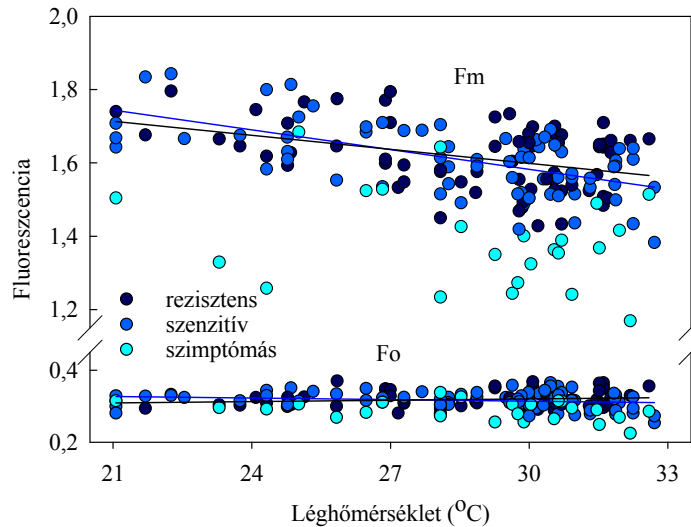
változtak számottevően, de a tünetes leveleknél ez a paraméter a vizsgálati napok között folyamatosan csökkent ($p < 0,001$). A Φ_{PSII} értékében sem a három mérési nap, sem a két genotípus nem mutatott eltérést; 0,4 körül mozgott, és késő délutánra ez az érték a felére csökkent, a maximális hőmérsékletnek és /vagy az ózonterhelésnek köszönhetően.



18. ábra: A) Az RFd és NPQ B) F_v/F_m és a PSII kvantumhozama (Φ_{PSII}) C) a kísérlet helyszínén, az árnyékoló háló alatt mért meteorológiai paraméterek, a fotoszintetikus fotonfluxus-sűrűség (PPFD), a vízgőznyomás-deficit (VPD), valamint a hőmérséklet (T) napi lefutása a három egymást követő mérési napon. Az értékek három mérés átlagát mutatják. A szenzitív és rezisztens növényeken mért értékek szignifikáns eltérést csillaggal jelöltük.

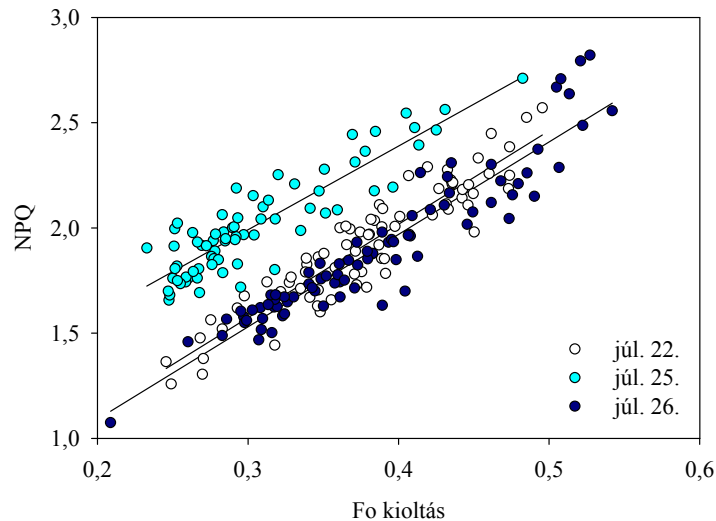
A fluoreszcencia kinetika görbék napimenet mérése során a napközben változó hőmérséklet mellett az F_0 érték alig változott, azaz nem emelkedett a hőmérséklettel, az F_m értéke viszont mindkét genotípusban csökkenéssel reagált az emelkedő hőmérsékletre (19. ábra). A tünetmentes levelekhez képest a tünetes levelek F_m értéke lényegesen nagyobb mértékben csökkent a hőmérséklet növekedésével, és sokkal nagyobb variabilitást is mutatott, ami valószínűleg az ózon klorofill fluoreszcenciát gátló hatására vezethető vissza.

Mivel a mérések során mindvégig konstans aktinikus fényt alkalmaztunk, az NPQ értéke nem követte az aktuális fényintenzitást: a kora reggeli órákban bekövetkező változástól eltekintve a nap folyamán nem emelkedett, sőt, a rezisztens növényekben a nap közepi órákban szokatlan módon csökkent. Az utolsó napon a szenzitív növények NPQ értéke is hasonló dinamika mentén változott.



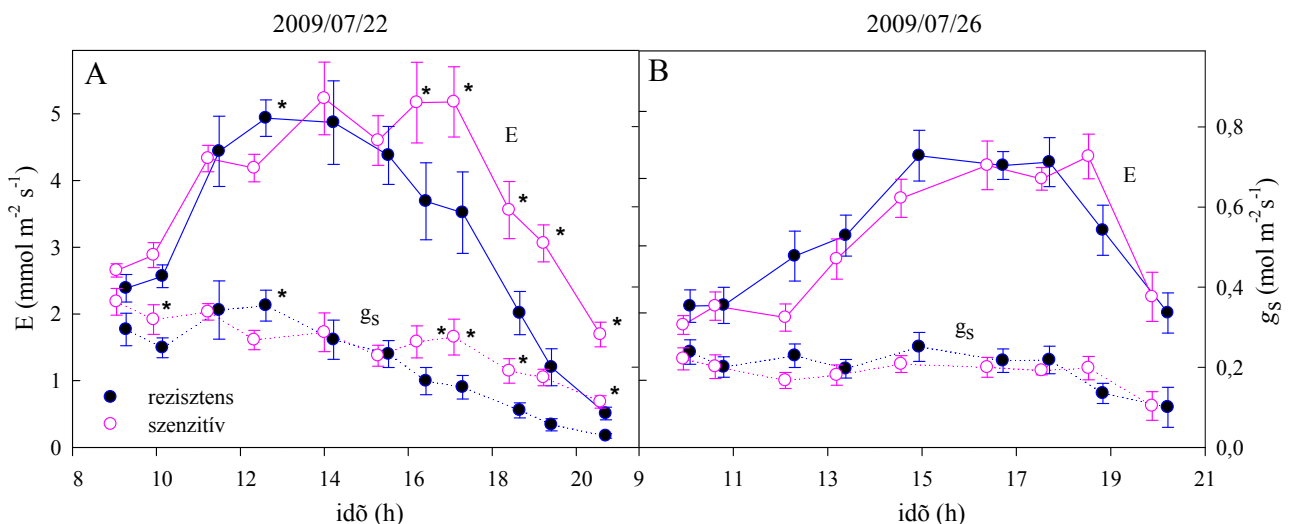
19. ábra: Az Fo és Fm hőmérséklet-függése rezisztens, tünetmentes szenzitív, és tünetes levelek esetében. Az ábrán a két melegebb mérési nap (július 22-e és 26-a) adatait látjuk. A szimptomás levelek adataihoz tartozó trendvonalat az ábrán nem tüntettük fel, mivel ennek menetét szélsőségesen befolyásolták egyéb tényezők.

Az Fo kioltás az Fm nemfotokémiai kioltásával mindkét genotípusban hasonlóan szoros összefüggést mutatott (20. ábra). Az RFd napi menete az NPQ-hoz hasonló lefutású volt, a nap közepén valamivel alacsonyabb értékeket vett fel. Ha nem a napi menetet, hanem a három mérési nap RFd értékeit hasonlítjuk össze, akkor viszont az Fv/Fm időbeli változásához hasonló eltéréseket tapasztalhatunk: az első napon rezisztens genotípus RFd értékei futottak a legalacsonyabban, majd ezek az értékek az egymást követő mérési napokon fokozatosan nőttek; míg a szenzitív növények RFd értékei idővel fokozatos csökkenést mutattak. A legerőteljesebb csökkenés a tünetes levelekben volt tapasztalható a második mérési napon.



20. ábra: Az NPQ (y) és a qF_o (x) lineáris összefüggése július 22-én, ($r^2 = 0.857$), 25-én ($r^2 = 0.799$) és 26-án ($r^2 = 0.890$).

A 21. ábrán látható a két genotípus sztómakonduktancia- és transzspiráció-értékeinek az első és utolsó mérési napon mért napi menetei. A kísérlet napjaiban a rezisztens növények károsodásának mértéke (Plant Injury Index) 0,16%, a szenzitív növényeké 2,96% volt. A LI-COR készülék által a mérések során rögzített helyi, az árnyékoló háló alatti klimatikus adatok alapján az első napon a fényintenzitás, a hőmérséklet és a VPD is egyenletes napi menetet mutatott hirtelen változások nélkül (18C ábra). A harmadik mérési napon a hőmérséklet 15 óráig, a VPD 18 óráig folyamatosan emelkedett.



21. ábra: A szenzitív és rezisztens genotípusok sztómakonduktancia (g_s) és transzspiráció (E) értékei az első és utolsó mérési napokon. A csillagok a két genotípus közötti szignifikáns eltérést jelölik ($p < 0,05$).

Mivel a kísérleti növények vízellátását folyamatosan optimális szinten tartottuk, a transzspiráció a hőmérséklet és a VPD függvényében változott, és nem csökkent le a nap közepén. A rezisztens növények transzspirációja az első mérési napon alacsonyabb maradt és korábban, már délután 14 óra körül csökkenni kezdett, míg a szenzitív növényeké csak 16 óra után (21A ábra). Az

R123 és S156 vonalak transzspirációjának eltérése késő délután körülbelül $1,4 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ volt ($p < 0,001$). Ezt a különbséget a g_s napi menetében is nyomon követhettük: az R123 g_s görbéje reggel 8 és délután 14 óra között állandó volt, ezután csökkenni kezdett, míg az S156 g_s görbénél csak délután 17 óra tájban tapasztaltuk ezt, és szinte az egész nap folyamán magasabb értékeket mutatott. A harmadik mérési napon a transzspiráció és sztómakonduktancia értékekben néhány esetben ugyan szignifikáns eltéréseket mértünk, de a két genotípus teljes napi menetére nem mutatott statisztikailag szignifikáns különbséget (21B ábra).

5. EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA

5.1 *A vizsgált növényi genotípusok szövettani hasonlóságai és eltérései*

5.1.1 *A Phaseolus vulgaris két genotípusának összehasonlítása*

Bár télen az S156 és R123 genotípusok sztómakonduktanciája nem tért el szignifikánsan, a téli magasabb C_i az S156 genotípushoz tartozó növényekben azok sztómáinak valamivel magasabb gázáteresztő-képessége következtében alakulhatott ki, mivel a két genotípus fotoszintetikus rátája között nem mértünk szignifikáns különbséget (2. táblázat). A telítési fényintenzitásnál alacsonyabb fényintenzitás lehet az oka annak, hogy a téli mérésekkor a magasabb belső CO_2 szint nem eredményezett magasabb fotoszintetikus rátát a szenzitív növényekben. Az irodalmi adatok általában magasabb sztómakonduktanciáról számolnak be ózonszenzitív, mint ózonrezisztens növények esetében (ELAGŐZ et al. 2006, FERDINAND et al. 2000, NALI et al. 2009, PAOLETTI et al. 2007b), az általunk a szövettani vizsgálatokhoz történő mintavétellel egyidejűleg végzett mérések alapján a két genotípus sztómakonduktancia adatai sem télen, sem nyáron nem tértek el szignifikánsan, de az átlagértékek a szenzitív genotípusnál magasabbak voltak. Ennek a – ha nem is szignifikánsan – magasabb g_s értéknek lehet köszönhető az is, hogy nyáron a jóval nagyobb mértékű nettó CO_2 asszimiláció ellenére a C_i nem volt alacsonyabb az S156, mint az R123 genotípusban. Annak ellenére, hogy a gázcsere-mérések adatai alapján a két babvonal g_s értéke nem különbözött szignifikánsan, a mért értékek eltérését 1. táblázatában látható adatok alapján az okozta, hogy az S156 genotípusnál télen a sztómasűrűség magasabb és a légrések összfelülete nagyobb, valamint a sztómák is nyitottabbak voltak. Nyáron, kifejllett levelek esetén – amelyeken a gázcsere-mérések történtek – az S156 genotípus légrés területe és hossza, a sztómák és sztómazárósejtek mérete nagyobb. Szövettani vizsgálataink eredményei azonban azt mutatják, hogy ebben a kísérletben a két genotípus g_s értéke közötti eltérés a sztómák méretének különbségéből adódhatott, igaz, hogy az idős (vagyis az időben korábban kifejlődött) leveleknél még az R156 genotípus sztómaméretei nagyobbak. Ezeken az idős leveleken azonban az S156 genotípus kisebb méretű sztómái szignifikánsan nyitottabbak voltak, mint az R123 genotípus sztómái. Szövettani méréseink szerint tehát nyáron a fiatal és idős szenzitív levelek sztómái nyitottabbak voltak a rezisztens növényekéinél (1. táblázat, ha a sztómák szélességének és hosszúságának aránya nagyobb, a sztómák nyitottabbak). A sztómák nagyobb mértékű nyitottsága ózonszenzitív növényekben lehet a hidroaktív sztómareguláció gátlásának következménye, ami a sztómaműködés kontrolljában bekövetkezett változásokra vezethető vissza (FISCUS et al. 2005, KANGASJARVI et al. 2005, NADEAU és SACK 2002, PÄÄKKÖNEN et al. 1997, PAOLETTI 2005, WANG et al. 2007). A sztómanyitottság függ a zárósejtek redoxállapotától is, amit az ózon hatására keletkező reaktív oxigénradikálok megváltoztathatnak. A nagyobb mértékű

gázáteresztés tehát következménye is és kiváltó oka is lehet a szenzitív genotípus ózonérzékenységének, hiszen az ózon jelentősebb része a sztómákon keresztül hatol be a levél szöveteibe, ahol kifejtheti káros hatásait. A károsodott levelek és az ép levelek eltérő állapotát megfigyelhetjük a metszetekről készült felvételeken is (Melléklet, 28. ábra).

Télen az S156 genotípus epidermiszsejt mérete kisebb, ugyanez a helyzet nyáron az idős, vagyis az elsőként létrejött S156 leveleknél, de a kifejlett levelek epidermiszsejtjei már nagyobbak, mint az R123 levelekéi. Ez azt jelenti, hogy van egy genetikailag meghatározott sejtméret, ami S156 genotípusnál kisebb, mint R123 genotípusnál. Ezek a sejtméretetek alacsony ózonerhelés mellett, télen, vagy nyáron, a növényeken elsőként megjelenő levelekre jellemzőek, de nyáron a kumulatív terhelés hatására bekövetkező eltérő fenotípusos változások (az alsó epidermiszen S156 esetében nő, R123 esetében csökken az epidermiszsejtek mérete kifejlett leveleken az idős levelekhez képest) következtében ez az arány megfordul, és az R123 genotípus epidermiszsejt mérete lesz kisebb, mint az S156-é. Mindezek csak az alsó epidermiszt jellemző adatok, a két genotípus felső epidermisz sejtméretei nem tértek el szignifikánsan (1. táblázat).

A rezisztens levelek sztómáinak és zárósejtjeinek mérete, valamint a légrések hossza szintén magasabb az idős, vagyis a növényen legkorábban kifejlődött leveleknél, míg a kifejlett, vagyis később megjelenő levelek között ezek a paraméterek a szenzitív levelekben voltak magasabbak, de a sztómák esetében a genetikailag meghatározott különbségről szóló elképzelést nem támasztja alá hasonló eredmény a téli mérésekkor. Az, hogy a zárósejtek mérete, valamint a sztómák mérete és nyitottsága kifejlett levelek esetén tipikusan a szenzitív, míg idős leveleknél a rezisztens növényeken magasabb, mégis arra utal, hogy a klimatikus viszonyok és a stressz ellentétes hatást váltott ki a két genotípusnál, mivel a később kifejlődött leveleken szenzitív növények esetén nagyobb, rezisztens növények esetén kisebb sztómák fejlődtek.

Adataink alapján azon szenzitív levelek, melyek időben később jelentek meg a növényen, vagyis miután a növényt már jelentősebb kumulatív ózonerhelés érte (kifejlett levelek), nagyobb méretű epidermisz- és sztómazárósejteket fejlesztettek, vagyis nagyobb mértékű expanzív sejtnövekedésen mentek keresztül, mire elérték kifejlett állapotukat, mint a korábban kifejlődő, és a mintavétel időpontjában már idős levelek. Ez a jelenség tulajdonítható az ózon által kiváltott oxidatív stressznek, mely a sejtek redoxállapotát befolyásolja, és ezen keresztül a sejtsztódást gátolja (TAIZ és ZEIGER 2010, WANG et al. 2007). Jelentheti ez azonban azt is, hogy míg a rezisztens növények alkalmazkodnak a megváltozott és megterhelő környezeti viszonyokhoz, csökkentve a sejtjeinek expanzív növekedését; addig a szenzitív növények nem, vagy csak kevésbé akklimálódnak. Lehetséges tehát, hogy a normális stresszválasz metabolikus útjai gátlódtak az S156 genotípusban, így a stressz ellenére továbbra is a kedvező körülményeknek megfelelően nagymértékű expanzív sejtnövekedés volt jellemző. A sejt expanzív növekedésének egyenlete: $GR = m (\Psi_p - Y)$, ahol Ψ_p a

turgor, m a sejtfal nyújthatósága és Y az a küszöb nyomásérték, ami minimálisan szükséges ahhoz, hogy a sejtfal megnyúlását eredményezze. Mindhárom tényező változhat stressz hatására: az m érték például a sejtfal pH-jának növekedésével csökken, az Y érték változása pedig összefügg a sejtfal strukturális változásaival. Mivel az S156 növények sejteiben a turgornyomás a mért fiziológiai jellemzők alapján – és az egyformán jó vízellátottság következtében – nem lehetett sokkal alacsonyabb, mint az R123 növények sejteinek turgornyomása, vagy az m , vagy az Y érték időbeli változása valószínűsíthetően eltért a két genotípus között. Ezek a megfigyelések arra utalnak, hogy az epidermisz- és sztómazárósejtek sejtfal rigiditása számottevő ózonterhelést követően a rezisztens növényeknél fokozottabb. A szenzitív növények később kifejlődött (kifejlett) leveleinek nagyobb sztómamérete a magasabb sztómakonduktanciát is megmagyarázza.

A sztómasűrűség évszakos változásai a két genotípusban ellentétes irányúak voltak: nyáron a rezisztens növények a tipikus tendenciát követve (GAY és HURD 1975, KNECHT és O'LEARY 1972, WILD és WOLF 1980) több, a szenzitív növények pedig kevesebb sztómát fejlesztettek egységnyi levélfelületre vonatkoztatva, mint télen. Valószínűbb, hogy a nyári alacsonyabb sztómaszám az előzőekben tárgyaltakhoz hasonlóan az ózon hatására gátolt sejtosztódás és erőteljesebb sejtnövekedés következménye, mely az epidermiszsejtek nagyobb mérete miatt levélfelület-egységre vetítve alacsonyabb sztómaszámot eredményezett, és/vagy közvetlenül a sztómaképződésre volt hatással.

A téli és nyári levélminták keresztmetszeti adatainak felhasználásával (20 mért, illetve számított paraméterrel) elvégzett főkomponens analízis alapján 4 komponens tekinthető meghatározónak, melyek együttesen a teljes variancia 84,5 %-át magyarázzák (lásd: Melléklet, 13. táblázat). A teljes variabilitás legnagyobb hányadát kitevő (23,1%) első főkomponens legnagyobb mértékben a mezofillumsejtek, ezen belül a szivacsos mezofillumsejtek felszínével, valamint a mezofillum, ezen belül is a szivacsos mezofillum vastagságával korrelál. A második főkomponens (21,9%) a paliszád és szivacsos parenchima rétegek keresztmetszeten mérhető arányával, a paliszád parenchima levélen belüli arányával, valamint a két parenchima réteg vastagságának arányával korrelál. A harmadik főkomponensben (20,8%) jelentős súllyal a paliszád sejtek átlagos keresztmetszeti területe, valamint térfogata szerepel. A negyedik főkomponens (18,7%) pedig az intercellulárisok levélen belüli arányával, egységnyi keresztmetszeti felületen mérhető területével, valamint gázkonduktanciájával korrelál.

A télen fejlődött levelekhez viszonyítva nyáron az R123 genotípus kifejlett leveleinek mezofillumja határozottan vastagabb (PC1), és az oszlopos parenchima réteg részaránya is megnő a teljes mezofillum rétegen belül (PC2). Nyáron, az intenzívebb megvilágítás következtében az R123 genotípusnál vastagabb szivacsos parenchima réteg alakul ki, lényegesen vastagabb leveleket eredményezve (PC1). A téli és nyári levelek eltérő levélszerkezete ellenére az intercellulárisok

résaránya és vezetőképessége korántsem mutat olyan mértékű szezonális különbséget, mint a szövetek vastagsága, de a téliek valamelyest elkülönülnek a nyáriaktól a 4. főkomponensen belül is.

Az S156 genotípusnál a téli és nyári levelek között a rezisztensnél megfigyelt különbségek nem mutatkoznak meg, azaz a nyári kifejtett levelek mezofillum és szivacsos mezofillum rétege nem lesz vastagabb a téliekhez képest, sőt, vékonyodik, de ez a szezonális eltérés nem számottevő. A mezofillumsejtek felszíne sem mutat szezonális eltérést szenzitív növényeknél (PC1). A szenzitív nyári és téli levelek viszont jól elkülönülnek a 3. és 4. de különösen a 3. főkomponensen belül, ami a szivacsos parenchima sejtek méretében és a g_{ias} értékben tapasztalható szezonális eltéréseknek köszönhető. Valóban, a szivacsos parenchima sejtek mérete és térfogata számottevően kisebb, a g_{ias} pedig valamivel nagyobb a télen mérthez képest.

Az S156 és R123 genotípus télen, fitotoxikus mértékű ózonterheléstől mentes környezetben az első főkomponens alapján különül el. A két genotípus levélkeresztmetszeti paramétereiben megfigyelt téli különbségek, ami elsődlegesen a mezofillumvastagságban, a szivacsos parenchima részarányában és a parenchimasejtek felszínében nyilvánulnak meg, nyárra teljesen eltűnnek. Télen a szenzitív növények levelei vastagabb parenchima rétegekkel rendelkeznek, nyáron ezzel szemben a kifejtett levelek között a rezisztens levelek mezofillum vastagabb, mivel lényegesen vastagabb a télihez képest, míg a szenzitív genotípusé szignifikánsan vékonyabb a télihez képest.

Nyáron a különböző fejlettségi állapotú rezisztens levelek az 1. és 2. főkomponensen belül különülnek el, vagyis a levelek fejlődése során a parenchimarétegek vastagsága, és azok aránya, valamint a mezofillumsejtek felszíne rezisztens növényeken számottevő változást mutat. A nyári időszakon belül a rezisztens növények későbbi időpontban kifejlődött levelei (kifejtett levelek) vastagabb paliszád réteget fejlesztettek, mint az egyedfejlődés során korábban megjelenő levelek (idős levelek, 6. ábra). Ez lehet a rezisztens növények nyár folyamán megnövekedő fotoszintetikus kapacitásának a jele. A két parenchima levélen belüli aránya a később kifejlődött (kifejtett) levelekben egymáshoz közelebb áll, sőt, kissé a paliszád parenchima irányába tolódik el, míg az idős levelekben a szivacsos réteg határozottan vastagabb. Ez a nyári szöveti változás is csak a rezisztens genotípusra jellemző.

A f_{ias} és a g_{ias} külön főkomponenst képez, mivel szenzitív növényeknél szezonálisan (csak a g_{ias}), rezisztens növényeknél pedig a kifejtett és idős levelek között mutatnak számottevő eltérést. Az idős rezisztens növények mind f_{ias} mind g_{ias} értékei magasabbak, ami lehet a levél öregedésével megjelenő szöveti változás, amit szenzitív növényeknél nem figyelhetünk meg (PC4).

Nyáron az S156 genotípusnál a paliszád réteg átlagos vastagsága vékonyabb volt az R123-hoz viszonyítva, ez a különbség azonban nem volt szignifikáns. Ugyanakkor télen a szenzitív genotípus paliszád rétege szignifikánsan vastagabb volt. Ha a paliszád réteg eltérő vastagsága szerepet játszik az S156 genotípus ózonérzékenységében, akkor is csak nyáron jelenik meg, tehát feltételez egy

genotípusonként eltérő szöveti változást, ami a nyári évszakra jellemző meteorológiai viszonyok között alakul ki. Ezt az eltérést a két genotípus között az S156 genotípusnak a fényviszonyokhoz történő adaptációjának hiányosságaiiban látjuk.

A szenzitív levelek nyáron nem voltak képesek ugyanolyan erőteljessé fejlődni, mint télen. Annak ellenére, hogy méréseink magasabb fotoszintézis-intenzitást igazoltak a nyári vizsgálatok folyamán, az S156 genotípus vékonyabb levéllemezt és mezofillumot, szivacsos és paliszád réteget, és kisebb méretű sejteket fejlesztett nyáron, mint télen. Ezzel szemben az R123 genotípusnál éppen ellenkezőleg, nyáron vastagabb mezofillummal és paliszád réteggel rendelkező, vastagabb leveleket fejlesztett a téliéhez képest. Ez utóbbi reakció az, ami normális esetben elvárható volna egy növénytől, amely a magasabb fényintenzitáshoz alkalmazkodik (GAY és HURD 1975, KNECHT és O'LEARY 1972, WILD és WOLF 1980). Ezt összevetve a fentebb leírt különbséggel a két genotípus genetikailag meghatározott (vagyis télen mérhető) és a nyári epidermiszsejt- és sztómaméretében, az S156 genotípus nyáron vékonyabb leveleket fejlesztett, mint télen. Tehát a szenzitív növények levelei gyakorlatilag nem mutatták a fényadaptált körülményeknek megfelelő szöveti változásokat, ellenkezőleg, egy, a fényadaptációval ellentétes irányú folyamat következett be a levelek szöveteiben.

Abból, hogy télen a legtöbb sejt méretet és szövetvastagságot leíró paraméter különbözött, arra következtethetünk, hogy a két genotípus számos szövettani paramétere között genetikailag meghatározott eltérés van. Ezek az eltérések azonban a fenotípusban – feltehetően a környezeti tényezők és stresszorok hatására – a nyári időszakban a legtöbb esetben ellenkező irányúak. A téli mintákon történt méréseink során számos paraméter bizonyult szignifikánsan alacsonyabbnak a rezisztens genotípus leveleiben (1. és 3. és Melléklet, 11. táblázat).

A szöveti paraméterek nyári alacsonyabb értékei a szenzitív növényeknél összefüggésben lehetnek a sejtek elpusztulásával és a szövetek összezsugorodásával is (FERDINAND et al. 2000, GÜNTHARDT-GOERG et al. 2000, HARMENS et al. 2006). Ugyanakkor a szenzitív növények szöveteinek a fokozottabb oxidatív stresszel szembeni védekezéséhez több energiára van szükség, ami miatt a növények kevesebb energiát fordíthatnak szöveteik mennyiségi gyarapítására, mint a rezisztens genotípushoz tartozó egyedek. Ezt alátámasztja, hogy a rezisztens növények nyáron vastagabb leveleket és mezofillumot, nagyobb sejt felszínű paliszád sejteket fejlesztettek, mint télen, tehát másként hasznosították a rendelkezésre álló magasabb fényintenzitásból nyert energiát. Az S156 genotípusban a környezeti változások érzékelésének, valamint az azokra adott válaszreakcióknak a zavarára utal, hogy a szenzitív növények levelei gyakorlatilag nem mutatták a nyári fényadaptált körülményeknek megfelelő szöveti változásokat.

5.1.2 *A Trifolium repens két genotípusának összehasonlítása*

A *T. repens* NC-S genotípusnál nyáron mérhető magasabb sztómakonduktancia oka elsősorban a sztómák nagyobb mérete, mely a téli leveleknél még az NC-R genotípusban nagyobb. A sztómasűrűség és a légrések összfelülete a rezisztens genotípusnál magasabb, ezért a szenzitív genotípus magasabb sztómakonduktanciája ezekkel a paraméterekkel nem magyarázható. A nagyobb sztómaméret minden esetben a zárósejt nagyobb méretéből adódik, hosszabb sztómányílást eredményez, és együtt jár a nagyobb epidermiszsejt-mérettel, továbbá az alacsonyabb epidermiszsejt- és sztómasűrűséggel is (4. táblázat). Az NC-S genotípus szignifikánsan magasabb belső CO₂ szintje télen a szignifikánsan alacsonyabb CO₂ asszimilációjának köszönhető (5. táblázat).

Több, a sejtek méretét jellemző paraméter is nyáron a rezisztens növényben mutatott magasabb értékeket. Ez az eltérés, minthogy többnyire az idős levelek között jelenik meg, lehet a szenzitív levelek szöveteinek korábbi öregedésével járó jelenség. Ezzel szemben több, a sztómák méretét jellemző paraméter is télen rezisztens, nyáron szenzitív levelek esetén adott magasabb értékeket. A levelek sztómaszáma és epidermisz sejtszáma szinte mindvégig nagyobb az NC-R genotípusnál. A sztómák és sztómazárósejtek mérete viszont télen az NC-R, nyáron az NC-S genotípusnál magasabb. Ez a jelenség utalhat az ózonnak a szenzitív növények sejtosztódására vagy sejtnövekedésére gyakorolt hatására. A felső epidermiszsejtek területe ugyan télen is, nyáron is a szenzitív növényeknél szignifikánsan nagyobb, de nyáron a később kifejlődő (kifejlett) szenzitív leveleken nagyobb méretű epidermiszsejtek találhatók, mint a korábban kifejlődött (idős) leveleken. Az alsó epidermiszen a sztóma- és légrésméret csak a rezisztens növények esetében kisebb nyáron, mint télen. A kisebb sztómák fejlesztése újonnan megjelenő leveleken lehetséges védekezés a légszennyezés ellen (GOSTIN 2009), mely adataink szerint a rezisztens növénynél alakul csak ki, így egyike lehet a két genotípus ózonérzékenysége közötti különbséget okozó legfontosabb tényezőnek. Lehetséges védekezés az ózon ellen a később kifejlődő (kifejlett) rezisztens leveleken megjelenő vastagabb epidermisz is, mivel a légszennyezők egy része az epidermiszen keresztül hatol be a növények leveleibe (ELKIEY és ORMROD 1980).

A keresztmetszeti adatok 20 mért illetve számított paraméteréből elvégzett főkomponens analízis alapján 5 jelentős komponens különíthető el, melyek a teljes variancia 89,9 %-át magyarázzák (lásd: Melléklet, 14. táblázat). A teljes variabilitás legnagyobb hányadát (25%) képviselő első főkomponens a levélvastagsággal, az átlagos szivacsos parenchima sejt mérettel, a mezofillum, főként a szivacsos mezofillum vastagságával, és a mezofillumsejtek térfogatával korrelál. A második főkomponens (21,7%) a paliszád parenchima és szivacsos parenchima egymáshoz viszonyított arányával, valamint a paliszád parenchima összerenchimán belüli arányával korrelál. A harmadik főkomponensben (21,5%) az intercellulárisok hányada, gázkonduktanciája, valamint területüknek az aránya a teljes keresztmetszetben játszik meghatározó szerepet. A negyedik

főkomponens (12,8%) a mezofillum, ezen belül is főként a szivacsos parenchima sejtek felszínével, az ötödik főkomponens (8,8%) pedig a paliszád és a szivacsos parenchima sejtek térfogatával korrelál.

A télen fejlődött levelekhez viszonyítva nyáron mindkét genotípus fiatal, és a szenzitív genotípus érett és idős levelei is vékonyabbak, míg a rezisztens genotípus érett és idős levelei vastagabbak a télen fejlődött levelekhez képest. Az NC-R leveleket összehasonlítva a mezofillum, ezen belül is a szivacsos mezofillum nyáron számottevően vastagabb, és a mezofillumsejtek térfogata is NC-R levelek esetén nyáron nagyobb (PC1). Az átlagos szivacsos parenchima sejt méret (PC1), valamint a mezofillumsejtek felszíne (PC4) NC-R genotípusnál nyáron a legkorábban kifejlődött (idős) levelekben a legnagyobb, a kifejlett levelekben már valamivel kisebb, a fiatal levelekben pedig a legkisebb. NC-S levelekben viszont ilyen időbeli változás nem történik. Az NC-R idős leveleiben nagyobb szivacsos parenchima sejtek; és nagyobb sejt felszíni mezofillumsejtek találhatóak, mint az NC-S levelekben. Különösen az első főkomponensen belül különülnek jól el a két genotípus idős levelei.

Az intercellulárisok aránya (f_{ias}) NC-S genotípusnál mind kifejlett, mind az idős levelekben nagyobb, mint a fiatal levelekben. Az intercellulárisok gázkonduktanciája (g_{ias}) az NC-S genotípus idős leveleiben magasabb, mint az NC-R genotípusnál (9. ábra), ami összefüggésben lehet a szenzitív genotípus ózonérzékenységgel. Az NC-R genotípusban a téli leveleken mérthez képest jelentősen lecsökken ez az érték. A g_{ias} értéke szenzitív leveleknél nyáron az idős, tünetes levelekben magasabb, mint a fiatal levelekben, ami szintén növeli a variabilitást a harmadik főkomponensben.

A különbség a fiatal és idős levelek intercelluláris tereinek relatív mérete (f_{ias}) között ellenkezőképpen alakult, mint ahogy a bokorbab leveleknél láthattuk, vagyis a szenzitív genotípus intercellulárisainak mérete nagyobb volt az idősebb levelekben, míg a rezisztens genotípusé változatlan maradt. Ez arra utal, hogy az ózon az NC-S genotípus mezofillum szöveteit károsítja (FAORO és IRITI 2005), az intercellulárisok méretét valamelyest megnövelve (9. ábra). Annak az oka, hogy az idős szenzitív és rezisztens levelek között ez az eltérés az adatokban nem jelent meg szignifikánsan, az lehet, hogy idős szenzitív leveleknél az egész levéllemez összeesik, ellaposodik (vagyis az intercellulárisok mérete is arányosan csökken). Ezt az is bizonyítja, hogy nyáron a fiatal levelek esetében a szenzitív és rezisztens levelek vastagsága megegyezik, kifejlett leveleknél már a rezisztens levelek vastagabbak, de még nem szignifikánsan, az idős levelek esetében pedig már szignifikánsan vastagabbak a rezisztens levelek (8. ábra). További adalék, hogy a mezofillum NC-R genotípus esetében nyáron vastagabb, mint télen, de NC-S-nél nem; az NC-S levelek átlagos paliszád sejt mérete és sejt térfogata pedig nyáron kisebb, mint télen (3. táblázat). A levél szöveteinek „összeesésére” mutat a fehér herénél ezeken kívül, hogy szenzitív növényeknél az idős levelek szivacsos parenchima vastagsága és a mezofillum átlagos sejt térfogata szignifikánsan kisebb, mint a

kifejlett, még tünetmentes leveleknél. Vagyis az idős szenzitív fehér here levelekben a sejtek mintegy „összezsugorodtak”, különösen a szivacsos parenchimában, és az egész levélszövet elvékonyodott a rezisztens levéllel összehasonlítva (8. ábra, 3. táblázat, Melléklet, 29. ábra). Ezek a jelenségek az NC-S levelek korai öregeedésével magyarázhatók.

5.1.3 A két vizsgált bioindikátor faj szövettani paramétereinek összehasonlítása

A 20 db keresztmetszeti paraméter két különböző (téli és nyári) időszakban a két genotípuson mért adatain elvégzett főkomponens-analízis eredménye alapján *P. vulgaris* esetén 4, *T. repens* esetén pedig 5 főkomponenst kaptunk (lásd: Melléklet, 13. és 14. táblázat). Az első főkomponens, mely az összes variancia 23 (*P. vulgaris*) és 25%-át (*T. repens*) magyarázza, a mezofillum, ezen belül a szivacsos mezofillum vastagságával mindkét fajnál jól korrelált. Ezen felül bokorbabnál a mezofillum-, főként a szivacsos parenchima sejtek felszínével, fehér herénél pedig a mezofillumsejtek térfogatával, valamint szivacsos parenchima sejtek méretével korrelált. A második főkomponens, mely mindkét fajnál az összes variancia körülbelül 22%-át magyarázza, mindkét fajnál a két mezofillumréteg egymáshoz viszonyított arányával, valamint a paliszád mezofillum összparenchimához viszonyított arányával korrelált jól. A harmadik főkomponens, mely mindkét fajnál mintegy 21%-át magyarázta az összes varianciának, bokorbabnál a szivacsos parenchima sejtek méretével és térfogatával, fehér here esetében a sejtközötti járatok méretével, arányával és gázkonduktanciájával mutatott összefüggést. A negyedik főkomponens bokorbab esetében (az összvariancia mintegy 19 %-a) megfelelt a fehér here esetében leírt 3. főkomponensnek, vagyis az intercellulárisok tulajdonságaival volt összefüggésben; fehér here esetében (az összvariancia mintegy 13 %-a) a mezofillum, ezen belül a szivacsos parenchima sejtek felszínével korrelált (ezeket a paramétereket *P. vulgaris* esetén az 1. főkomponens tartalmazta). A fehér here ötödik főkomponense (az összvariancia majdnem 9%-a) a paliszád és szivacsos parenchima sejtek térfogatával korrelált. Mindebből legszembetűnőbb, hogy a mezofillum, főként a szivacsos mezofillum vastagsága, és sejtjeinek mérete, a két mezofillum egymáshoz viszonyított aránya, valamint a sejtközötti járatok mérete, aránya és gázkonduktanciája általánosságban, mindkét fajra jellemzően magyarázza a keresztmetszeti adatok varianciájának jelentős részét.

Télen bokorbab esetében a keresztmetszeten mért paraméterek mintegy 50%-a, fehér here esetében ennél valamivel kisebb része mutatott különbséget a két genotípusban, szinte mindig a szenzitív genotípus javára, mivel a szenzitív genotípus mindkét fajnál vastagabb szöveteket, és *P. vulgaris* esetén nagyobb méretű sejteket fejlesztett télen a rezisztens genotípushoz képest.

Az epidermisz-lenyomatokon mért paraméterek tekintetében viszont télen a két genotípus *T. repens*nél 60%-ban, *P. vulgaris*nál 30%-ban különbözött. *T. repens* esetén az epidermiszsejtek méretétől eltekintve itt a rezisztens növények mutattak magasabb értékeket (2, 3, 5, és Melléklet, 11,

12. táblázatok). A sztómaindex általánosságban véve nyáron valamivel magasabb volt, mint télen. A sztómaméret és a sztómazárósejt mérete fehér herénél főként a szenzitív genotípusnál, bokorbab esetében mindkét genotípusnál nagyobb volt nyáron. Az epidermiszsejtek mérete bokorbab mindkét genotípusánál nagyobb volt nyáron, mint télen.

Ami mindkét fajra jellemző volt: télen a szenzitív genotípus levél- és mezofillum-, sőt ezen belül mindkét mezofillumréteg vastagsága nagyobb volt, és nyárra ez a különbség eltűnt, sőt, a rezisztens levelek mutattak magasabb értékeket, különösen az idős leveleknél. Ezt az is magyarázza, hogy csak a rezisztens levelek esetében volt vastagabb a levél és a két mezofillumréteg nyáron, mint télen, szenzitív növényeknél mindkét fajban kisebbek, sok esetben jelentős mértékben és szignifikánsan kisebbek voltak ezek a paraméterek nyáron, mint télen. Mindebből azt a következtetést vonhatjuk le, hogy az adott kedvezőbb feltételeket nyáron csak a rezisztens növények tudták kihasználni a levél fényadaptált körülményeknek megfelelő vastagítására.

ELAGÖZ et al. (2006) babnövényeken végzett kísérletükkel bemutatták, hogy az ózonszennyezés a sztómakonduktanciát és a sztómasűrűséget is befolyásolja, és hogy ezek a paraméterek, valamint a sztómaméret kölcsönösen hatnak egymásra. Ezeket az eredményeket a mi méréseink is megerősítik, mivel az eltérő érzékenységű genotípusok mindkét fajnál a sztómaszám és sztómaméret eltérő változásaival reagáltak az ózonterhelésre. A nyári kifejlett levelek sztómaszáma és epidermisz sejtszáma mindkét fajnál magasabb a rezisztens növények esetében, a sztómák, sztómazárósejtek és epidermiszsejtek mérete pedig a szenzitív növényeknél. A sztómaszámot és sztómaméretet illető eredményeink több, korábban bemutatott kísérlet eredményeivel is összhangban vannak (HETHERINGTON és WOODWARD 2003, PÄÄKKÖNEN et al. 1997).

Az ózonterhelés eltérő hatása a két genotípusra megmutatkozik abban, hogy a sztómák mérete nyáron *P. vulgaris* esetében a kifejlett leveleken, *T. repens* esetében minden fejlődési fázisban nagyobb a szenzitív, mint a rezisztens leveleken. Télen a két genotípus sztóma- és zárósejt mérete *P. vulgaris* esetében többnyire egyforma, *T. repens* esetében egyforma, vagy nagyobb a rezisztens genotípusnál. Vagyis a rezisztens genotípusokban, nyári időszakban a sejtek növekedésszabályozása úgy változik meg, hogy kisebb méretű sztómák fejlődnek rajtuk, amely természetes védekezés a szennyezőanyag behatolása ellen, és összefügg a rezisztens növények alacsonyabb sztómakonduktanciájával (GOSTIN 2009).

Nyáron a kifejlett levelek epidermiszsejt-mérete nagyobb a fiatal levelekéhez képest, de fehér herénél csak a szenzitív genotípus esetében. Sem a szenzitív genotípusok magasabb sztómakonduktanciáját, sem azok ózonérzékenységét nem magyarázhatjuk a sztómasűrűséggel, mivel a szenzitív genotípus sztómasűrűsége mindkét fajnál legtöbb esetben télen is és nyáron is alacsonyabb a rezisztens növényekénél. A légrések összfelülete is mindkét fajnál, szinte minden esetben kisebb a szenzitív genotípusban. A fehér here epidermisz lenyomatain mért adatok tanúsága

szerint az egyetlen magyarázat akár a magasabb sztómakonduktanciára, akár az O₃ (feltételezhető) fokozottabb sztómás felvételére a szenzitív genotípusok nagyobb méretű sztómája, ami a zárósejtek nagyobb méretéből adódik, és olykor hosszabb sztómanyílással jár együtt. Bokorbab estében mindez csak a kifejlett levelekre jellemző, idős leveleknél még a rezisztens növények sztómaméretei nagyobbak. Vagyis, míg az R123 növények sztómamérete a hosszabb idő alatti kumulatív terhelés hatására a később kifejlődött (kifejlett) leveleken csökken a korábban kifejlődött (idős) levelekéhez képest, addig az S156 növényeken ezek a méretek a kifejlett leveleken nagyobbak az idős levelekhez képest, a szenzitív növény nem reagál hasonlóképpen erre a terhelésre. A fehér herére is jellemző nyári genotípusos eltérés a sztómaméreteken tehát bokorbabnál hosszabb idő – jelentősebb kumulatív környezetterhelés eredményeként alakul csak ki.

Ugyanez a helyzet az epidermiszsejtek méretével is: Míg fehér herénél mind a kifejlett, mind az idős levelek epidermiszsejt mérete nagyobb (epidermiszsejt sűrűsége pedig alacsonyabb) a szenzitív, mint a rezisztens genotípusban, addig bokorbabnál ez csak a később kifejlődött (a mintavétel időpontjában kifejlett) levelekre igaz. Idős levelek között még a rezisztens növényeknek nagyobbak az epidermiszsejtjei. A felületegységre eső sztómasűrűség azonban mindkét fajnál mindig alacsonyabb a szenzitív genotípusban, ami bokorbabnál az S156 genotípus alacsonyabb SI% értékében is megnyilvánul. Ettől eltekintve mindkét fajnál jellemző, hogy a nyári időszakban fellépő környezeti tényezők, vagy stresszfaktorok különbözőképpen hatnak az eltérő érzékenységu genotípusok sejtosztódására és sejtnövekedésére.

Bokorbabnál a sztómaméret különbségén kívül más magyarázat is kínálkozik a szenzitív növények magasabb sztómakonduktanciájára, és esetleges magasabb ózonzelvétele: kifejlett leveleken a légrések nagyobb mérete, fiatal és idős leveleken a nyitottabb sztómák is indokolhatják ezeket a jelenségeket.

Adataink mindkét faj esetében szemmel látható különbséget mutatnak az idős szenzitív és rezisztens levelek szöveti felépítésében (6. 7. 8. 9. és Melléklet, 28. 29. ábrák). Ez a különbség a bokorbabnál a szenzitív növények vékonyabb szivacsos parenchimarétegében és az intercellulárisok kisebb arányában nyilvánul meg. Fehér herénél a levél, a teljes mezofillum, és mindkét mezofillum réteg vékonyabb, a mezofillumsejtek térfogata és a szivacsos parenchima sejtek keresztmetszeten mért területe kisebb, a g_{ias} érték pedig magasabb az idős szenzitív, mint a rezisztens növényekben. A két genotípus teljes mezofillumvastagsága bokorbab esetében viszont csak kifejlett állapotú leveleknél különbözik (a szenzitív levél mezofillumma itt is vékonyabb). Az S156 genotípus idős leveleinek vékonyabb szivacsos rétege a levelek kisebb mennyiségű intercellulárisával van összefüggésben, míg főként a fehér here NC-S genotípusára jellemző, hogy sejteinek mérete kisebb, mint az NC-R genotípusban, ez okozza az idős levelekben a szövetek elvékonyodását. A sejtek korai öregedéséről és degenerálódásáról számolnak be [GÜNTHARDT-GOERG et al. \(2000\)](#) is fás

növények leveleiben ózonkezelés hatására. Az S156 genotípus sejtméret-csökkenésének hasonló okait feltételezzük.

Bár a nyári levélvastagság-beli különbség bokorban esetében semmilyen korú leveleknél nem bizonyult szignifikánsnak, viszont az már szignifikáns különbség, hogy míg a rezisztens növények levele nyáron, addig a szenzitív növényeké télen vastagabb. Ugyanez az eltérés felfedezhető a fehér here két genotípusa között is. Vagyis mindkét fajra jellemző, hogy az ózonszenzitív növények nyáron nem képesek ugyanolyan mértékű levélvastagodást produkálni, mint a rezisztens genotípusok egyedei.

Összegezve, a két genotípus mindkét fajnál számos mennyiségi szövettani paraméter tekintetében genetikai eredetű különbséget mutat, mivel stresszmentes körülmények között, télen is szignifikáns eltéréseket mérhettünk. Jellemzően a téli leveleken a szenzitív genotípusoknál a legtöbb keresztmetszeti paraméterben magasabb értékeket mérhettünk. A két genotípus között a téli időszakban tapasztalható különbségek legnagyobb része nyáron, amikor az ózonterhelés, a fény- vagy hőstressz, vagy ezek kombinációja befolyásolhatták a növények fejlődését, elfedődött, vagy ellentétes irányúvá vált. Nyáron jellemzően a szenzitív genotípusok sztómamérettel összefüggő paraméterei mutattak nagyobb értékeket.

Tehát a szezonálisan eltérő környezeti tényezők mindkét fajnál jelentősen eltérő mértékben befolyásolták a szenzitív és rezisztens genotípusok fenotípusos megjelenését. Az eltérő érzékenységu genotípusok reakciói a környezet változásaira a két vizsgált fajban sok hasonlóságot mutattak.

Mindkét fajra jellemző, hogy a szenzitív növények kevésbé tudják kihasználni a jobb fényviszonyokból adódó előnyöket, mint a rezisztens növények. A környezeti változások érzékelésének, és az azokra adott válaszreakcióknak a zavarára utal többek között, hogy a szenzitív növények levelei egyik fajnál sem mutatják a fényadaptált körülményeknek megfelelő vastagodást. Késeltetett, vagy elmaradt stresszválaszt tapasztalhattunk a szenzitív genotípusoknál, ahogy összehasonlítottuk az eltérő érzékenységu genotípusok sztómaméret- és epidermiszsejtméret-változásait, valamint *T. repens* esetében az eltérő genotípusok epidermisz-vastagságának változásait a különböző fejlődési fázisú leveleken. A stresszválaszban részt vevő gének gyengébb expresszióját írták le ózonérzékeny nyárfá genotípusban KOCH et al. (1998) is.

A két genotípus eltérő alkalmazkodásának hátterében állhat továbbá, hogy a *P. vulgaris* S 156 szenzitív genotípus és a *T. repens* NC-S genotípus szelektív előállításánál során e két genotípus génállománya egyoldalúan fejlődött vagy elszegényedett (homozigózis, vagy beltenyésztéses hatás). Ezeknek a genotípusoknak az előállításánál során ugyanis azokat az egyedeket választják ki, amelyek minél több látható tünetet mutatnak. Ez a folyamat tulajdonképpen egy olyan mesterséges szelekció, ahol az ózonra legnagyobb érzékenységet mutató, vagyis a leggyengébb egyedeket szelektálják ki továbbszaporításra. Ennek folyományaként a szenzitív genotípusok fenotípusos plaszticitása

lecsökkent; a megváltozott környezeti hatásokhoz és az oxidatív stresszhez való alkalmazkodóképességük szükségképpen nem a rezisztens genotípus-párjaiknak megfelelő mértékű.

Hogy az itt megemlített tényezők közül melyik lehet a legmeghatározóbb a szenzitív és rezisztens genotípusok eltérő működése szempontjából, annak eldöntéséhez nagyszámú, kontrollált körülmények között elvégzett szövettani mérésből, valamint biokémiai és genetikai vizsgálatokból álló kísérletsorozat elvégzésére volna szükség.

5.2 Az OTC kísérlet eredményeinek értékelése

5.2.1 Látható tünetek

A látható tünetek késleltetett megjelenésének egyik oka lehet a levél ózonérzékenységének függése a levél korától – a fiatal levelek általában kevésbé érzékenyek (HEATH 1975). Bizonyos növényfajokban kimutatták, hogy a látható tünetek csak jóval az élettani folyamatok károsodása után – esetleg csak a vegetációs periódus végén – alakulnak ki (DIAZ-DE-QUIJANO et al. 2012). Előfordulhat az is, hogy az alacsony ózonszintek hosszú távon nem okoznak látható tüneteket, csak a magas csúcértékek előfordulásakor - akut ózonterhelés esetén - alakulnak ki (HEATH és TAYLOR JR 1997). CHANG és YU (2001) egy extrém magas (400 ppb), de mindössze néhány óras ózonkezelést követően már 3 nappal látható tünetek megjelenéséről számolt be különböző virágágyi dísnövényfajokon. Lehetséges azonban, hogy a rövid ideig tartó nagy koncentrációjú ózonterhelés másképpen hat a tünetek kifejlődésére, mint a krónikus, de alacsonyabb koncentráció. Amikor a helyreállító folyamatok jobban érvényesülnek, és a növény vegetatív tömegének gyarapodása is nagy hatással lehet a látható tünetek százalékos arányára a teljes felülethez képest. Kísérletünkben is igazolást nyert, hogy egy bizonyos ózonszint alatt az intenzív növekedés időszakában a tünetek (teljes levélzetten belüli) aránya csökkenni kezd, mivel a biomassza növekedése gyorsabb a tünetek szaporodásánál. Jól látható például a 11A ábrán, hogy 2009-ben a rezisztens növényeken a látható tünetek kismértékű megjelenését azok arányának azonnali csökkenése követi.

Az emelt szén-dioxidon nevelkedett fehér here növényeken sokkal kisebb mértékben terjedtek el a látható tünetek (kiterjedésük nem haladta meg az 5%-ot), mint az OTC kontroll, vagy a szabadföldi növényeknél, vagyis az emelt légköri szén-dioxid fehér here esetében gátolta a látható tünetek kialakulását. Hasonló eredményre jutottak RÄMÖ et al. (2006) ózonérzékeny *Centaurea jacea* genotípuson: a tünetek megjelenése CO₂ kezelés hatására az ő kísérletükben is sokkal kisebb mértékű volt. A szabadföldi növények tüneteinek gyarapodása a 11B ábra alapján esetenként (például az első növedék második és harmadik mérésénél szabadföldön és kontroll OTC-ben) bizonyos mértékig együtt változik az átlagos hetenkénti kumulatív ózonterheléssel. Főként a kontroll OTC növényeknél, valószínűleg a melegebb és szárazabb mikroklíma hatására azonban láthatólag sokkal

inkább érvényesülnek egyéb, a látható tünetek kialakulását és az egész növényen belüli százalékos arányát befolyásoló hatások. A legintenzívebb növekedés időszakában a kontroll OTC-ben nevelkedett növényeken a tünetek százalékos arányának csökkenése is megfigyelhető.

Fehér here esetében meglepő, hogy a látható tünetek mértéke semmiféle összefüggést nem mutat a kumulatív ózonértékekkel. Ez részben annak tulajdonítható, hogy a fehér here kiterjedt lombozata a vegetációs periódus során végig gyors ütemben növekszik. Emiatt a látható tüneteknek mind a detektálhatósága, mind az egészséges lombhoz viszonyított aránya csökken. A felvételezések során így a látható tünetek kiterjedését egyre kisebbnek becsülhettük, még akkor is, ha a nekrotikus foltok száma időközben növekedett.

Másik magyarázat is kínálkozik azonban erre a jelenségre, még hozzá az, hogy az anyanövény idővel valamelyest akklimálódik a fokozódó ózonstresszhez. Ezt alátámasztja, hogy a növedékek száma (az első sztóló ültetésétől számítva hányadik betakarítás egy adott tónél) negatívan korrelált a károsodás mértékével az NC-S genotípuson (9. táblázat), de az összes növényen, együttesen mért adatokat értékelve is (7. táblázat). Vagyis a levelek lenyírása után fejlődő új lombzat mindig valamivel kisebb mértékű károsodást mutatott, mint az előző alkalommal. Ez azt jelenti, hogy az anyanövényben egy akklimációs folyamat indult el. Külön vizsgálva a kezeléseket, ez az akklimációs folyamat csak a kamrás kezeléseknél játszódtott le. Ennek az összefüggésnek a korrelációs koefficiense emelt CO₂ szinten -0,908, vagyis az emelt légköri CO₂ szint hosszú távon hozzájárulhat egy növényfaj látható tünetekben megnyilvánuló ózonérzékenységének csökkenéséhez. Tekintetbe véve az akklimációt, ésszerűbb lehet olyan bioindikátorok alkalmazása, melyek magról kelnek, és betakarításukkal a teljes növény életciklusa véget ér. Ezek használata ugyan valamivel körülményesebb, és például a száraztömeg tekintetében kevesebb mérést enged meg, de elkerülhető a növény stresszhatáshoz való alkalmazkodásának lehetősége. A látható tünetek aránya szignifikánsan emelt CO₂-on és az OTC kontroll kezelésnél csökkent növedékről növedékre (8. táblázat).

5.2.2 *Vegetatív és generatív fejlődés*

RÄMÖ et al. (2006, 2007) több fajon elvégzett vizsgálataik során az ózon csökkentette a klorofilltartalmat, a virágok számát, a természámot és a termések tömegét, valamint a föld feletti biomassza száraztömegét; korai öregedést okozott, valamint lassította a növekedést, a virágzást pedig késleltette. A szén-dioxid ezeket a hatásokat fajtól és évtől függően különbözőképpen befolyásolta, amely ellentmondásosságra más tanulmányok is rávilágítanak (DERMODY et al. 2006). Kísérletünkben az őszi méréseknél a bokorbab növények termés-száraztömegének szignifikáns eltérései a kezeléseknél (a szabadföldi szignifikánsan alacsonyabb a másik két kezeléshez képest) valószínűleg csak a kamrák hőmérséklet-emelő hatásának köszönhető, ahol a növények életciklusa

meghosszabbodott. EICHELMANN et al. (2004) is az aktív periódus meghosszabbodásáról számoltak be az OTC-kben nyírfaklónokon végzett vizsgálataik során. Több kísérletben bemutatták, hogy bizonyos ózonkoncentrációk fölött az S156/R123 arány a hüvelytermések száraztömegében csökkenni kezd, és szignifikáns különbség jelenik meg a két genotípus között (BOOKER et al. 2009, BURKEY et al. 2012b, BURKEY et al. 2005), ami azt mutatja, hogy az ózonerhelés növekedése esetén az S156 genotípus a termésképzésre egyre kevesebb energiát fordít. Kísérletünkben hasonlóképpen, a legmagasabb, 6,2 ppmh körüli átlagos heti kumulatív ózonerhelés mellett csökkent ez az arány mindhárom kezelésnél jelentős mértékben egy alá, és az eltérés S és R között is csak ekkor volt szignifikáns, méghozzá az emelt CO₂-os kezelés esetén. Igaz, hogy az S/R arány itt sem süllyedt 0,5-ig, mely értéket BURKEY et al. (2012a) úgy jelöltek meg, mint az érzékeny vegetációra káros mennyiségű ózonerhelés jelzésére alkalmas számot. Az említett tanulmányban az emelt (550 ppm) CO₂ kompenzálta az ózon hatását, a mi esetünkben azonban éppen emelt CO₂ szinten volt szignifikáns a két genotípus által fejlesztett termések száraztömege közötti különbség. Ez nem meglepő, mivel az irodalmi adatok is rendkívül ellentmondásosak, bizonyos források megerősítik a CO₂-nak az ózon káros hatását fokozó jellegét is (WUSTMAN et al. 2001). Az eltérő kísérleti eredmények magyarázhatók az egyéb környezeti feltételek különbségeivel, vagy akár az ózon és a szén-dioxid dózisének eltéréseivel, sőt egyéb légszennyezők jelenlétével, vagy hiányával is (VIALETTO et al. 2002). A korrelációanalízis eredményei alapján a mi kísérletünkben emelt CO₂ szinten volt a legszorosabb az ózonerhelés összefüggése bokorbabnál a látható tünetek arányával is (11A ábra). A hüvelyszám S/R aránya, fehér herénél pedig a virágszám S/R aránya is csak emelt CO₂ szinten csökkent az ózonerheléssel (8. táblázat).

A levélszám csökkenését 2009-ben a rezisztens *P. vulgaris* genotípusnál a kamrában nevelt növények esetén egy jelentős növekedés előzte meg; a napsütés órák magasabb száma a nyár közepén nyilvánvalóan serkentőleg hatott ezeknek a növényeknek a növekedésére, míg a szenzitív növények nem voltak képesek ugyanolyan mértékben kihasználni a rendelkezésre álló energiaforrásokat (13. ábra). Ellenkezőleg, a szenzitív növények levélszámának növekedési üteme emelt CO₂-on a vetés utáni tizedik hétre lassulni kezdett, a kontroll OTC-ben pedig ugyanekkora már csökkent a levélszám. A rezisztens bokorbab genotípus tehát magasabb ózonkoncentrációk esetén mind generatív, mind vegetatív növekedésben sokkal nagyobb teljesítményre volt képes, főként a kontroll OTC-ben és emelt CO₂-on, ahol a kamrák magasabb hőmérséklete is kedvezett a gyors növekedésnek. A termésszámban nagyon hasonló változások figyelhetők meg; azzal a kiegészítéssel, hogy a 2008-as kissé alacsonyabb ózonkoncentrációk esetén a szenzitív növények valamivel többet teremtek, amikor pedig 2009-ben hosszabb időn keresztül kiemelkedően magasak voltak a kumulatív O₃ értékek, ez már a rezisztens növények javára tolt el a termésszám növekedésének mértékét. Mintegy 6,57 ppmh

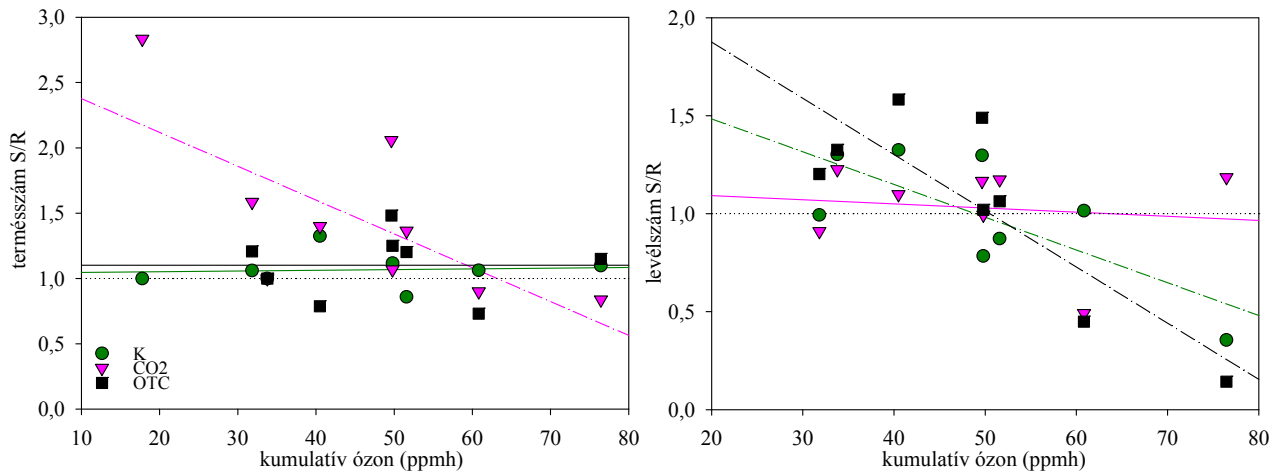
kumulatív terhelés mellett azonban már mindkét genotípus – az érési állapottól függetlenül – hullatni kezdte a terméseit.

Általánosságban, a nevelési körülmények (kamrában, vagy kamrán kívül) és a nappal hossza (nyári vs. őszi mérések) nagyobb hatással voltak a bokorbab vegetatív és generatív fejlődésére, mint az ózonkoncentrációk, viszont a szenzitív és rezisztens genotípusok fejlődése közötti különbséget befolyásolta a kumulatív ózonerhelés. Emelt CO₂ szinten pedig sok paraméter tekintetében nagyobb különbség alakult ki a genotípusok között az ózonerhelés függvényében.

Az, hogy az S156 növények levélhullását jobban serkenti az elszennvedett ózonerhelés, mint az R123 növényekét (9. táblázat), arra enged következtetni, hogy a levelek korai elhullása utalhat egy adott növényi genotípus ózonérzékenységére is. A szenzitív növényeken megjelenő tünetek %-os aránya a kumulatív összes ózon és AOT40 értékekkel gyengébb összefüggést adott, és jól korrelált a vetéstől a mérésig eltelt napok számával (DAS) is. A látható tünetek terjedése tehát egy időbeli változás, és nem feltétlenül kizárólag az ózonerhelés következménye.

Természetesen a babnövények levélszáma a növekedés kezdeti időszakában gyarapszik, és csak bizonyos idő elteltével, a kumulatív stressz vagy az öregedés hatására kezd el csökkenni. Így semmiképp sem korrelálhat negatívan a növény életciklusából a levélszámlálásig eltelt idővel. A levélszámból származtatott másik paraméter, a levélszám S/R aránya azonban már objektívebb megközelítést ad (22. ábra), és ez a paraméter szintén csak az ózonerheléssel ad szignifikáns összefüggést (7. táblázat). Vagyis az ózonerhelés jelzésére és nagyságrendjének becslésére a levélszám S/R aránya a károsodás mértékével legalább egyenértékű, ha nem jobb indikátor, ami jól látszik a levélszám S/R arányának és az ózonértékeknek a szignifikáns negatív összefüggéséből. Emelt CO₂-on a sztómakonduktanciának, valamint a hüvelytermések számának S/R aránya és a levélszám is csökkent az ózonerhelés függvényében (8. táblázat). Kísérletünkben az emelt CO₂ hozzájárult a *P. vulgaris*-on a tünetek O₃ függő kialakulásához és a hüvelyszám S/R arányának csökkenéséhez, viszont a levélszám S/R arányának O₃ függő csökkenését megakadályozta (22. és 23. ábra).

A fehér here két genotípusa között a következő morfológiai eltéréseket tapasztaltuk: annak ellenére, hogy a föld feletti összes biomassza száraztömegét a virágszám nagyban meghatározza, a virágszám általában a rezisztens, míg a száraztömeg általában a szenzitív növényeknél volt magasabb (14A és B ábra), ami azt jelenti, hogy szenzitív növények esetén a vegetatív biomassza képzése, míg a rezisztens genotípusnál a generatív fejlődés a meghatározóbb. Szignifikáns eltérést azonban a száraztömegek között egyik kezelésnél sem mértünk. A szenzitív növények csak alacsony kumulatív ózonértékek mellett, a szabadföldi kezelésen múlták felül a rezisztenseket virágszámban. Emelt széndioxid szinten a rezisztens fehér here növények száraztömege mindössze egy esetben haladta meg valamivel a szenzitív növényekét (14B ábra).

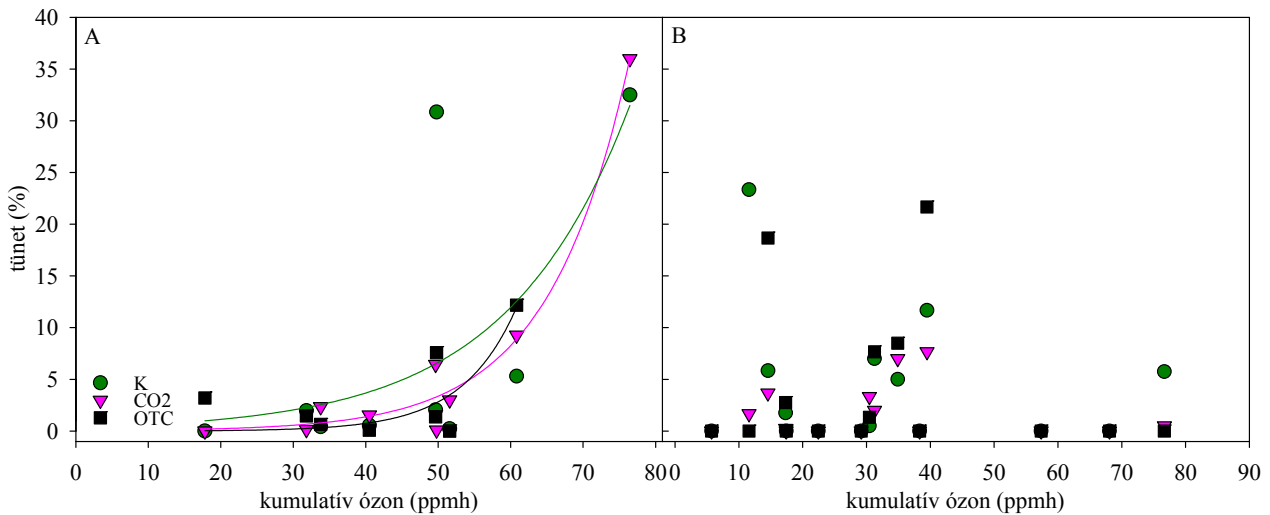


22. ábra: A *P. vulgaris* termésszám és levélszám S/R arányának összefüggése a kumulatív ózonterheléssel a különböző kezeléseken. K= szabadföld, CO₂= OTC emelt szén-dioxiddal, OTC=kontroll OTC. A statisztikailag szignifikáns összefüggéseket szaggatott vonallal jelöltük.

5.2.3 Élettani jellemzők

Az ózonnak bizonyos mértékű kumulatív dózisa lelassítja a sztomák válaszkészségét különböző környezeti tényezőkre (HOSHIKA et al. 2012, ONANDIA et al. 2011, PAOLETTI és GRULKE 2005, 2010, WILKINSON et al. 2012), még nagyobb dózis elégtelen sztomazáródást okoz, így végül a transzspiráció szabályozása is zavart szenved, ami nagyobb arányú vízvesztést okoz (PAOLETTI 2005, 2007). Az ózon hatására bekövetkező megemelkedett éjszakai transzspirációról már több tanulmányban beszámoltak (GRULKE et al. 2004, GRULKE et al. 2007a). Ezzel összefüggésben az ózon a folyadékáramlást is fokozza a növényben, így végső soron a sztomákra gyakorolt hatásán keresztül a növényben vízhiányos állapotot idéz elő (PAOLETTI 2007). Egyes kutatók szerint a sztomaműködésnek ez a korlátozódása áll a genotípusosan meghatározott ózonérzékenység hátterében (DUMONT et al. 2013, GRULKE et al. 2007b). HOSHIKA et al. (2013) leírták, hogy a sztomák ózon hatására bekövetkező működési elégtelensége a szárazságstresszel szembeni fokozott érzékenységhez vezetett ózon bioindikátor bokorban szenitív genotípusánál. Vagyis a kétféle abiotikus stressz hatása összeadódott.

Kísérleti eredményeink alapján mi is ugyanezt állapíthattuk meg. Az ózonstressz hatása sok esetben összeadódott a kamrák szárazabb és melegebb levegőjének hatásaival. Adataink szerint az időjárási viszonyok, valamint a fejlődési fázis és a kamrahatás együttesen határozzák meg, hogy a szabadföldi, vagy az OTC kontroll bokorban növények sztomakonduktanciája a magasabb. Méréseink szerint az is nyilvánvaló, hogy az S156 genotípusnak nem csak a sztomazáródása, hanem a sztomanyitódása is elégtelen. A hűvösebb és fényszegényebb őszi időszakban, amikor a túlzott párologtatás már nem jelentett plusz stresszt a növény számára, a rezisztens genotípus nyitottabb sztomáival több szén-dioxid felvételére és intenzívebb fotoszintézisre volt képes, ami szenitív növényeknél így nem valósult meg.



23. ábra: A *P. vulgaris* (A) és a *T. repens* (B) szenzitív genotípusain megjelenő látható tünetek arányának összefüggése a kumulatív ózonterheléssel különböző kezeléseken. K= szabadföld, CO₂= emelt CO₂-szint, OTC=kontroll OTC.

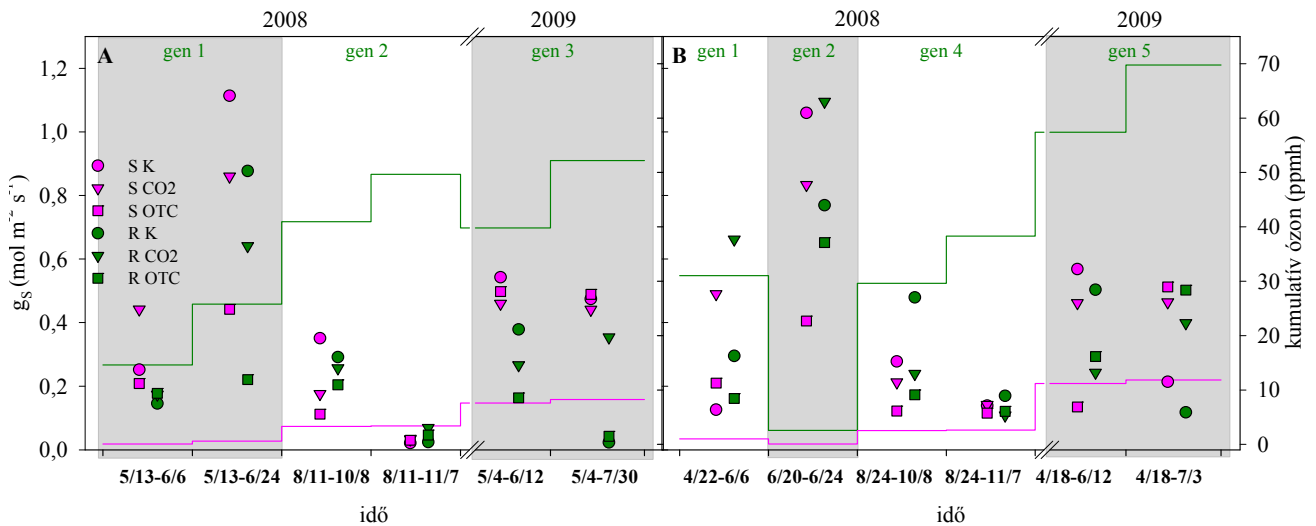
A sztóma zárásának és nyitásának gátlása, mint az ózonterhelés hatása már korábbi tanulmányokban is bizonyítást nyert (PAOLETTI 2005). A 15A ábrán jól látható, hogy az emelt szén-dioxidos kezelés elősegíti a szenzitív növények sztómazárását a nyári időszakban, aminek következtében itt a két genotípus sztómakonduktanciájának hányadosa sosem szökik 1,5 fölé, míg a szabadföldi és kamrás növényeknél extrém különbségek alakultak ki. A sztómák őszi korai bezárulását a szenzitív növényeknél a szén-dioxid kezelés nem befolyásolta, ahogy a két genotípus teljesítménye közötti különbséget sem; viszont a kamrahatás és az ózonterhelés hatása a szenzitív növényekre összeadódott a fotoszintézis korai diszfunkcióját okozva, amint az az RfD érték S/R arányának őszi drasztikus csökkenéséből látható (16. ábra). Lehetséges, hogy a kamrában kialakuló magasabb hőmérséklettel járó enyhe hőstressz a szenzitív növények fotoszintézisét erőteljesebben gátolta, míg a szabadföldi kezelésen növekvő szenzitív növények fotoszintetikus teljesítménye sok esetben jobb volt az azonos körülmények között fejlődő rezisztens növényekéinél.

Egy két babfajta ózonérzékenysége közötti eltérésről szóló tanulmányban a szenzitív fajta sztómakonduktanciája magasabb volt, az a képessége pedig, hogy fölösleges gerjesztési energiáját nemfotokémiai kioltás útján vezesse el, gyengébb, mint a rezisztens babfajtáé. Így tehát a Φ_{PSII} fény hatására bekövetkező csökkenését semmi sem kompenzálta. A PSII felesleges gerjesztési energiától való megóvására és a reaktív oxigénradikálok képzésének megelőzésére, valamint azok redukálására a szenzitív fajtahoz tartozó növények lényegesen kisebb kapacitással rendelkeztek. Mindezek következményeként ózon hatására a szenzitív növényekben károsodott a fotoszintetikus apparátus, a sejtek pedig szétestek GUIDI et al. (2010). Kísérletünkben sok hasonló eredményt kaptunk. A szenzitív bokorbab genotípus sztómakonduktanciája szinte mindig magasabb volt, és a legnagyobb

mértékű kumulatív ózonerhelés mellett a szenzitív növényeknek mind az Fv/Fm, mind az Rfd értékei alacsonyabbak lettek a rezisztensekéinél.

HOSHIKA et al. (2012) tanulmánya szerint az ózon a sztómaműködés károsításán keresztül a növények alkalmazkodóképességét csökkenti. Esetünkben az érzékenyebb genotípus alkalmazkodóképessége egyértelműen gyengébb volt. Az élettani paraméterek közül az emelt széndioxid a rezisztens bokorbab növények sztómáinak – stresszhatástól (ózonerhelés) vagy az élelciklus előrehaladtától függő – záródását, vagy ezeknek hatására bekövetkező teljes inaktiválódását késleltette (24. ábra), ezért volt alacsonyabb a g_s S/R arány emelt CO₂ szinten magas ózonerhelés mellett. Az emelt CO₂ szint ezen kívül az összes növény öregedését késleltette, általános ellenállóképességét megnövelte, amint az kiderült a fotoszintézis hatékonyságát jellemző paraméterek alakulásából az őszi, illetve a számottevő kumulatív ózonerhelést követő mérésekkor (25. ábra).

CROUS et al. (2006) a fehér here szenzitív és rezisztens genotípusainak fiziológiai sajátosságait tanulmányozta, mely kísérlet során kimutatták, hogy - a rezisztens növények genetikailag kódolt magasabb klorofill-tartalmától eltekintve - eltérés a két genotípus fiziológiai paramétereiben csak az emelt ózonkoncentráció hatására mutatkozott. Ugyanis a szenzitív növények működése ennek a hatásnak az eredményeképpen megváltozott. Míg a rezisztens genotípusra nem volt hatással a kumulatív ózonfelvétel, a szenzitív genotípus majdnem minden vizsgált gázcsere-paraméterben alacsonyabb értékeket mutatott. Így például csökkent a szenzitív növények fotoszintézis intenzitása és karboxilációs kapacitása is. A két genotípus sztómakonduktanciájában is csak az ózonerhelést követően volt tapasztalható eltérés: a kis mennyiségű ózon hatására történő kezdeti emelkedés után a rezisztens genotípus sztómakonduktanciája szignifikánsan csökkent. Míg magasabb fotoszintetikus rátát mutatott, a rezisztens genotípus nemfotokémiai kioltásának mértéke is magasabb volt a szenzitív genotípuséhoz képest. Ez arra utal, hogy a szenzitív genotípus érzékenyebb a reaktív oxigéngyökök jelenlétére, melyek a sejtmembránok károsításával látható tünetek kialakulását idézik elő (GEROSA et al. 2009). A bokorbabnál és a fehér herénél tehát irodalmi adatok nagyon hasonló folyamatokkal magyarázzák a szenzitív és rezisztens genotípus működésének eltéréseit. A kutatók következtetései alapján az ózonrezisztencia a sztómaműködéssel, valamint a nemfotokémiai kioltás mértékével van összefüggésben (FREDERICKSEN et al. 1996, GUIDI et al. 2010, GUIDI et al. 2001, PYE 1988).



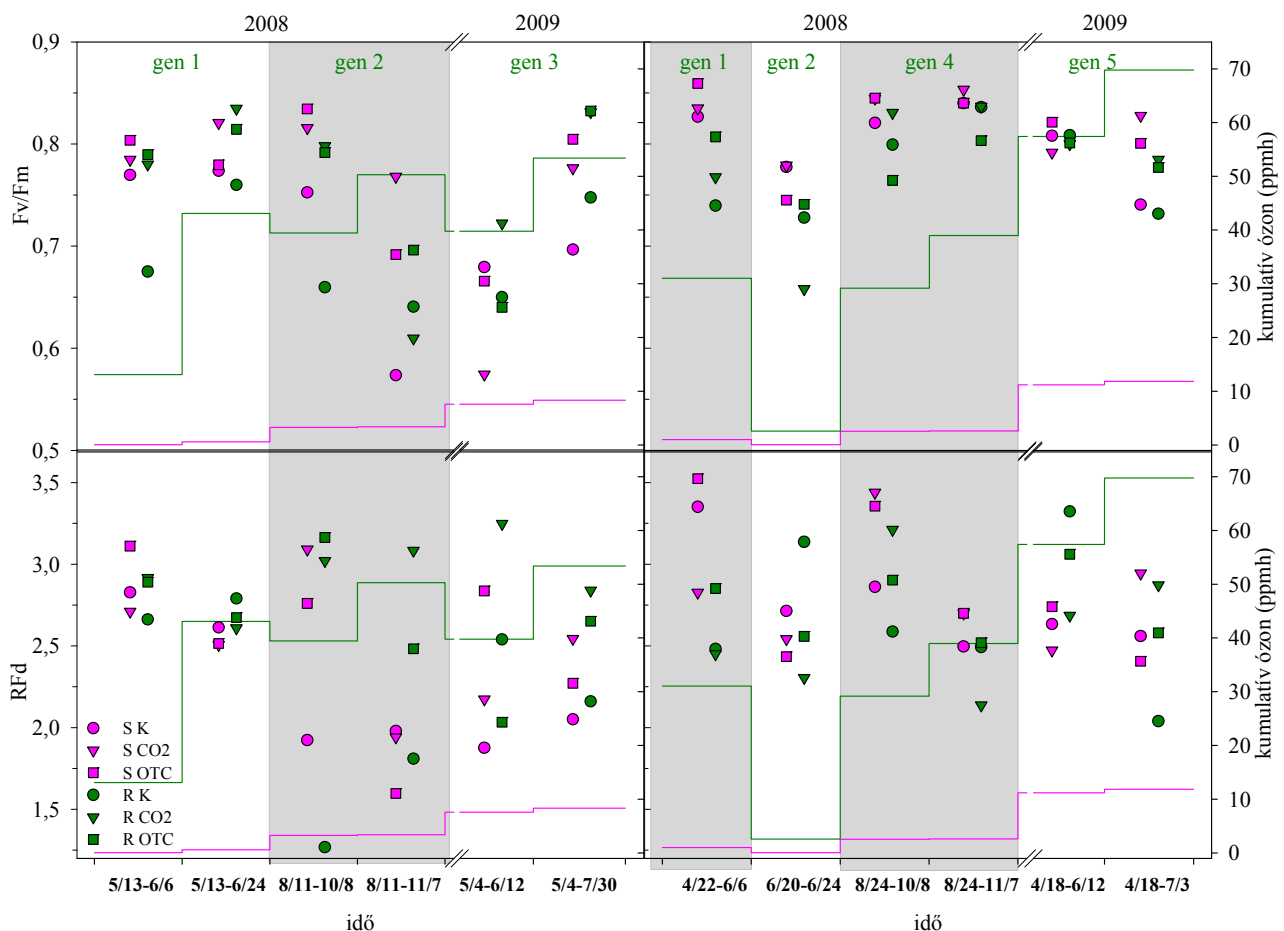
24. ábra: A *P. vulgaris* (A), és a *T. repens* (B) két genotípusán mért sztómakonduktancia értékek. A zöld vonal az x-tengelyen jelölt időszakok órás átlagos ózonkoncentrációinak kumulatív összegét, a rózsaszínű vonal az órás átlagos AOT40 értékek kumulatív összegét jelölik. Az x tengelyen jelölt időszakok első időpontjai az ültetést, az utolsó időpontok a mérés időpontját jelölik. Szimbólumok: S K=szabadföldi szenzitív; S CO₂=emelt CO₂-os szenzitív; S OTC= szenzitív a kontroll OTC-ben. R K=szabadföldi rezisztens; R CO₂=emelt CO₂-os rezisztens növények; R OTC= rezisztens kontroll OTC-ben. Az ábrán feltüntettük a vizsgálat évét és a vizsgált növedék (gen) számát.

Az itt bemutatott kísérlet adatai szerint a fejlődési stádium és a kamrahatás mindkét faj sztómakonduktanciáját jobban meghatározzák, mint akár a légköri szén-dioxid mennyisége, akár az ózonerhelés. A fehér herén mért összes adaton, együttesen elvégzett varianciaanalízis szerint a kezelés csak az NC-S növényeknél határozta meg szignifikánsan a sztómakonduktanciát (lásd: Melléklet, 15. táblázat). Az adatokat tovább vizsgálva elmondható, hogy a szenzitív növények sztómányitottságát főként a kamrahatás jelenléte határozta meg. A rezisztens növények sztómakonduktanciájára az emelt CO₂ szint is hasonló mértékben hatott, de az átlagok mindkét genotípusnál a szabadföldi > emeltCO₂ > OTC kontroll sorrendben alakultak, ami arra utal, hogy a sztómakonduktancia változásaiban a kamrahatás a legmeghatározóbb, és ezt a hatást az emelt CO₂ szint csökkenti (6. táblázat). Ez különösen jól látszik az utolsó mérési időpontban (lásd: Melléklet, 17. táblázat).

Fehér herénél a sztómakonduktancia S/R arányát nagymértékben meghatározza a mérés előtt a növényt terhelő kumulatív ózommennyiség (15B ábra). A 15B ábrán megfigyelhető, hogy a megfelelő sztómazárás hiánya szenzitív fehér herénél határozottan összefügg a növények által elszenvedett kumulatív ózonerheléssel.

CHANG és YU (2001) kísérletében az ózonérzékenység és az ózonerhelést követő, valamint az azt megelőző mérés során mérhető sztómakonduktancia-értékek hányadosa között szignifikáns negatív korreláció adódott. A mi hosszabb időtartamú kísérletünk során is ennek megfelelően változott az NC-S és NC-R fehér here genotípusok sztómakonduktancia-értékeinek aránya. A gs S/R

szinte folyamatosan nőtt az idővel és a kumulatív ózonerheléssel (15B ábra; 7. táblázat). Ezek az összefüggések azonban csak szabadföldön voltak szignifikánsak – ahol a gs S/R igen szoros pozitív korrelációt mutatott az ózonerheléssel (26. ábra). Ez összefügg azzal, hogy szabadföldön a sztómák eleve nyitottabbak, vagyis nagyobb mennyiségű O₃ juthat be a levélbe. Ez pedig azt bizonyítja, hogy a szenzitív növények túlzott sztómanyitása nem oka, hanem következménye a növényeket ért ózonstressznek. Tehát az NC-S genotípus ózonérzékenysége közvetlenül nem annak magasabb sztómakonduktanciájával függ össze. Arra a következtetésre jutottunk, hogy a fehér here két genotípusán azonos körülmények között mért sztómakonduktancia S/R arányát meghatározva az ózonerhelés mértékéről is információt nyerhetünk.

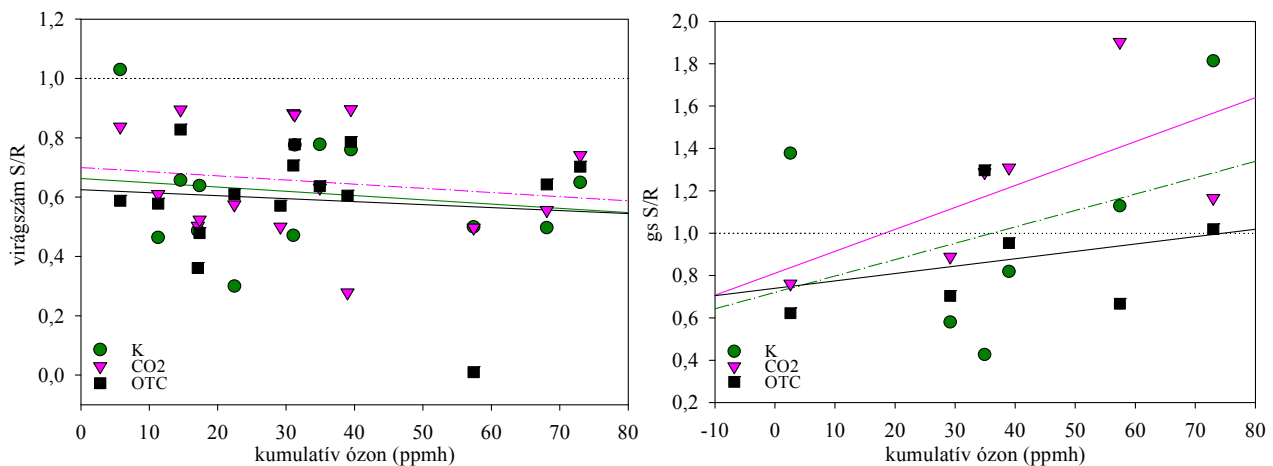


25. ábra: A *P. vulgaris* (A, B), és a *T. repens* (C, D) két genotípusán mért Fv/Fm és RFd értékei. A zöld vonal az x-tengelyen jelölt időszakok órás átlagos ózónkoncentrációinak kumulatív összegét, a rózsaszínű vonal az órás átlagos AOT40 értékek kumulatív összegét jelölik. Az x tengelyen jelölt időszakok első időpontjai az ültetést, az utolsó időpontok a mérés időpontját jelölik. Szimbólumok: S K=szabadföldi szenzitív; S CO₂=emelt CO₂-os szenzitív; S OTC= szenzitív a kontroll OTC-ben. R K=szabadföldi rezisztens; R CO₂=emelt CO₂-os rezisztens növények; R OTC= rezisztens kontroll OTC-ben. Az ábrán feltüntettük a vizsgálat évét és a vizsgált növedék (gen) számát.

Bokorbab esetében a sztómakonduktancia S/R arányának hasonló növekedését 2008-ban nem figyelhettünk meg, sőt - az összes adatot összevetve - a gs S/R arány időbeli csökkenést mutatott. aminek oka elsősorban a két genotípus emelt CO₂ szinten tanúsított eltérő viselkedése, vagy az ahhoz

való eltérő akklimatizációs stratégiájuk volt. Az emelt CO₂ szinthez való akklimáció típusa ugyanis egy faj különböző fajtái között is mutathat eltérést (TUBA 2003).

2009-ben azonban szabadföldön és a kontroll OTC-kben a gs S/R arány extrém módon megnövekedett a két mérési időpont között (15A ábra). A két bioindikátor fajon 2009-ben mért adatokból levonható az a következtetés, hogy az emelt CO₂ kezelés megakadályozta a szenzitív és rezisztens növények sztómakonduktanciája közötti különbségnek azt a fokozódását, ami az ózonerhelés hatására várhatóan bekövetkezik (CHANG és YU 2001, REILING és DAVISON 1995). Ebben az értelemben tehát a fiziológiai ózonzválaszt az emelt CO₂-os kezelés 2009-ben ellensúlyozta. Ez az eredmény azért is hiteles, mert a két mérést mindkét növényfaj egy növedékén, vagyis ugyanazon egyedein végeztük el (fehér here estében a két mérés között nem nyírtuk le a leveleket). Bokorbab esetén mindkét év adatainak együttes korrelációanalízise is alátámasztja ezt az elképzelést, mivel emelt CO₂ szinten a várható ózonzválasz ellenkezője következett be, vagyis a gs S/R csökkent az ózonerheléssel (8. táblázat).



26. ábra: A *T. repens* virágszám- és sztómakonduktancia-értékeinek S/R arányának összefüggése a kumulatív ózonerheléssel, különböző kezeléseken. K= szabadföld, CO₂= OTC emelt szén-dioxiddal, OTC=kontroll OTC. A virágszám S/R csak emelt CO₂- szinten, a gs S/R csak szabadföldön függött össze szignifikánsan az ózonerheléssel (szaggatott vonalak).

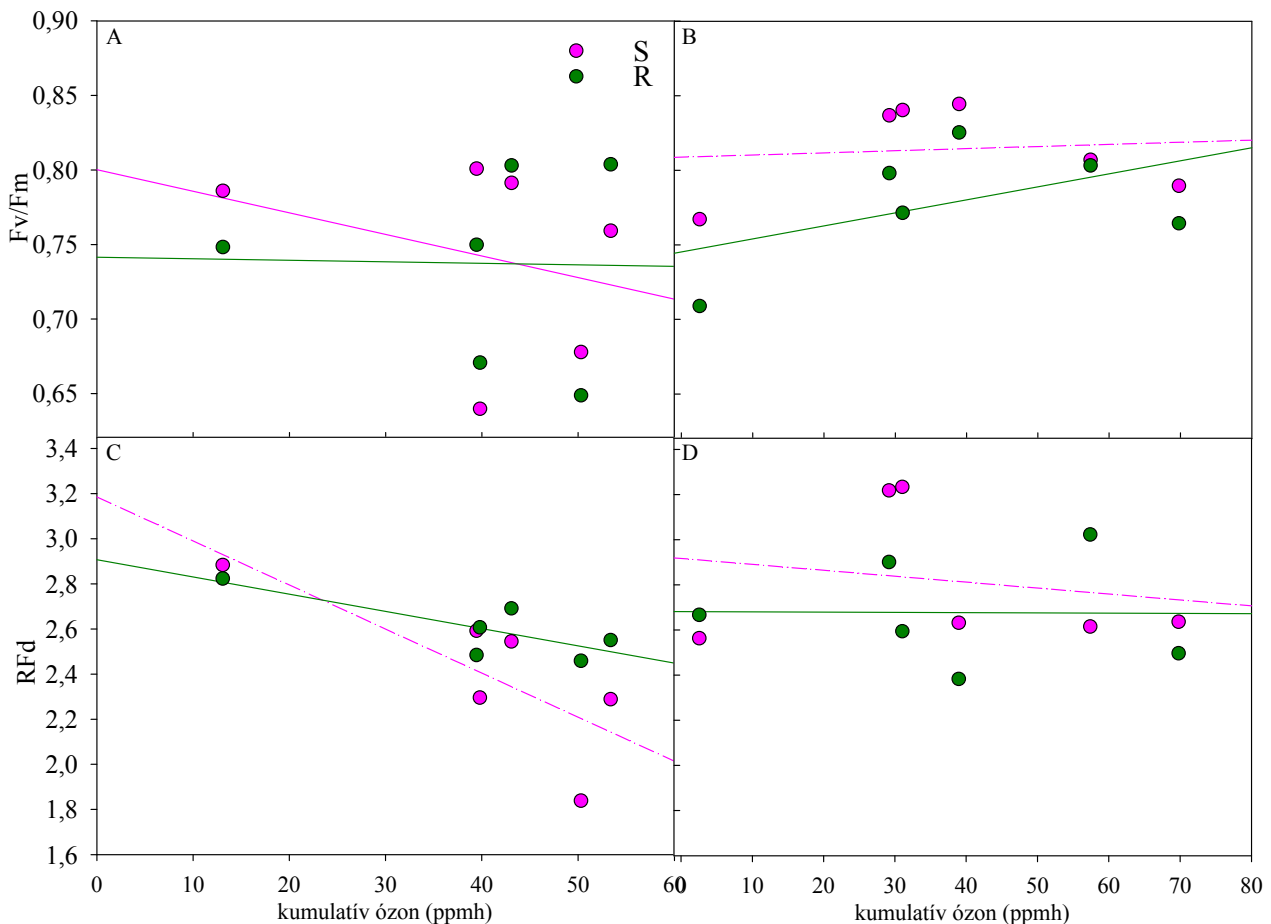
Az Fv/Fm és RFd értékek alapján a szenzitív fehér here növények fotoszintetikus hatékonysága általában valamivel magasabb volt, mint a rezisztens növényekéi. Kivételt képeznek esetenként a vegetációs periódus végén, vagy magas ózonerhelések mellett történt mérések eredményei (16C és D ábrák). A szenzitív növények rezisztens növényekhez képesti korai öregedése (RÄMÖ et al. 2006, 2007) például jól tükröződik a novemberi mérés Fv/Fm értékeinek alacsony S/R arányából. Az emelt légköri szén-dioxidnak és a légköri ózonerhelésnek az Fv/Fm értékekre gyakorolt hatását egyik genotípusban sem lehetett kimutatni, de az RFd érték a kontroll OTC-ben csökkent az ózonerheléssel (8. táblázat). Ez azt mutatja, hogy az OTC-ben uralkodó mikroklímatis viszonyok az emelt CO₂ kedvező hatása nélkül stresszorként hatottak a növényekre, ami fehér herén az RFd és a

sztómakonduktancia-értékek fokozott csökkenésében mutatkozott meg.

A 9. táblázatban foglalt adatok alapján a *P. vulgaris* S156 genotípus sztómakonduktanciája időben csökkent, az 7. táblázatból pedig kiderül, hogy emiatt a gs S/R aránya is csökkent a vetéstől eltelt idővel. Mivel a kezeléseket külön vizsgálva ez a csökkenés pont kizárólag emelt CO₂ szinten következett be (8. táblázat), a tünetek kialakulásának jobb összefüggése az ózonerheléssel emelt CO₂ szinten nem a szenzitív növények sztómányitásával volt összefüggésben. Ezt megerősíti, hogy a sztómák – mindkét faj esetében – szabadföldön voltak a legnyitottabbak (6. táblázat). A szenzitív bokorbab növények csökkenő sztómakonduktanciája akklimáció jele is lehet. Fehér herénél csak az utolsó méréskor (a legmagasabb kumulatív ózonerhelés mellett) mutatta a gs S/R emelt CO₂ szinten a legalacsonyabb értéket. Az utolsó előtti időpontban még emelt CO₂ szinten volt a legmagasabb a gs S/R érték (15. ábra).

Érdekes, hogy a DAS bokorbabnál nem csak a sztómakonduktancia, hanem az RFd értékkel is negatívan korrelált, mely összefüggést a két genotípusnál külön vizsgálva, csak az S156 esetében volt szignifikáns. Vagyis az egyedfejlődés előrehaladtával az S156 növények sztómái egyre zártabbak, a fotoszintetikus folyamataik hatékonysága pedig egyre alacsonyabb volt (9. táblázat).

A két genotípus közötti különbség, hogy az S156 esetében az RFd értékek is csökkentek az ózonerheléssel (27. ábra), sőt a vetéstől eltelt idővel is, valamint, hogy a sztómakonduktancia is csökkent az idővel, a szenzitív genotípus gyengébb tűrőképességére utal. Mind az RFd értékek, mind a sztómakonduktancia csökkenése utalhat egyszerűen a szenzitív genotípus rövidebb életciklusára. Azonban az RFd csökkenése szignifikánsan összefüggött az ózonerheléssel is, míg a sztómakonduktanciáé nem, tehát a szenzitív növények fotoszintetikus folyamatainak károsodása egyértelműen összefüggött az ózonstresszel, míg a sztómakonduktancia változásait egyéb környezeti tényezők is módosíthatták. Bokorbabnál az RFd csökkenése az ózonerhelés és az idő függvényében is csak a szabadföldi kezelésnél állt fenn (8. táblázat). Mivel a vegetációs periódus végén történt mérések adatait is belefoglaltuk a korrelációanalízisbe, ez az eredmény utalhat arra, hogy a kamrahatás miatt a kamrás kezeléseken a növények életciklusa lassabban ért véget. Ezért ősszel az RFd érték a két kamrás kezelésen még nem, de szabadföldön már szignifikánsan csökkenni kezdett. [EICHELMANN et al. \(2004\)](#) alapján azonban a szabadföldi kezelés klimatikus stresszt jelenthet az OTC kezelésekhöz képest, ez is megnyilvánulhatott az RFd érték csökkenésében.



27. ábra: *A. P. vulgaris* (A, C) és a *T. repens* (B, D) szenzitív (S) és rezisztens (R) genotípusainak Fv/Fm és RFD értékeinek összefüggése a kumulatív ózonerheléssel. A statisztikailag szignifikáns összefüggéseket szaggatott vonallal jelöltük.

Mindezekon felül az OTC-kben uralkodó mikroklamatikus viszonyok feltehetően befolyásolták vagy elmosták az ózon specifikus hatását a potenciális fotoszintetikus kvantumkonverzióra. A légkeringtetés következtében szárazabb levegő például az öntözött körülmények mellett fokozhatta a sztómazárást, ami miatt a szabadföldi növények mezofillumát érő ózonfluxus magasabb lehetett, mint az OTC-ben nevelkedett növények esetében. Ezt az elképzelést igazolja, hogy a két genotípust együttesen vizsgálva a szabadföldi növények sztómakonduktanciája volt a legmagasabb, mely a kontroll OTC-ben mérttől szignifikánsan eltért ($p < 0,05$, 6. táblázat).

Adataink alapján az RFD érték a fotoszintetikus működés O_3 általi gátlásának az Fv/Fm-nél érzékenyebb mutatója, legalábbis erre utal az, hogy csökkenése csak a szenzitív növényeknél, és csak szabadföldön volt szignifikáns. Vagyis az RFD csökkenése bokorbabnál inkább tükrözte az ózon hatását, mint a kamrahatást, és ennek a paraméternek a változásaiban jobban nyomon követhető volt a fitotoxikus ózonerhelés hatása, míg az Fv/Fm értéke semmilyen szignifikáns változást nem mutatott.

Összevetve ezt az eredményt a *T. repens* két genotípusán mért korrelációkkal, az összes fehér here együttes vizsgálatakor éppen az Fv/Fm, és nem az RFD csökkent az ózonerheléssel. Külön

vizsgálva a genotípusokat azonban, ez a csökkenés csak a szenzitív növényeknél csak a szenzitív növényeknél állt fenn, és mindkét paraméterre igaz volt (27. ábra, 9. táblázat). Az RFd ezen kívül az utolsó betakarítástól eltelt napok számával is szignifikáns negatív összefüggést adott az S156 genotípusnál, amiből arra lehet következtetni, hogy csökkenése összefüggött a szenzitív növények korai öregeedésével is, vagyis ez esetben nem az RFd, hanem az Fv/Fm mutatta ki specifikusabban az ózon káros hatását. Igaz, hogy az egyes kezelések adatai alapján, kontroll OTC-ben a fehér herénél is csak az RFd mutatott változást. A PSII-n belüli energiakonverzió hatékonysága (Fv/Fm) tehát általában nem reagált olyan érzékenyen az adott körülmények között a növényeket érő stresszre (ózonterhelés, kamrahatás, hőstressz együttes hatásai), mint a potenciális fotoszintetikus kvantumkonverzió (RFd), mely a fényszakasz egyéb folyamataival, és közvetve a CO₂ fixációval is kapcsolatos.

Az RFd a fehér herénél a kontroll OTC-ben csökkent az ózonterheléssel és az idővel, ami a kontroll OTC szárító hatásával összefüggő többlet stresszre utal. Az RFd mindkét bioindikátor faj szenzitív genotípusánál szoros korrelációt mutatott az ózonterheléssel (9. táblázat). Mivel azonban a DAS-sel és DAH-val is összefüggést mutatott, a potenciális fotoszintetikus kvantumkonverzió csökkenésében más stresszorok hatása is közrejátszott.

EICHELMANN et al. (2004) szerint a szabadban fejlődött növények az OTC-ben neveltekhez képest sokkal több környezeti stressznek vannak kitéve, ami némely fotoszintetikus paraméterre az emelt légköri ózonhoz hasonlóan, de sok esetben annál jelentősebb mértékben hat. Kísérletünkben *P. vulgaris* esetében az RFd és a levélszám csökkenése, *T. repens* esetén a gs S/R növekedése, vagyis az ózonterhelésre leginkább érzékeny paraméterek változásai voltak szabadföldön a legjelentősebbek (8. táblázat). Ez is megerősíti, hogy az OTC-kben uralkodó mikroklíma az ózon hatásait sok esetben enyhítette. Például S/R arányok vizsgálata esetén a rezisztens genotípusoknak az OTC-ben fokozódó terhelése miatt a két genotípus közötti különbség csökkent. Igaz, hogy más paraméterek változásai az ózonterhelés függvényében éppen emelt CO₂ szinten, vagy a kontroll OTC-ben voltak erőteljesebbek (8. táblázat). A károsodás bokorbabnál emelt CO₂-on adta a legerősebb összefüggést az ózonterheléssel, máshol ez az összefüggés alig jelenik meg; bár emelt CO₂ szinten a tünetek aránya sokkal alacsonyabb volt, mint a többi kezelésem. Vagyis az emelt CO₂ ebben a tekintetben növelte az S156 genotípus bioindikációs értékét, mivel az egyéb felmerülő stresszhatásokat kiküszöbölte (TUBA et al. 2003). A hüvelytermések S/R arányának csökkenésében is megjelent a CO₂ szenzitív növények ózonérzékenységét fokozó hatása. A virágszám S/R aránya fehér herénél szintén csak emelt CO₂-on csökkent szignifikánsan az O₃ terheléssel összefüggésben. Tehát az emelt CO₂ szint bizonyos paramétereknek tekintetében specifikusabbá teszi a stresszválaszt. Ez a megállapítás ellentmond annak az elképzelésnek, amely szerint az emelt CO₂ szint csökkentené az ózon fitotoxikus hatásait (BOOKER és FISCUS 2005, EICHELMANN et al. 2004, GRAMS et al. 1999, PLEIJEL et al. 2000).

Valószínűbb, hogy egyéb stressztényezők hatásait ellensúlyozta, melyek így nem befolyásolhatták olyan mértékben a növények állapotát. Ilyen ellentmondások azonban adódhatnak a mérési körülmények eltéréseiből is, ahogyan azt fentebb már kifejtettük.

A fehér here NC-S genotípusának Fv/Fm és Rfd értéke is szignifikáns negatív összefüggést adott a kumulatív összes ózonterheléssel (9. táblázat). A fluoreszcencia-indukció paraméterek csökkenése az ózonterhelés függvényében szenzitív genotípusokban mindkét bioindikátor fajra jellemző volt, ami egyrészt azt bizonyítja, hogy a szenzitív növényeket jelentősebb fiziológiai stresszhatás érte, másrészt pedig, hogy a fotoszintetikus folyamatok károsodása minden, szemmel érzékelhető változástól függetlenül, és azoknál nagyobb bizonyossággal bekövetkezik O₃ stressz hatására.

5.3 Fluoreszcencia-indukció paraméterek napi menete a *Phaseolus vulgaris* két genotípusán

Méréseinket az ICP-Vegetation protokollja alapján árnyékoló háló alatt tartott növényeken végeztük, ezért a növényeket nem érte erős besugárzás (a napi maximumok 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ körül mozogtak). A hőmérséklet viszont 1°C-kal magasabb volt a szabadföldi körülményekhez képest, aminek hatására derült idő esetén itt a VPD is valamelyest magasabb volt, mint a szabadföldön. Az első és harmadik napon a napi maximális hőmérséklet meghaladta a 32°C-ot, amely növényélettani szempontból már mérsékelt hőstresszként értékelhető. A transzspiráció, melynek levélhőmérséklet-szabályozó szerepe is van, mindvégig együtt változott a hőmérséklettel, de az alacsonyabb sztómakonduktancia miatt a rezisztens növényekben előbb kezdett csökkenni. Délután az E és gs értékek valamivel magasabbak a szenzitív növényeknél. Az első mérési napon a maximális ózonkoncentráció és a napi kumulatív AOT40 rendkívül magas volt, és ez okozhatott sztómazáródást az R123 genotípusnál.

Az Fv/Fm nap közepi csökkenése és az NPQ nap közepi növekedése derült időben tipikus reakció a közvetlen napsugárzásnak kitett növényeknél (BALAGUER et al. 2002, SHIRKE és PATHRE 2003). Az Fv/Fm kísérletünkben azért nem csökkent jelentősen, mert a növényeket nem érte túlzottan erős megvilágítás, ami a nap közepén fénygátlást okozhatott volna. Az NPQ mértékét a tilakoid membrán két oldala közötti pH gradiens határozza meg (PEGUERO-PINA et al. 2013), ami viszont elsősorban a fényintenzitás függvénye. Vagyis, ha a fluoreszcencia mérések során alkalmazott aktinikus fény a kívülről érkező természetes fény, akkor az NPQ napi menete a fényintenzitás változását követi. Viszont, ha a mi méréseinkhez hasonlóan az aktinikus fényt egy, a PAM készülék által kibocsátott konstans intenzitású fényforrás adja, akkor az NPQ-nak is konstansnak kell maradnia, hacsak nem befolyásolja valami egyéb, a fényintenzitástól független tényező. POLLET et al. (2009) a hőmérsékletváltozás NPQ-ra kifejtett hatásait mutatta be *Phalaenopsis* növényeken,

melyeken növényházban meleg nappal/hűvös éjszaka kísérleti beállítás mellett mértek fluoreszcencia-indukciót, $200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (mesterséges árnyékolás alatt) nappali fényintenzitáson. A mérések során ők is konstans aktinikus fényvel világították meg a növényeket. Az általuk mért kinetikagörbéken az NPQ és Φ_{PSII} hirtelen változásait lehetett megfigyelni, miközben a növényeket a $37,2^\circ\text{C}$ -os üvegházból (nappali hőmérsékletéről) átvitték a $18,5^\circ\text{C}$ -os klímakamrákba éjszakára, vagy vissza. A Φ_{PSII} és az NPQ napi menete a levegő hőmérsékletével ellentétesen változott, míg az F_v/F_m -re inkább fényfüggő változás volt jellemző. Az NPQ a mi kísérletünk során is a hőmérséklettel ellentétesen változott. Ennek okát a nap közepén 30°C fölé emelkedő hőmérsékletben kell keresni, mivel ez a viszonylag magas hőmérséklet a tilakoidmembránok fluiditását, ezzel összefüggésben az ionkonduktanciát megnövelhette, amely jelenségek közvetlenül befolyásolják az NPQ mértékét. A magas hőmérsékleteket ráadásul magas ózonkoncentráció-értékek is kísérték, ami szintén hozzájárult a nem-fotokémiai kioltás csökkenéséhez, mivel az azért nagy részben felelős zeaxantin egyben antioxidáns is, tehát az oxidatív stressz is NPQ csökkenést okoz.

A kritikus hőmérséklet fajonként és évszakonként is rendkívül eltérő lehet (WENG és LAI 2005). Értékét BILGER et al. (1984) úgy definiálták, mint azt a hőmérsékletet, amely mellett az F_o értéke hirtelen megnövekszik. Bár a kritikus hőmérséklet árnyékadaptált növényeknél alacsonyabb, mi mégsem tapasztaltunk hirtelen változást az F_o hőmérsékletfüggését ábrázoló görbén (19. ábra). Vagyis a kísérletünk során mért legmagasabb hőmérséklet érték ($32,7^\circ\text{C}$) az F_o hőmérsékletfüggése alapján alacsonyabb, mint a kritikus hőmérséklet a *P. vulgaris* számára. Viszont az F_m 21°C és 33°C között határozott és folytonos csökkenést mutatott (19. ábra). Ezek az eredmények összhangban vannak POSPISIL et al. (1998) által közölt hőmérsékletfüggő fluoreszcencia hozam adatokkal.

A qF_o és az NPQ között mindkét genotípusnál erőteljes összefüggést találtunk (20. ábra). Ebből az következik, hogy az NPQ változásait nagy részben a xantofill ciklussal összefüggő, és a fénybegyűjtő komplexben végbemenő energiafüggő kioltás (q_E) határozta meg, mely az NPQ három alkotója (q_E , q_T , q_I) közül a legfontosabb. ZHANG et al. (2009) a q_E hasonló csökkenését tapasztalták mérsékelt hőstressz (40°C) hatására dohánylevelekben. A mi kísérletünk során a viszonylag magas hőmérséklet mellett az extrém magas ózonkoncentráció szintén hozzájárult az NPQ nap közepi csökkenéséhez.

A zeaxantinnek a PSII felé érkező fölösleges gerjesztési energia disszipációjában betöltött szerepe mellett két másik fontos funkciója létezik: hőstressz esetén stabilizálja a tilakoidmembránokat a lipidfázis fluiditásának csökkentése által (HAVAUX 1998, HAVAUX et al. 1996, SUBCZYNSKI et al. 1992), és antioxidánsként a lipidperoxidáció megelőzésében van szerepe (HAVAUX et al. 2007, LIM et al. 1992, SARRY et al. 1994). Ebből azt a következtetést vonhatjuk le, hogy az ózon hatására kialakuló oxidatív stressz is okozhat változásokat a zeaxantin allokációjában és felhasználásában, vagyis csökkentheti az NPQ-ra fordítható zeaxantinmennyiséget.

CALATAYUD és BARRENO (2004) szintén tapasztaltak NPQ csökkenést O₃-nal kezelt saláta levelein, amit a növényben a fotokémiai kioltás ózonstressz okozta csökkenésének ellensúlyozására szolgáló folyamatként magyaráztak. Ennek a védekezési mechanizmusnak a működését összefüggésbe hozták a fotoszintetikus pigmentek magasabb koncentrációjával és a nagyobb mértékű ózonrezisztenciával a két vizsgált salátafajta egyikében.

Ezzel összefügg, hogy az első napon még mi sem tapasztaltunk nap közepi NPQ csökkenést, de korai sztómazáródást sem a szenzitív növényeknél. Az utolsó mérési napon azonban már a tünetmentes szenzitív levelek Fv/Fm és NPQ értékei is csökkentek a növekvő hőmérséklettel, de a sztómakonduktanciájuk sem különbözött már a rezisztens növényekétől (18A, B és 21. ábrák). A szenzitív növényeknek ez a késleltetett reakciója a magas hőmérsékleti és növekvő kumulatív AOT40 terhelésre valószínűleg összefügg az ózonérzékenységükkel. Ennek a fokozott érzékenységnek lehetséges magyarázata a – xantofill-ciklus fényindukált változásában képződő – zeaxantin molekulák kisebb mértékű, vagy késleltetett felhasználása az antioxidatív folyamatokban. Mindezek alapján tehát a két bokorbab genotípus fiziológiai viselkedésében az első mérési napon tapasztalható eltérések a harmadik mérési napra megszűntek, mivel az első napon csak a rezisztens növényeknél tapasztalható védelmi reakciók a harmadik napra a szenzitív növényekben is beindultak. A szenzitív növényeket érintő fokozottabb oxidatív károsodás oka tehát a védelmi folyamatok késleltetett beindulása. Ezt alátámasztja, hogy a tünetes leveleken jelentős működésbeli gátlást, valamint a látható tünetek kiterjedésének növekedését is tapasztaltuk.

CALATAYUD et al. (2002b) kísérletében O₃ hatására az Fv/Fm értékek nem változtak, de a ΦPSII és a q_p csökkent, vagyis a levelekben csökkent a nem ciklikus elektrontranszport kvantumhatékonysága és a Q_A újraoxidálásának kapacitása. Az NPQ ebben a kísérletben növekedett, ellentétben az általunk tapasztaltakkal. Az RFd értéke, vagyis a potenciális kvantumhozam-konverzió (LICHTENTHALER és BUSCHMANN 1987) az O₃ kezelés hatására csökkent, ami összhangban van RUTH és WEISEL (1993) eredményeivel. Szenzitív növényeken méréseink során mi is az RFd időbeli csökkenését tapasztaltuk.

A rezisztens és a tünetmentes szenzitív levelekben az Fv/Fm az egészséges növényekre jellemző értékeket mutatta, 0,79 és 0,82 között mozgott. Csak a tünetes leveleknél csökkent jelentős mértékben 0,8 alá, a harmadik napon egészen 0,75-ig süllyedt, ami a PSII jelentős mértékű fotokémiai károsodását jelzi (CALATAYUD és BARRENO 2004, DEGL'INNOCENTI et al. 2007, LORENZINI et al. 1999). A rezisztens és a szimptomamentes szenzitív levelekben tehát sem a 32°C-os maximális hőmérséklet, sem az ózonterhelés nem volt kimutathatóan káros hatással a PSII fotokémiai folyamataira.

A mérsékelt magas hőmérséklet állapotátmenetet indukálhat az LHCIIB fehérjének a PSII core complex-éről való lehasításával, ami a PSII-ben az energiaátalakítás hatékonyságát csökkenti, ez

az állapotátmenet okozta fotokémiai kioltás, vagy “state-transition quenching” (q_T). Ez a jelenség okozhatta az F_v/F_m enyhe, de folyamatos csökkenését mindhárom mérési napon a rezisztens, valamint csak a harmadik mérési napon a tünetmentes szenzitív levelekben. (Az NPQ másik két összetevőjével ellentétben a hőmérsékletfüggő állapotátmenet sötétben is lejátszódhat, ráadásul a 25 perces sötétadaptációnál hosszabb ideig tart a lecsengése.) Annak alapján azonban, hogy az NPQ csökkenését kísérletünkben a q_{F_0} határozta meg, a q_T fent leírt kismértékű növekedése elhanyagolható ahhoz a q_E csökkenéshez képest, amit az általunk feltételezett változás okozott a zeaxantin elosztásában és felhasználásában.

Az egymást követő mérési napok napi menetei közötti eltérések oka az ózonerhelés július 22-én 0 óra, és július 26-án 24 óra között bekövetkezett drasztikus növekedésében keresendő. Az AOT40 ebben az időszakban 1380 ppb h volt (17. ábra). Az ózonerhelés hatását az öntözött körülmények tovább fokozták, mivel a kisebb mértékű sztómazárás növeli a levélbe jutó ózonnemennyiséget. A szenzitív leveleken az egymást követő mérési napokon mért F_v/F_m , NPQ és RFd napi menetek alakulásán ennek megfelelően jól nyomon követhető a fotoszintetikus folyamatok fokozatosan növekvő mértékű károsodása. Abból, hogy a szenzitív és rezisztens levelek F_v/F_m és RFd görbéi az öt napos mérési időszak folyamán felcserélődtek, arra lehet következtetni, hogy a két genotípus eltérései ezekben a paraméterekben inkább a következményei, mint okai lehetnek a szenzitív növények fokozottabb ózonérzékenységének.

A növények már az első mérés előtt jelentős mértékű ózonerhelést szenvedtek el (a vetéstől számítva a mérésig eltelt 37 nap alatt az összes kumulatív AOT40 2785 ppbh volt), de a védekezési és helyreállító mechanizmusok a növényeket érő stressz ellenére valamilyen mértékben helyreállíthatták a fotoszintetikus működést. Mivel július 22-ét és az azt megelőző napot extrém magas AOT40 értékek jellemezték (10. táblázat), ez a nagymértékű terhelés valószínűleg erősen befolyásolhatta a rezisztens növények működését is. A két genotípus eltérő viselkedése pedig a szenzitív növények védelmi vagy regeneráló folyamatainak elégtelenségét jelzi. Ezt az elméletet megerősíti, hogy a szenzitív növények F_v/F_m és RFd értékei tovább csökkentek a következő két mérési napon, amikor pedig az AOT40 értékek már alacsonyabbak voltak, míg a rezisztens növényeknél ezek az értékek fokozatosan nőttek a mérési időszakban, ami a körülményekhez való adaptálódásra, és a fotoszintetikus folyamatok helyreállítására utal. Mivel jelentős eltéréseket a két genotípus vizsgált paramétereit között nem tapasztaltunk, azt a véleményt erősítjük meg, hogy az ózonérzékenység háttérben az antioxidatív és/vagy regeneráló folyamatok elégtelen működése állhat.

A zeaxantin a tilakoid membránon belül az energia disszipáció és a membrán fluiditásának csökkentésén túl antioxidáns szerepe is van, vagyis semlegesíti a szinglet oxigént és a reaktív oxigénradikálokat. Ez a vegyület egyben oxidatív láncreakciók komponense is (LIM et al. 1992,

SIELEWIESIUK et al. 1997). Emiatt a zeaxantin molekulák eloszlása hatással lehet a növény antioxidáns kapacitására is. A frakcináció módszerének bizonytalanságai miatt azonban a zeaxantin kloroplasztiszon belüli frakcióinak meghatározása ez ideig nem megoldott (HIEBER et al. 2004). A xantofill molekulák levélen belüli eloszlásának és felhasználásának vizsgálata az ózon- és hőstressznek együttesen kitett növényekben közelebb vihetne a különböző növényfajok stresszválaszainak és védelmi reakcióinak tágabb megismeréséhez, és egy erre a célra kidolgozott módszer hozzájárulhatna a különböző növényi genotípusok eltérő ózonérzékenységének megértéséhez is.

5.4 Új tudományos eredmények

- Míg a szenzitív és rezisztens genotípusok sok szövettani paramétere mindkét fajnál szignifikánsan különbözik stresszmentes (téli) időszakban is, a szezonálisan változó környezeti tényezők, vagyis a magasabb fényintenzitás, valamint a nyári fény-, hő-, és ózonstressz másként befolyásolják azok fenotípusos megjelenését. A legszembetűnőbb, hogy a szenzitív növények levelei nyáron egyik fajnál sem mutatják a fényadaptált körülményeknek megfelelő vastagodást.

- A rezisztens genotípusok sztómáinak kisebb mérete nyáron természetes védekezés az ózon behatolása ellen, és összefügg alacsonyabb sztómakonduktanciájukkal. A szenzitív genotípusok magasabb sztómakonduktanciája a szövettani paraméterek közül *P. vulgaris*-nál a sztómák, sztómazárósejtek és légrések nagyobb méretével, valamint a sztómák nyitottabb állapotával, *T. repens*-nél kizárólag a sztómakészülék (sztómák és sztómazárósejtek) nagyobb méretével magyarázható.

- Az epidermisz *T. repens* esetén az NC-R genotípusban vastagabb a később megjelenő (a mérés időpontjában kifejlett) leveleken, mint az idős leveleken, ami szintén egy védekezési forma a szennyezőanyag levél szöveteibe való behatolásával szemben. A szenzitív genotípusnál ez a védekezési forma sem figyelhető meg.

- Az OTC-k mikroklímája meghosszabbította a növények életciklusát, és csökkentette a sztómakonduktanciát. A kamrahatás negatív volta megnyilvánult a szenzitív genotípusok RFd értékeinek, valamint bokorbabnál a levélszám S/R arányának fokozott csökkenésében. Amint az a virágszámok és a száraztömeg S/R arányának alakulásából kiderült, hosszú távon a kamrahatás csökkenti a szenzitív fehér here növények vitalitását a rezisztens növényekéihez képest.

- A nevelési körülmények és a fejlődési stádium nagyobb hatással voltak a bokorbab vegetatív és generatív fejlődésére, valamint mindkét faj sztómakonduktanciájára, mint az ózonterhelés.

- A troposzférikus ózonterhelésnek kitett évelő fehér here NC-S (szenzitív) genotípusban hosszú távon egy akklimációs folyamat indul el, melynek hatására a látható tünetek ózonterheléssel összefüggő megjelenése levélnövedékről levélnövedékre csökken.

- Megállapítottuk, hogy az emelt légköri CO₂ szint hozzájárulhat egy növényfaj – látható tünetekben megnyilvánuló – ózonérzékenységének csökkenéséhez, mivel hosszú távon a *T. repens* fajon elősegítette az O₃ terheléshez való akklimációt.

- Az emelt légköri szén-dioxid szint csökkentette a szenzitív és rezisztens genotípusok sztómakonduktanciája, továbbá fehér herénél a száraztömegek, bokorbabnál a levélszámok közötti különbséget, valamint a látható tünetek kialakulását, késleltette az öregedést, és enyhítette a kamrahatást.

- Az emelt légköri CO₂ fokozta viszont a specifikus ózonválaszt a látható tünetek, valamint bokorbabnál a hüvelytermések S/R aránya, fehér herénél pedig a virágszám S/R aránya tekintetében. Ezeknek a paramétereknek a kumulatív ózonterheléssel való összefüggése emelt CO₂ szinten volt a legszorosabb. Az emelt CO₂ szint tehát ilyen szempontból növelte a két vizsgált bioindikátor faj bioindikációs értékét.

- Fehér herénél a sztómakonduktancia S/R (szenzitív növényeken mért/rezisztens növényeken mért) aránya, bokorbabnál a levélszám S/R aránya mutatott igen jó összefüggést az ózonterheléssel. Az RFd érték mindkét bioindikátor faj szenzitív genotípusánál erős korrelációt mutatott a kumulatív ózonterheléssel. Ezek tehát az ózon bioindikációra legalkalmasabb paraméterek.

- Bár a fitotoxikus ózon jelenlétét az NC-S növényeken megjelenő tünetek is jelzik, a tünetek kiterjedtsége és az ózonterhelés mértéke között azonban fehér here esetén semmilyen összefüggést nem találtunk.

- A két vizsgált ózonterhelés-index közül az ebben a kísérletben mért paraméterek legtöbbje jobb összefüggést adott a kumulatív összes ózonnal, mint a kumulatív AOT40-nel, bár a látható tünetek aránya az S156 (szenzitív bokorbab) genotípuson csak a kumulatív AOT40-nel korrelált. A látható tünetek megjelenése előtt már észlelhető, enyhébb károsodás mértéke azonban inkább a kumulatív ózonterheléssel hozható összefüggésbe.

6. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Szövetteni kísérleti eredményeink alátámasztották, hogy a *Phaseolus vulgaris* két genotípusa számos, a *Trifolium repens* két genotípusa pedig néhány vizsgált szövetteni paraméter tekintetében genetikailag meghatározott különbséget mutat. Ennek igazolására génaktivitás-vizsgálatokra, elsősorban a téli időszakban különbséget mutató paramétereket kódoló géncsoportok összehasonlítására volna szükség a szenzitív és rezisztens genotípusokban.

Az itt bemutatott kísérleti eredmények megerősítik, hogy a két genotípus (szenzitív és rezisztens) eltérő viselkedése mindkét fajnál a szenzitív növények védelmi vagy regeneráló folyamatainak nem megfelelő működésén alapul. Ez az elégtelen, vagy késleltetett működés állhat az ózonérzékenység, és a szenzitív növények fokozottabb oxidatív károsodásának, valamint azok korai öregedésének hátterében.

Elmaradt stresszválaszt tapasztalhattunk, ahogy összehasonlítottuk az eltérő érzékenyséű genotípusok sztóma- és epidermiszsejt-méreteinek, valamint epidermisz vastagságának változásait. A sztómaméret időbeli csökkenése és az epidermisz vastagodása tapasztalatunk szerint a rezisztens növényeknél alakul csak ki. Ezek a jelenségek részét képezhetik az ózonterheléssel szembeni védelmi rendszernek.

Késleltetett stresszválasszal találkoztunk fluoreszcencia-indukció napi menet méréseink során. Ennek a mérésorozatnak az alapján a *P. vulgaris* S156 genotípus fokozott érzékenységnek egyik oka, hogy az antioxidatív folyamatokra az R123 genotípushoz képest kevesebb zeaxantin áll rendelkezésre, vagy a zeaxantin ilyen célú felhasználása nem elégséges. Ennek az elméletnek a tökéletes bebizonyítására olyan mérésekre lenne szükség, ami a tilakoid membrán különböző részeiben elhelyezkedő, vagyis a különböző felhasználású zeaxantin frakciókat mutatja ki. Mai ismereteink alapján ilyen vizsgálatokra még nincsen lehetőség. A stresszválasz elégtelensége összefüggésben lehet a környezeti változások érzékelésének, és az azokra adott válaszreakcióknak a zavarával a szenzitív növényekben. Ennek következménye az is, hogy nyáron egyik faj szenzitív genotípusa sem mutatja a fényadaptált körülményeknek megfelelő szöveti változásokat.

A genotípusok eltérő alkalmazkodásának hátterében állhat, hogy a *P. vulgaris* S 156 és a *T. repens* NC-S genotípusok mesterséges szelekcióval történő előállításánál során génállományuk leromlott. Ebben a folyamatban fenotípusos plaszticitásuk lecsökkent, ezért nehezebben alkalmazkodnak a változó és megterhelő környezeti viszonyokhoz, valamint kisebb hatékonysággal használják ki a rendelkezésre álló erőforrásokat. Ennek az elképzelésnek a helytállóságát is elsősorban genetikai vizsgálatokkal, vagy kifejezetten az alkalmazkodóképesség tesztelésére beállított kísérletekkel lehetne igazolni, zárt térben és teljesen kontrollált klimatikus viszonyok között.

A fluoreszcencia-indukció mérőszorozat és az OTC kísérlet eredményeiből azt a következtetést vontuk le, hogy a szenzitív és rezisztens genotípus eltérései az Fv/Fm és Rfd paraméterek, valamint a sztómakonduktancia tekintetében inkább a következményei, mint az okai a szenzitív növény fokozottabb ózonérzékenységének.

A károsodás mértékének és az ózonterhelésnek az összefüggését figyelembe véve, a bokorbab kísérletünkben jobb bioindikátornak bizonyult a fehér herénél. Ezen kívül az Rfd sokkal érzékenyebb paraméternek bizonyult az Fv/Fm-nél a kísérleti növényeinket ért stressz kimutatására. Adataink alapján a vizsgált paraméterek bioindikációs értékének a sorrendje: Bokorbabnál: 1) a levélszám S/R (szenzitív növényeken mért/rezisztens növényeken mért) aránya, valamint ezzel egyenértékű a látható tünetek aránya a szenzitív növények teljes levélzetén. 2) a hüvelytermések száraztömegének S/R aránya; ez a leglátványosabb összefüggést adja, de ritkán mérhető, így kevésbé informatív. Fehér herénél a vizsgált paraméterek közül bioindikációs értéke eredményeink alapján tulajdonképpen csak a sztómakonduktancia S/R arányának van.

Véleményünk szerint megfontolandó egy, a *T. repens* NC-S (szenzitív) és NC-R (rezisztens) genotípusainak párhuzamos sztómakonduktancia mérésére épülő szabadtéri ózon biomonиторing rendszer kifejlesztése, mivel a legjobb kvantitatív összefüggést az ózonterheléssel a fehér here genotípusok gs S/R aránya adta. A sztómakonduktancia rendkívül érzékenyen reagál számos külső és belső tényezőre, melyek szabadföldi kísérleti körülmények között kevésbé kontrollálhatók. Egyidejű mérésekben a szenzitív és rezisztens növények sztómakonduktanciájának arányát mérve azonban ezeknek a tényezőknek az eredményeket befolyásoló hatása a növényi ózonválasz vizsgálata során kiküszöbölhető. Szintén megfontolásra érdemes a *P. vulgaris* S156 (szenzitív) és R123 (rezisztens) genotípusainak levélszám-arányán alapuló bioindikációs módszer kidolgozása, ami a hüvely száraztömegek arányához képest gyakoribb, a látható tünetek becslésénél pedig megbízhatóbb és objektívebb méréseket tenne lehetővé. Érdemes volna kísérleteket végezni az ózonterhelés mértékének az Rfd értékkel összefüggő meghatározására is. Ezeknek a metodikáknak rutinszerű használatra alkalmas kifejlesztéséhez ózonkezelés kontrollált körülmények között való alkalmazására volna szükség, az alkalmazás céljától függően hosszabb vagy rövidebb távú klímakamrás kísérletekben.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A troposzférikus ózon a Föld termesztett és természetes vegetációit egyaránt veszélyezteti, ezért növényélettani hatásainak megismerése, az ebből következő változások előrejelzése és az azokra való felkészülés szempontjából fontos tudományos feladatunk. A *Phaseolus vulgaris* S156 (ózenszenzitív) és R123 (ózonrezisztens), valamint a *Trifolium repens* NC-S (ózenszenzitív) és NC-R (ózonrezisztens) ózon-bioindikátor genotípuspárjain és egy egyéves szövettani, és egy kétéves, az emelt légköri szén-dioxid és a légköri ózon együttes hatásának megismerését célzó kísérletsorozatot végeztünk el. Ezeket a vizsgálatokat egy rövid, ötnapos fluoreszcencia-indukció mérésorozattal egészítettük ki, ahol kísérleti növényünk a *P. vulgaris* két genotípusa volt. Kísérleteink epidermisz lenyomatokon és levélkeresztmetszeti felvételeken különböző szövettani paraméterek, valamint a fluoreszcencia-indukció, a gázcsere, a sztómakonduktancia, különböző morfológiai paraméterek, a száraztömeg és a látható tünetek méréseit foglalták magukba, és a következő eredményeket hozták:

A két genotípus mindkét fajnál több szövettani paraméter tekintetében genetikailag meghatározott különbséget mutat, a környezeti tényezők pedig jelentősen eltérő mértékben befolyásolják a két genotípus fenotípusos megjelenését. Az eltérő érzékenyséű genotípusok mindkét fajnál a sztómaméret eltérő változásaival reagáltak az ózonterhelésre. A szenzitív növények magasabb sztómakonduktanciája az általunk vizsgált szövettani paraméterek közül elsősorban a sztómák nagyobb méretével hozható összefüggésbe. A sztómaméret csökkenése és az epidermisz megvastagodása magas ózonterhelés mellett - tapasztalatunk szerint - csak a rezisztens növényeknél alakul ki, és része lehet az ózonterhelés elleni védekezésnek.

A szenzitív növényekben a környezeti változások érzékelése, és az azokhoz való alkalmazkodás szenved zavart. Ezt alátámasztja, hogy a szenzitív levelek egyik fajnál sem mutatták a nyári fényadaptált körülményeknek megfelelő szöveti változásokat, valamint, hogy mind a szövettani változásokban, mind a fluoreszcencia-indukció mérések eredményeiben a stresszválasz elégtelenségeit fedeztük fel a szenzitív genotípusokban. Az eltérő alkalmazkodás háttérében állhat az is, hogy az ózenszenzitív genotípusok mesterséges szelekcióval történő előállításánál során génállományuk úgy változott meg, hogy fenotípusos plaszticitásuk lecsökkent, emiatt alkalmazkodnak nehezebben a változó, és megterhelő nyári klimatikus viszonyokhoz.

A fehér here több egymást követő növedékén végzett mérések alapján a növények akklimálódtak ózonterheléshez, és ez az akklimáció fokozottan érvényesült emelt légköri CO₂ szinten, vagyis a CO₂ kezelés hosszú távon csökkentette a fehér here ózonérzékenységét. Mérési eredményeink alapján sorrendet állítottunk fel a vizsgált paraméterek bioindikációs értéke között. Legjobb paraméternek bizonyult bokorbabnál a levélszám S/R aránya, fehér herénél pedig a

sztómakonduktancia S/R aránya, mivel ezek mutatták a legerősebb összefüggést a kumulatív ózonterheléssel.

Az ötnapos mérésorozat során az RFd értékek és a sztómakonduktancia időbeli folyamatos csökkenése az S156 bokorbab genotípus fokozott érzékenységére és korai öregedésére utalt. Fluoreszcencia-indukció méréseink alapján a szenzitív növényeket érintő fokozottabb oxidatív károsodás, vagyis az érzékenység oka a védelmi mechanizmusok késleltetett beindulása, mivel a szenzitív növények lassabban reagáltak a magas hőmérsékleti és növekvő kumulatív AOT40 terhelésre. Az S156 bokorbab genotípus stresszérzékenységének lehetséges magyarázata a zeaxantin molekulák kisebb mértékű, vagy késleltetett felhasználása az antioxidatív folyamatokban. A két genotípus Fv/Fm és RFd értékeinek időbeli változásai alapján ezek genotípusonkénti eltérései inkább következményei, mint okai lehetnek a szenzitív növények fokozottabb ózonérzékenységének.

Az emelt légköri CO₂ gátolta a látható tünetek kialakulását, a károsodás mértéke bokorbabnál mégis emelt CO₂-on adta a legerősebb összefüggést az ózonterheléssel. A virágszám S/R (szenzitív növényeken mért/rezisztens növényeken mért) aránya szintén csak emelt CO₂-on csökkent szignifikánsan az O₃ terheléssel összefüggésben. Az emelt CO₂ szint sok esetben ózontra specifikusabbá tette a stresszválaszt. A virágszám általában a rezisztens, míg a száraztömeg általában a szenzitív növényeknél volt magasabb, de a két genotípus közti különbséget az emelt CO₂-szint sokszor kiegyenlítette. Az ózonterheléssel összefüggő különbség kialakulását az S156 és R123 genotípusok levélszámában az emelt CO₂ szintén megakadályozta. A CO₂ kezelés továbbá megakadályozta a szenzitív és rezisztens növények sztómakonduktanciája közötti olyan extrém különbségnek a kialakulását, ami az ózonterhelés hatására a szabadföldi és kontroll OTC kezeléseken egyaránt bekövetkezett. Ebben az értelemben tehát a fiziológiai ózonválaszt az emelt CO₂-os kezelés ellensúlyozta.

7. SUMMARY

Tropospheric ozone endangers several cultivated as well as natural vegetation types. Therefore, recognition of the physiological effects of O₃ is an important scientific task, which contributes to the more precise prediction of and the proper preparation for the resultant ecological and environmental changes. In this study we performed a one-year-long experiment to reveal the histological differences between O₃ sensitive (S156) and O₃ resistant (R123) genotypes of *Phaseolus vulgaris* and *Trifolium repens*; and a two-year-long experiment to reveal the combined effects of tropospheric O₃ and elevated (700 ppm) CO₂ on the same genotypes. In addition, we completed a short series of fluorescence-induction measurements on the two genotypes of *P. vulgaris*. Our experiments comprised measurements of histological parameters on epidermal imprints and leaf cross sections; fluorescence-induction, gas exchange and stomatal conductance measurements; measurements of different morphological features and dry weight and the evaluation of visible O₃ injuries. Our examinations gave the following results:

Many of the observed histological differences between sensitive and resistant genotypes are probably genetically coded. Environmental factors cause distinctly different alterations in phenotypic appearance of the two genotypes of each species. Genotypes with different ozone sensitivity response differently to the growing ozone load, with dissimilar changes in size of stomata. According to our data, higher stomatal conductance of sensitive genotypes could mainly be connected to the larger total area of their stomatal apparatus. Decrease of stomatal size and increase of epidermal thickness in the presence of considerable O₃ load are characteristics only of the resistant genotypes and might be part of their defence reaction. Disorder of detection of and reaction to environmental signals in sensitive plants is confirmed by the lack of light adaptation of their leaf tissues in summer. Also, different changes of stomatal size as well as the results of our fluorescence induction measurements imply to lacking or delayed stress response in sensitive genotypes. Different adaptation of the two genotypes to environmental changes could also be due to the artificial selection process by which sensitive genotypes are produced, and the resultant alterations in their genome, causing poor phenotypic plasticity thus poor adaptability.

Elevated CO₂ inhibited the evolution of visible ozone symptoms. However, extent of visible injuries on S156 plants showed the strongest connection with O₃ load under elevated CO₂. Similarly, S/R (sensitive/resistant) ratio of number of flowers on clover plants decreased significantly only under elevated CO₂. We concluded that elevated CO₂ eliminated other stress factors thus improving O₃ specificity of stress response. Number of flowers was generally higher in NC-R plants, but dry weight of aboveground biomass was generally higher in NC-S plants. However, elevated CO₂ often equilibrated the difference between genotypes. Evolution of difference between the number of leaves

on S156 and R123 genotypes was also prevented by elevated CO₂. In addition, CO₂ treatment hindered the development of extreme difference between the stomatal conductances of sensitive and resistant genotypes which resulted from the exposure to high cumulative O₃ dose under both control treatments. In this regard, physiological ozone response was compensated by elevated CO₂.

According to the measurements made on several consecutive generations of *T. repens*, NC-S clone acclimated to the tropospheric ozone levels. Acclimation was most prevalent under elevated CO₂, consequently CO₂ treatment reduced ozone sensitivity of the NC-S genotype in the long term. We set up a range of the studied parameters according to their bioindication value. For *P. vulgaris*, S/R ratio of number of leaves, for *T. repens* S/R ratio of g_s proved to be the best parameters for ozone bioindication, showing the strongest relationship with cumulative O₃ load.

During the five-day-long case study, continuous decrease of RFd and stomatal conductance values implied to the high susceptibility and early senescence of S156 genotype. The results of our fluorescence induction measurements show that more intense oxidative damage and O₃ sensitivity of sensitive plants are resulted from their delayed physiological response to heat stress and growing cumulative O₃ burden. Possible explanation of stress sensitivity of S156 genotype is the minor or delayed utilization of zeaxanthin molecules in antioxidative processes. Evaluation of the temporal changes of Fv/Fm and RFd values of the two genotypes reveals that the observed differences in these parameters are more likely to be the consequences than the causes of enhanced ozone sensitivity of the S156 genotype.

8. MELLÉKLETEK

8.1 Irodalomjegyzék

- AASAMAA, K., SOBER, A., RAHI, M. (2001): Leaf anatomical characteristics associated with shoot hydraulic conductance, stomatal conductance and stomatal sensitivity to changes of leaf water status in temperate deciduous trees. *Australian Journal of Plant Physiology* 28 (8) 765-774. p.
- ALTIMIR, N., KOLARI, P., TUOVINEN, J.P., VESALA, T., BACK, J., SUNI, T., KULMALA, M., HARI, P. (2006): Foliage surface ozone deposition: a role for surface moisture? *Biogeosciences* 3 (2) 209-228. p.
- ALTIMIR, N., TUOVINEN, J.P., VESALA, T., KULMALA, M., HARI, P. (2004): Measurements of ozone removal by Scots pine shoots: calibration of a stomatal uptake model including the non-stomatal component. *Atmospheric Environment* 38 (15) 2387-2398. p.
- ANDERSEN, C.P. (2003): Source-sink balance and carbon allocation below ground in plants exposed to ozone. *New Phytologist* 157 (2) 213-228. p.
- ANDERSON, P.D., HOUPIS, J.L.J., HELMS, J.A., MOMEN, B. (1997): Seasonal variation of gas exchange and pigmentation in branches of three grafted clones of mature ponderosa pine exposed to ozone and acid rain. *Environmental Pollution* 97 (3) 253-263. p.
- ANTONELLI, M., DI BACCIO, D., EDERLI, L., FRANCINI, A., MARABOTTINI, R., PELLEGRINI, E., CIAFFI, M., LORENZINI, G., NALI, C., PASQUALINI, S. (2005): Ozone as a tool for studying stress responses in tomato: signalling and defence in normal and mutant lines. XV Meeting of the EUCARPIA Tomato Working Group 789. 159-166. p.
- ARNDT, U., BRAUSAM-SCHMIDT, C., GEIGER, B., NOBEL, W. (1992): Methodische Arbeiten zur Verwendung des Pappelklons *Populus x euramericana* var. *Gelrica* als Bioindikator für Ozonbelastungen. In: KÖHLER, J. és ARNDT, U. (Szerk): *Bioindikatoren für Umweltbelastung – Neue Aspekte und Entwicklungen*. Hohenheimer Umwelttagung–Verlag Josef Margraf Universität Hohenheim, 199-206. p.
- ARNDT, U., ERHARDT, W., KEITEL, A., MICHENFELDER, K., NOBEL, W., SCHLUTER, C. (1985): Standardized exposition of vegetable bioindicators. *Staub Reinhaltung Der Luft* 45 (10) 481-483. p.
- ASHMORE, M., EMBERSON, L., KARLSSON, P.E., PLEIJEL, H. (2004): New directions: A new generation of ozone critical levels for the protection of vegetation in Europe. *Atmospheric Environment* 38 (15) 2213-2214. p.
- ATKINSON, R. (2000): Atmospheric chemistry of VOCs and NOx. *Atmospheric Environment* 34 (12-14) 2063-2101. p.
- BALAGUER, L., PUGNAIRE, F.I., MARTINEZ-FERRI, E., ARMAS, C., VALLADARES, F., MANRIQUE, E. (2002): Ecophysiological significance of chlorophyll loss and reduced photochemical efficiency under extreme aridity in *Stipa tenacissima* L. *Plant and Soil* 240 (2) 343-352. p.
- BALDINI, E., FACINI, O., NEROZZI, F., ROSSI, F., ROTONDI, A. (1997): Leaf characteristics and optical properties of different woody species. *Trees-Structure and Function* 12 (2) 73-81. p.
- BALDOCCHI, D.D., HICKS, B.B., CAMARA, P. (1987): A canopy stomatal-resistance model for gaseous deposition to vegetated surfaces. *Atmospheric Environment* 21 (1) 91-101. p.

- BARTAK, M., NIJS, I., IMPENS, I. (1996): The effect of long-term exposure of *Lolium perenne* L plants to elevated CO₂ and/or elevated air temperature on quantum yield of photosystem 2 and net photosynthesis. *Photosynthetica* 32 (4) 549-562. p.
- BAUMGARTEN, M., HUBER, C., BUEKER, P., EMBERSON, L., DIETRICH, H.-P., NUNN, A.J., HEERDT, C., BEUDERT, B., MATYSSEK, R. (2009): Are bavarian forests (southern Germany) at risk from ground-level ozone? Assessment using exposure and flux based ozone indices. *Environmental Pollution* 157 (7) 2091-2107. p.
- BERGMANN, D.C., SACK, F.D. (2007): Stomatal development. *Annual Review of Plant Biology* 58 163-181. p.
- BILGER, H.W., SCHREIBER, U., LANGE, O.L. (1984): Determination of leaf heat-resistance - comparative investigation of chlorophyll fluorescence changes and tissue necrosis methods. *Oecologia* 63 (2) 256-262. p.
- BLACK, V.J., BLACK, C.R., ROBERTS, J.A., STEWART, C.A. (2000): Impact of ozone on the reproductive development of plants. *New Phytologist* 147 (3) 421-447. p.
- BOOKER, F., MUNTIFERING, R., MCGRATH, M., BURKEY, K., DECOTEAU, D., FISCUS, E., MANNING, W., KRUPA, S., CHAPPELKA, A., GRANTZ, D. (2009): The ozone component of global change: potential effects on agricultural and horticultural plant yield, product quality and interactions with invasive species. *Journal of Integrative Plant Biology* 51 (4) 337-351. p.
- BOOKER, F.L., FISCUS, E.L. (2005): The role of ozone flux and antioxidants in the suppression of ozone injury by elevated carbon dioxide in soybean. *Journal of Experimental Botany* 56 2139-2151. p.
- BURKEY, K.O., BOOKER, F.L., AINSWORTH, E.A., NELSON, R.L. (2012a): Field assessment of a snap bean ozone bioindicator system under elevated ozone and carbon dioxide in a free air system. *Environmental Pollution* 166 167-171. p.
- BURKEY, K.O., BOOKER, F.L., SAITANIS, C., AINSWORTH, E.A., NELSON, R.L. (2012b): Assessment of the snap bean ozone bioindicator system under different management regimes. 25th ICP Vegetation Task Force Meeting Brescia, Italy, 1-7. p.
- BURKEY, K.O., MILLER, J.E., FISCUS, E.L. (2005): Assessment of ambient ozone effects on vegetation using snap bean as a bioindicator species. *Journal of Environmental Quality* 34 (3) 1081-1086. p.
- BUSE, A., MILLS, G., HARMENS, H., BÜKER, P., HAYES, F., WILLIAMS, P., EMBERSON, L., CINDERBY, M., ASHMORE, S., HOLLAND, M., AND THE PARTICIPANTS OF THE ICP VEGETATION (2003): Air pollution and vegetation. Annual report 2002/2003. ICP Vegetation Coordination Centre, Centre for Ecology and Hydrology, Bangor, UKp.
- CALATAYUD, A., ALVARADO, J.W., BARRENO, E. (2002a): Differences in ozone sensitivity in three varieties of cabbage (*Brassica oleracea* L.) in the rural Mediterranean area. *Journal of Plant Physiology* 159 (8) 863-868. p.
- CALATAYUD, A., ALVARADO, J.W., BARRENO, E. (2002b): Similar effects of ozone on four cultivars of lettuce in open top chambers during winter. *Photosynthetica* 40 (2) 195-200. p.
- CALATAYUD, A., BARRENO, E. (2001): Chlorophyll a fluorescence, antioxidant enzymes and lipid peroxidation in tomato in response to ozone and benomyl. *Environmental Pollution* 115 (2) 283-289. p.
- CALATAYUD, A., BARRENO, E. (2004): Response to ozone in two lettuce varieties on chlorophyll a fluorescence, photosynthetic pigments and lipid peroxidation. *Plant Physiology and Biochemistry* 42 (6) 549-555. p.

- CALATAYUD, V., CERVERO, J., SANZ, M.J. (2007): Foliar, physiological and growth responses of four maple species exposed to ozone. *Water Air and Soil Pollution* 185 (1-4) 239-254. p.
- CALVO, E., BERMEJO, V., GEROSA, G., ALONSO, R., CALATAYUD, V., MARZUOLI, R. (2010): Preliminary ozone dose-response function for tomato in the mediterranean area 23rd Task Force Meeting Tervuren, Belgium 30. p.
- CARDOSO-VILHENA, J., BALAGUER, L., EAMUS, D., OLLERENSHAW, J., BARNES, J. (2004): Mechanisms underlying the amelioration of O₃-induced damage by elevated atmospheric concentrations of CO₂. *Journal of Experimental Botany* 55 (397) 771-781. p.
- CASELLA, E., SOUSSANA, J.F. (1997): Long-term effects of CO₂ enrichment and temperature increase on the carbon balance of a temperate grass sward. *Journal of Experimental Botany* 48 (311) 1309-1321. p.
- CASTAGNA, A., NALI, C., CIOMPI, S., LORENZINI, G., SOLDATINI, G.F., RANIERI, A. (2001): Ozone exposure affects photosynthesis of pumpkin (*Cucurbita pepo*) plants. *New Phytologist* 152 (2) 223-229. p.
- CHANG, Y.S., YU, M.R. (2001): Correlation between ozone resistance and relative chlorophyll fluorescence or relative stomatal conductance of bedding plants. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 42 (4) 265-272. p.
- CHAPPELKA, A.H., SAMUELSON, L.J. (1998): Ambient ozone effects on forest trees of the eastern United States: a review. *New Phytologist* 139 (1) 91-108. p.
- COE, H., GALLAGHER, M.W., CHOULARTON, T.W., DORE, C. (1995): Canopy scale measurements of stomatal and cuticular O₃ uptake by Sitka spruce. *Atmospheric Environment* 29 1413-1423. p.
- CROUS, K.Y., VANDERMEIREN, K., CEULEMANS, R. (2006): Physiological responses to cumulative ozone uptake in two white clover (*Trifolium repens* L. cv. Regal) clones with different ozone sensitivity. *Environmental and Experimental Botany* 58 (1) 169-179. p.
- CURE, J.D., ACOCK, B. (1986): CROP RESPONSES TO CARBON-DIOXIDE DOUBLING - A LITERATURE SURVEY. *Agricultural and Forest Meteorology* 38 (1-3) 127-145. p.
- CURTIS, P.S., DRAKE, B.G., LEADLEY, P.W., ARP, W.J., WHIGHAM, D.F. (1989): GROWTH AND SENESCENCE IN PLANT-COMMUNITIES EXPOSED TO ELEVATED CO₂ CONCENTRATIONS ON AN ESTUARINE MARSH. *Oecologia* 78 (1) 20-26. p.
- DALSTEIN, L., VOLLENWEIDER, P., VAS, N., GÜNTHARDT-GOERG, M.S. (2002): L'ozone et les coniferes du Sud-Est de la France. *Forêt méditerranéenne* 23 105-116. p.
- DANIELSSON, H., KARLSSON, P.E., PLEIJEL, H. (2013): An ozone response relationship for four *Phleum pratense* genotypes based on modelling of the phytotoxic ozone dose (POD). *Environmental and Experimental Botany* 90 70-77. p.
- DARBAH, J.N.T., KUBISKE, M.E., NELSON, N., OKSANEN, E., VAAPAVUORI, E., KARNOSKY, D.F. (2007): Impacts of elevated atmospheric CO₂ and O₃ on paper birch (*Betula papyrifera*): Reproductive fitness. *The Scientific World Journal* 7 240-246. p.
- DE VRIES, W., VEL, E., REINDS, G., DEELSTRA, H., KLAP, J., LEETERS, E., HENDRIKS, C., KERKVOORDEN, M., LANDMANN, G., HERKENDELL, J. (2003): Intensive monitoring of forest ecosystems in Europe: 1. Objectives, set-up and evaluation strategy. *Forest Ecology and Management* 174 (1) 77-95. p.
- DEGL'INNOCENTI, E., GUIDI, L., SOLDATINI, G.F. (2007): Effects of elevated ozone on chlorophyll a fluorescence in symptomatic and asymptomatic leaves of two tomato genotypes. *Biologia Plantarum* 51 (2) 313-321. p.

- DELUCIA, E.H., SASEK, T.W., STRAIN, B.R. (1985): PHOTOSYNTHETIC INHIBITION AFTER LONG-TERM EXPOSURE TO ELEVATED LEVELS OF ATMOSPHERIC CARBON-DIOXIDE. *Photosynthesis Research* 7 (2) 175-184. p.
- DERMODY, O., LONG, S.P., DELUCIA, E.H. (2006): How does elevated CO₂ or ozone affect the leaf-area index of soybean when applied independently? *New Phytologist* 169 (1) 145-155. p.
- DIAZ-DE-QUIJANO, M., SCHAUB, M., BASSIN, S., VOLK, M., PENUELAS, J. (2012): Ozone visible symptoms and reduced root biomass in the subalpine species *Pinus uncinata* after two years of free-air ozone fumigation. *Environmental Pollution* 169 250-257. p.
- DODGE, M.C. (1977): Combined Use of Modeling Techniques and Smog Chamber Data to Derive Ozone-Precursor Relationships. International Conference on Photochemical Oxidant Pollution and Its Control. 881. p.
- DUMONT, J., SPICHER, F., MONTPIED, P., DIZENGREMEL, P., JOLIVET, Y., LE THIEC, D. (2013): Effects of ozone on stomatal responses to environmental parameters (blue light, red light, CO₂ and vapour pressure deficit) in three *Populus deltoides* x *Populus nigra* genotypes. *Environmental Pollution* 173 85-96. p.
- DUYZER, J.H., MEYER, G.M., VAN AALST, R.M. (1983): Measurements of dry deposition velocities of NO, NO₂ and O₃ and the influence of chemical reactions. *Atmospheric Environment* 7 2117-2120. p.
- EICHELMANN, H., OJA, V., RASULOV, B., PADU, E., BICHELE, I., PETTAI, H., MOLS, T., KASPAROVA, I., VAPAAVUORI, E., LAISK, A. (2004): Photosynthetic parameters of birch (*Betula pendula* Roth) leaves growing in normal and in CO₂- and O₃-enriched atmospheres. *Plant Cell and Environment* 27 (4) 479-495. p.
- ELAGÖZ, V., HAN, S.S., MANNING, W.J. (2006): Acquired changes in stomatal characteristics in response to ozone during plant growth and leaf development of bush beans (*Phaseolus vulgaris* L.) indicate phenotypic plasticity. *Environmental Pollution* 140 (3) 395-405. p.
- ELKIEY, T., ORMROD, D.P. (1980): Sorption of ozone and sulfur dioxide by *Petunia* leaves. *Journal of Environmental Quality* 9 (1) 93-95. p.
- FAGNANO, M., MAGGIO, A. (2008): Ozone risk assessment for European vegetation. *Italian Journal of Agronomy* 1 3-5. p.
- FAORO, F., IRITI, M. (2005): Cell death behind invisible symptoms: early diagnosis of ozone injury. *Biologia Plantarum* 49 (4) 585-592. p.
- FERDINAND, J.A., FREDERICKSEN, T.S., KOUTERICK, K.B., SKELLY, J.M. (2000): Leaf morphology and ozone sensitivity of two open pollinated genotypes of black cherry (*Prunus serotina*) seedlings. *Environmental Pollution* 108 (2) 297-302. p.
- FIELD, C.B., CHAPIN, F.S., MATSON, P.A., MOONEY, H.A. (1992): RESPONSES OF TERRESTRIAL ECOSYSTEMS TO THE CHANGING ATMOSPHERE - A RESOURCE-BASED APPROACH. *Annual Review of Ecology and Systematics* 23 201-235. p.
- FINLAYSON-PITTS, B.J., PITTS, J.N. (1993): Atmospheric Chemistry of Tropospheric Ozone Formation: Scientific and Regulatory Implications. *Air & Waste* 43 (8) 1091-1100. p.
- FISCUS, E.L., BOOKER, F.L., BURKEY, K.O. (2005): Crop responses to ozone: uptake, modes of action, carbon assimilation and partitioning. *Plant Cell and Environment* 28 (8) 997-1011. p.
- FLOWERS, M.D., FISCUS, E.L., BURKEY, K.O., BOOKER, F.L., DUBOIS, J.-J.B. (2007): Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, and yield of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.)

- genotypes differing in sensitivity to ozone. *Environmental and Experimental Botany* 61 (2) 190-198. p.
- FOWLER, D., FLECHARD, C.R., CAPE, J.N., STORETON-WEST, R.L., COYLE, M. (2001): Measurements of ozone deposition to vegetation quantifying the flux, the stomatal and non stomatal components. *Water Air and Soil Pollution* 1 63-74. p.
- FREDERICKSEN, T.S., SKELLY, J.M., STEINER, K.C., KOLB, T.E., KOUTERICK, K.B. (1996): Size-mediated foliar response to ozone in black cherry trees. *Environmental Pollution* 91 (1) 53-63. p.
- FREI, M., KOHNO, Y., MAKKAR, H.P.S., BECKER, K. (2010): The effect of elevated tropospheric ozone on the feeding value of rice straw 23rd Task Force Meeting Tervuren, Belgium 32. p.
- FUHRER, J., ACHERMANN, B. (1994): Critical Levels for ozone a UN-ECE workshop report. Liebefeld-Bern, Switzerland: FACp.
- FUHRER, J., SKÄRBY, L., ASHMORE, M.R. (1997): Critical levels for ozone effects on vegetation in Europe. *Environmental Pollution* 97 (1) 91-106. p.
- FUMAGALLI, I., GIMENO, B.S., VELISSARIOU, D., DE TEMMERMAN, L., MILLS, G. (2001): Evidence of ozone-induced adverse effects on crops in the Mediterranean region. *Atmospheric Environment* 35 (14) 2583-2587. p.
- GARDNER, S.D.L., TAYLOR, G., BOSAC, C. (1995): Leaf growth of hybrid poplar following exposure to elevated CO₂. *New Phytologist* 131 81-90. p.
- GAY, A.P., HURD, R.G. (1975): Influence of light on stomatal density in tomato. *New Phytologist* 75 (1) 37-46. p.
- GEROSA, G., MARZUOLI, R., ROSSINI, M., PANIGADA, C., MERONI, M., COLOMBO, R., FAORO, F., IRITI, M. (2009): A flux-based assessment of the effects of ozone on foliar injury, photosynthesis, and yield of bean (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Borlotto Nano Lingua di Fuoco) in open-top chambers. *Environmental Pollution* 157 (5) 1727-1736. p.
- GIELEN, B., JACH, M., CEULEMANS, R. (2000): Effects of season, needle age, and elevated atmospheric CO₂ on chlorophyll fluorescence parameters and needle nitrogen concentration in Scots pine (*Pinus sylvestris*). *Photosynthetica* 38 (1) 13-21. p.
- GIFFORD, R.M. (1994): THE GLOBAL CARBON-CYCLE - A VIEWPOINT ON THE MISSING SINK. *Australian Journal of Plant Physiology* 21 (1) 1-15. p.
- GIRGZDIENE, R., SERAFINAVICIUTE, B., STAKENAS, V., BYCENKIENE, S. (2009): Ambient ozone concentration and its impact on forest vegetation in Lithuania. *Ambio* 38 (8) 432-436. p.
- GOLDSTEIN, A.H., MCKAY, M., KURPIUS, M.R., SCHADE, G.W., LEE, A., HOLZINGER, R., RASMUSSEN, R.A. (2004): Forest thinning experiment confirms ozone deposition to forest canopy is dominated by reaction with biogenic VOCs. *Geophysical Research Letters* 31p.
- GONZÁLEZ-FERNANDEZ, I., BERMEJO, V., GONZÁLEZ, A., DE LA TORRE, D., LÓPEZ, A., SERRA, J., ELVIRA, S., SANZ, J., GIMENO, B.S., ALONSO, R. (2010): On the application of the ozone dose-response model for wheat in Southern Europe 23rd Task Force Meeting. Treuven, Belgium, 11. p.
- GOSTIN, I.N. (2009): Air pollution effects on the leaf structure of some *Fabaceae* species. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 37 (2) 57-63. p.
- GRAMS, T.E.E., ANEGG, S., HABERLE, K.-H., LANGEBARTELS, C., MATYSSEK, R. (1999): Interactions of chronic exposure to elevated CO₂ and O₃ levels in the photosynthetic

- light and dark reactions of European beech (*Fagus sylvatica*). *New Phytologist* 144 (1) 95-107. p.
- GREGG, J.W., JONES, C.G., DAWSON, T.E. (2003): Urbanization effects on tree growth in the vicinity of New York City. *Nature* 424 (6945) 183-187. p.
- GRENNFELT, P. (2004): New directions: Recent research findings may change ozone control policies. *Atmospheric Environment* 38 (15) 2215-2216. p.
- GRULKE, N.E., ALONSO, R., NGUYEN, T., CASCIO, C., DOBROWOLSKI, W. (2004): Stomata open at night in pole-sized and mature ponderosa pine: implications for O₃ exposure metrics. *Tree Physiology* 24 (9) 1001-1010. p.
- GRULKE, N.E., NEUFELD, H.S., DAVISON, A.W., ROBERTS, M., CHAPPELKA, A.H. (2007a): Stomatal behavior of ozone-sensitive and -insensitive coneflowers (*Rudbeckia laciniata* var. *digitata*) in Great Smoky Mountains National Park. *New Phytologist* 173 (1) 100-109. p.
- GRULKE, N.E., PAOLETTI, E., HEATH, R.L. (2007b): Chronic vs. short-term acute O₃ exposure effects on nocturnal transpiration in two Californian oaks. *The Scientific World Journal* 7 134-140. p.
- GUIDI, L., DEGL'INNOCENTI, E., GIORDANO, C., BIRICOLTI, S., TATTINI, M. (2010): Ozone tolerance in *Phaseolus vulgaris* depends on more than one mechanism. *Environmental Pollution* 158 (10) 3164-3171. p.
- GUIDI, L., DEGL'INNOCENTI, E., SOLDATINI, G.F. (2002): Assimilation of CO₂, enzyme activation and photosynthetic electron transport in bean leaves, as affected by high light and ozone. *New Phytologist* 156 (3) 377-388. p.
- GUIDI, L., DI CAGNO, R., SOLDATINI, G.F. (2000): Screening of bean cultivars for their response to ozone as evaluated by visible symptoms and leaf chlorophyll fluorescence. *Environmental Pollution* 107 (3) 349-355. p.
- GUIDI, L., NALI, C., CIOMPI, S., LORENZINI, G., FRANCO, G. (1997): The use of chlorophyll fluorescence and leaf gas exchange as methods for studying the different responses to ozone of two bean cultivars. *Journal of Experimental Botany* 48 (306) 173-179. p.
- GUIDI, L., NALI, C., LORENZINI, G., FILIPPI, F., SOLDATINI, G.F. (2001): Effect of chronic ozone fumigation on the photosynthetic process of poplar clones showing different sensitivity. *Environmental Pollution* 113 (3) 245-254. p.
- GÜNTHARDT-GOERG, M.S. (1996): Different responses to ozone of tobacco, poplar, birch, and alder. *Journal of Plant Physiology* 148 (1-2) 207-214. p.
- GÜNTHARDT-GOERG, M.S., MAURER, S., FREY, B., MATYSSEK, R. (1998): Birch leaves from trees grown in two fertilisation regimes: diurnal and seasonal responses to ozone. *Responses of Plant Metabolism to Air Pollution and Global Change*. Leiden, The Netherlands: Blackhuys Publishersp.
- GÜNTHARDT-GOERG, M.S., MCQUATTIE, C.J., MAURER, S., FREY, B. (2000): Visible and microscopic injury in leaves of five deciduous tree species related to current critical ozone levels. *Environmental Pollution* 109 (3) 489-500. p.
- GÜNTHARDT-GOERG, M.S., SCHMUTZ, P., MATYSSEK, R., BUCHER, J.B. (1996): Leaf and stem structure of poplar (*Populus x euramericana*) as influenced by O₃, NO₂, their combination, and different soil N supplies. *Canadian Journal of Forest Research-Revue Canadienne De Recherche Forestiere* 26 (4) 649-657. p.
- GÜNTHARDT-GOERG, M.S., VOLLENWEIDER, P. (2001): Diagnose von Umwelteinflüssen auf Bäume. *Schweizerische Zeitschrift für Forstwesen* 152 183-192. p.

- GÜNTHARDT-GOERG, M.S., VOLLENWEIDER, P. (2007): Linking stress with macroscopic and microscopic leaf response in trees: New diagnostic perspectives. *Environmental Pollution* 147 (3) 467-488. p.
- HARDER, H., PATZ, W., WOLZ-THOMAS, A., FISCHER, H., ZENKER, T. (2001): Measurements of nitrogen oxides, ozone, and carbon monoxide during the FIELDVOC'94 campaign in Tábua *Chemosphere-Global Change Science* 3 227-231. p.
- HARMENS, H., MILLS, G. (2005): Review of the influences of climate change on the impacts of ozone on vegetation. The UNECE International Cooperative Programme on Vegetation. September 2005p.
- HARMENS, H., MILLS, G., HAYES, F., JONES, L., WILLIAMS, P. (2006): Air Pollution and Vegetation: ICP Vegetation Annual Report 2005/2006. Bangor, UK: ICP Vegetation Programme Coordination Centre, Centre for Ecology and Hydrology, 46. p.
- HARMENS, H., MILLS, G., HAYES, F., WILLIAMS, P., AND THE PARTICIPANTS OF THE ICP VEGETATION (2004): Air pollution and vegetation. Annual report 2003/2004. ICP Vegetation Coordination Centre, Centre for Ecology and Hydrology, Bangor, UKp.
- HARMENS, H., MILLS, G., HAYES, F., WILLIAMS, P., DE TEMMERMAN, L., AND THE PARTICIPANTS OF ICP VEGETATION (2005): Air pollution and vegetation. ICP Vegetation Annual Report 2004/2005. ICP Vegetation Coordination Centre, Centre for Ecology and Hydrology, Bangor, UKp.
- HAVAUX, M. (1998): Carotenoids as membrane stabilizers in chloroplasts. *Trends in Plant Science* 3 (4) 147-151. p.
- HAVAUX, M., DALL'OSTO, L., BASSI, R. (2007): Zeaxanthin has enhanced antioxidant capacity with respect to all other xanthophylls in *Arabidopsis* leaves and functions independent of binding to PSII antennae. *Plant Physiology* 145 (4) 1506-1520. p.
- HAVAUX, M., GRUSZECKI, W.I., DUPONT, I., LEBLANC, R.M. (1991): Increased heat emission and its relationship to the xanthophyll cycle in pea leaves exposed to strong light stress. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology* 8 (4) 361-370. p.
- HAVAUX, M., TARDY, F., RAVENEL, J., CHANU, D., PAROT, P. (1996): Thylakoid membrane stability to heat stress studied by flash spectroscopic measurements of the electrochromic shift in intact potato leaves: Influence of the xanthophyll content. *Plant Cell and Environment* 19 (12) 1359-1368. p.
- HAYES, F., MILLS, G., HARMENS, H., NORRIS, D. (2007a): Evidence of Widespread Ozone Damage to Vegetation in Europe (1990-2006) Wales: Environment Centre Walesp.
- HAYES, F., MILLS, G., HARMENS, H., NORRIS, D. (2007b): Ozone and Crop Losses 2006 ICP Vegetation Report for Defra Contract EPG 1/3/205.p.
- HAYES, F., MILLS, G., HARMENS, H., NOVAK, K., WILLIAMS, P. (2006): ICP Vegetation experimental protocol for monitoring the incidences of ozone injury on vegetation. Natural Environment Research Councilp.
- HE, X.Y., FU, S.L., CHEN, W., ZHAO, T.H., XU, S., TUBA, Z. (2007): Changes in effects of ozone exposure on growth, photosynthesis, and respiration of *Ginkgo biloba* in Shenyang urban area. *Photosynthetica* 45 (4) 555-561. p.
- HEAGLE, A.S., MILLER, J.E., CHEVONE, B.I., DRESCHER, T.W., MANNING, W.J., MC COOL, P.M., MORRISON, C.L., NEELY, G.E., REBBECK, J. (1995): Response of a white clover indicator system to tropospheric ozone at eight locations in the United States. *Water Air and Soil Pollution* 85 (3) 1373-1378. p.

- HEAGLE, A.S., MILLER, J.E., SHERRILL, D.E. (1994): A white clover system to estimate effects of tropospheric ozone on plants. *Journal of Environmental Quality* 23 (3) 613-621. p.
- HEATH, R.L. (1975): Ozone. In: MUDD, J.B. és KOZLOWSKI, T.T. (Szerk): *Responses of plants to air pollution*. New York: Academic Press, 23-51. p.
- HEATH, R.L. (1980): Initial events in injury to plants by air-pollutants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 31 395-431. p.
- HEATH, R.L. (2008): Modification of the biochemical pathways of plants induced by ozone: What are the varied routes to change? *Environmental Pollution* 155 (3) 453-463. p.
- HEATH, R.L., TAYLOR JR, G.E. (1997): Physiological processes and plant responses to ozone exposure. In: SANDERMANN, H., WELLBURN, A.R. és HEATH, R.L. (Szerk): *Forest Decline and Ozone: A Comparison of Controlled Chamber and Field Experiments*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 317-368. p.
- HETHERINGTON, A.M., WOODWARD, F.I. (2003): The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature* 424 (6951) 901-908. p.
- HIEBER, A.D., KAWABATA, O., YAMAMOTO, H.Y. (2004): Significance of the lipid phase in the dynamics and functions of the xanthophyll cycle as revealed by PsbS overexpression in tobacco and in-vitro de-epoxidation in monogalactosyldiacylglycerol micelles. *Plant and Cell Physiology* 45 (1) 92-102. p.
- HILL, A.C., PACK, M.R., TRESHOW, M., DOWNS, R.J., TRANSTRUM, L.G. (1961): Plant injury induced by ozone. *Phytopathology* 51 356-363. p.
- HOLLAND, M., KINGHORN, S., EMBERSON, L., CINDERBY, S., ASHMORE, M., MILLS, G., HARMENS, H. (2006): Development of a framework for probabilistic assessment of the economic losses caused by ozone damage to crops in Europe. Report to Defra, contract EPG 1/3/205.p.
- HOSHIKA, Y., OMASA, K., PAOLETTI, E. (2013): Both ozone exposure and soil water stress are able to induce stomatal sluggishness. *Environmental and Experimental Botany* 88 19-23. p.
- HOSHIKA, Y., WATANABE, M., INADA, N., KOIKE, T. (2012): Ozone-induced stomatal sluggishness develops progressively in Siebold's beech (*Fagus crenata*). *Environmental Pollution* 166 152-156. p.
- ICP-VEGETATION (2012): Yield response and ozone injury on *Phaseolus vulgaris*. Experimental Protocol.p.
- IRITI, M., FAORO, F. (2009): Chemical diversity and defence metabolism: how plants cope with pathogens and ozone pollution. *International Journal of Molecular Sciences* 10 (8) 3371-3399. p.
- JACOB, J., GREITNER, C., DRAKE, B.G. (1995): ACCLIMATION OF PHOTOSYNTHESIS IN RELATION TO RUBISCO AND NONSTRUCTURAL CARBOHYDRATE CONTENTS AND IN-SITU CARBOXYLASE ACTIVITY IN SCIRPUS-OLNEYI GROWN AT ELEVATED CO₂ IN THE FIELD. *Plant Cell and Environment* 18 (8) 875-884. p.
- JARVIS, P.G. (1993): Global change and plant water relations. In: BORGHETTI, M., GRACE, J. és RASCHI, A. (Szerk): *Water Transport in Plants under Climatic Stress*. Cambridge: Cambridge University Press, 1-13. p.
- KANGASJARVI, J., JASPERS, P., KOLLIST, H. (2005): Signalling and cell death in ozone-exposed plants. *Plant Cell and Environment* 28 (8) 1021-1036. p.
- KANGASJÄRVI, J., TALVINEN, J., UTRIAINEN, M., KARJALAINEN, R. (1994): Plant defence systems induced by ozone. *Plant, Cell & Environment* 17 (7) 783-794. p.

- KARLSSON, G.P., KARLSSON, P.E., DANIELSSON, H., PLEIJEL, H. (2003a): Clover as a tool for bioindication of phytotoxic ozone – 5 years of experience from southern Sweden – consequences for the short-term critical levels. *Science of the Total Environment* 301 (1) 205-213. p.
- KARLSSON, P.E., SELLDÉN, G., PLEIJEL, H. (2003b): Establishing Ozone Critical Levels II. UNECE Workshop Report. IVL report B1523. Swedish Environmental Research Institutep.
- KARNOSKY, D.F., PREGITZER, K.S., ZAK, D.R., KUBISKE, M.E., HENDREY, G.R., WEINSTEIN, D., NOSAL, M., PERCY, K.E. (2005): Scaling ozone responses of forest trees to the ecosystem level in a changing climate. *Plant Cell and Environment* 28 (8) 965-981. p.
- KEITEL, A. (1989): Praxiserprobte Bioindikationsverfahren. *Staub – Reinhaltung der Luft* 49 29-34. p.
- KIMBALL, B.A., IDSO, S.B. (1983): INCREASING ATMOSPHERIC CO₂ - EFFECTS ON CROP YIELD, WATER-USE AND CLIMATE. *Agricultural Water Management* 7 (1-3) 55-72. p.
- KNECHT, G.N., O'LEARY, J.W. (1972): The effect of light intensity on stomata number and density of *Phaseolus vulgaris* L. leaves. *Botanical Gazette* 133 (2) 132-134. p.
- KOCH, J.R., SCHERZER, A.J., ESHITA, S.M., DAVIS, K.R. (1998): Ozone sensitivity in hybrid poplar is correlated with a lack of defense-gene activation. *Plant Physiology* 118 (4) 1243-1252. p.
- KRUPA, S.V., MANNING, W.J. (1988): Atmospheric ozone - formation and effects on vegetation. *Environmental Pollution* 50 (1-2) 101-137. p.
- KRUPA, S.V., NOSAL, M. (1989): Effects of ozone on agricultural crops. In: SCHNEIDER, T., LEE, S.D., WOLTERS, G.J.R. és GRANT, L.D. (Szerk): *Atmospheric Ozone Research and its Policy Implications*. Amsterdam, The Netherlands, 229-238. p.
- KURPIUS, M.R., GOLDSTEIN, A.H. (2003): Gas-phase chemistry dominates O₃ loss to a forest, implying a source of aerosols and hydroxyl radicals to the atmosphere. *Geophysical Research Letters* 30 (7) 241-244. p.
- LANGEBARTELS, C., WOHLGEMUTH, H., KSCHIESCHAN, S., GRUN, S., SANDERMANN, H. (2002): Oxidative burst and cell death in ozone-exposed plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 40 (6-8) 567-575. p.
- LEIPNER, J., OXBOROUGH, K., BAKER, N.R. (2001): Primary sites of ozone-induced perturbations of photosynthesis in leaves: identification and characterization in *Phaseolus vulgaris* using high resolution chlorophyll fluorescence imaging. *Journal of Experimental Botany* 52 (361) 1689-1696. p.
- LICHTENTHALER, H.K., BUSCHMANN, C. (1987): Chlorophyll fluorescence-spectra of green bean-leaves. *Journal of Plant Physiology* 129 (1-2) 137-147. p.
- LICHTENTHALER, H.K., RINDERLE, U. (1988): The role of chlorophyll fluorescence in the detection of stress conditions in plants. *Crc Critical Reviews in Analytical Chemistry* 19 (sup1) S29-S85. p.
- LIM, B.P., NAGAO, A., TERAOKA, J., TANAKA, K., SUZUKI, T., TAKAMA, K. (1992): Antioxidant activity of xanthophylls on peroxy radical-mediated phospholipid peroxidation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism* 1126 (2) 178-184. p.
- LORENZ, M., BECHER, G., MUES, V., FISHER, R., BECKER, R., CALATAYUD, V., AL., E. (2005): Forest Condition in Europe. Technical Report. Geneva: UNECE, 99. p.

- LORENZINI, G., GUIDI, L., NALI, C., SOLDATINI, G.F. (1999): Quenching analysis in poplar clones exposed to ozone. *Tree Physiology* 19 (9) 607-612. p.
- LORENZINI, G., SAITANIS, C. (2003): Ozone: a novel plant “pathogen”. In: DI TOPPI, L.S. és SKOWROŃSKA, B.P. (Szerk): *Abiotic stresses in plants*. Kluwer Academic Publishers, 205-229. p.
- MATYSSEK, R., GÜNTHARDT-GOERG, M.S., MAURER, S., KELLER, T. (1995): Nighttime exposure to ozone reduces whole-plant production in *Betula pendula*. *Tree Physiology* 15 (3) 159-165. p.
- MATYSSEK, R., WIESER, G., NUNN, A.J., KOZOVITS, A.R., REITER, I.M., HEERDT, C., WINKLER, J.B., BAUMGARTEN, M., HABERLE, K.H., GRAMS, T.E.E., WERNER, H., FABIAN, P., HAVRANEK, W.M. (2004): Comparison between AOT40 and ozone uptake in forest trees of different species, age and site conditions. *Atmospheric Environment* 38 (15) 2271-2281. p.
- MCDONALD, E.P., KRUGER, E.L., RIEMENSCHNEIDER, D.E., ISEBRANDS, J.G. (2002): Competitive status influences tree-growth responses to elevated CO₂ and O₃ in aggrading aspen stands. *Functional Ecology* 16 (6) 792-801. p.
- MCDONALD, K.L., CAHILL, D.M. (1999): Evidence for a transmissible factor that causes rapid stomatal closure in soybean at sites adjacent to and remote from hypersensitive cell death induced by *Phytophthora sojae*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 55 (3) 197-203. p.
- MÉSZÁROS, R., LAGZI, I. (2007): Regionális skálájú ózon és nyomanyag terjedési és ülepedési modellszámítások. 32. Meteorológiai Tudományos Napok 169-179. p.
- MEYERS, T.P., FINKELSTEIN, P., CLARKE, J., ELLESTAD, T.G., SIMS, P.F. (1998): A multilayer model for inferring dry deposition using standard meteorological measurements. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* 103 (D17) 22645-22661. p.
- MIDGLEY, P.M., BUILTJES, P.J.H., FOWLER, D., HARRISON, R.M., HEWITT, C.N., NOONE, K.J., AL., E. (2002): Eurotrac-Synthesis and Integration Report: Towards Cleaner Air for Europe – Science, Tools and Applications. Munich, Germany: GSF National Research Centre for Environment and Healthp.
- MIKKELSEN, T.N., RO-POULSEN, H., PILEGAARD, K., HOVMAD, M.F., JENSEN, N.O., CHRISTENSEN, C.S., HUMMELSHOEJ, P. (2000): Ozone uptake by an evergreen forest canopy: temporal variation and possible mechanisms. *Environmental Pollution* 109 423-429. p.
- MILLER, J.E. (1987): Effects on photosynthesis, carbon allocation, and plant growth associated with air pollutant stress. In: HECK, W.W., TAYLOR, O.C. és TINGEY, D.T. (Szerk): *Assessment of Crop Loss from Air Pollutants* London, UK: Elsevier Applied Science, 287-314. p.
- MILLS, G., HAYES, F., BALL, G. (1999): ICP-Non-Wood Plants and Crops Annual Progress Report. UN/ECE, Working Group on Effects of the Convention on Long Range Transboundary Air Pollution. University of Wales, Bangor, UKp.
- MILLS, G., HAYES, F., JONES, M.L.M., CINDERBY, S. (2007): Identifying ozone-sensitive communities of (semi-) natural vegetation suitable for mapping exceedance of critical levels. *Environmental Pollution* 146 736-743. p.
- MILLS, G., HAYES, F., SIMPSON, D., EMBERSON, L., NORRIS, D., HARMENS, H., BÜKER, P. (2011a): Evidence of widespread effects of ozone on crops and (semi-) natural vegetation in Europe (1990–2006) in relation to AOT40- and flux-based risk maps. *Global Change Biology* 17 (1) 592-613. p.

- MILLS, G., PLEIJEL, H., BRAUN, S., BUEKER, P., BERMEJO, V., CALVO, E., DANIELSSON, H., EMBERSON, L., GONZALEZ FERNANDEZ, I., GRUENHAGE, L., HARMENS, H., HAYES, F., KARLSSON, P.-E., SIMPSON, D. (2011b): New stomatal flux-based critical levels for ozone effects on vegetation. *Atmospheric Environment* 45 (28) 5064-5068. p.
- MILLS, G., PLEIJEL, H., BÜKER, P., BRAUN, S., EMBERSON, L., HARMENS, H., HAYES, F., SIMPSON, D., GRÜNHAGE, L., KARLSSON, P.-E., DANIELSSON, H., BERMEJO, V., GONZALEZ FERNANDEZ, I. (2010): Mapping Critical Levels for Vegetation. In: SPRANGER, T., LORENZ, U. és GREGOR, H.-D. (Szerk): *Manual on Methodologies and Criteria for Modelling and Mapping Critical Loads and Levels and Air Pollution Effects, Risks and Trends*. Berlin: Federal Environmental Agency (Umweltbundesamt), III/1-III/48. p.
- MIYAZAWA, S.I., LIVINGSTON, N.J., TURPIN, D.H. (2006): Stomatal development in new leaves is related to the stomatal conductance of mature leaves in poplar (*Populus trichocarpa* x *P. deltoides*). *Journal of Experimental Botany* 57 (2) 373-380. p.
- MIYAZAWA, S.I., TERASHIMA, I. (2001): Slow development of leaf photosynthesis in an evergreen broad-leaved tree, *Castanopsis sieboldii*: relationships between leaf anatomical characteristics and photosynthetic rate. *Plant Cell and Environment* 24 (3) 279-291. p.
- MOLDAU, H., SOBER, J., SOBER, A. (1990): Differential sensitivity of stomata and mesophyll to sudden exposure of bean shoots to ozone. *Photosynthetica* 24 (3) 446-458. p.
- MORGAN, P.B., AINSWORTH, E.A., LONG, S.P. (2003): How does elevated ozone impact soybean? A meta-analysis of photosynthesis, growth and yield. *Plant Cell and Environment* 26 (8) 1317-1328. p.
- MORISON, J.I.L. (1993): RESPONSE OF PLANTS TO CO₂ UNDER WATER LIMITED CONDITIONS. *Vegetatio* 104 193-209. p.
- MUSSELMAN, R.C., LEFOHN, A.S., MASSMAN, W.J., HEATH, R.L. (2006): A critical review and analysis of the use of exposure- and flux-based ozone indices for predicting vegetation effects. *Atmospheric Environment* 40 (10) 1869-1888. p.
- MÜLLEDER, N., GROSS, H., ARNDT, U. (1992): Wirkungsbezogene Messung von Ozon – Ein Vergleich der Reaktion von Tabak Bel W 3 und Indigo. In: KÖHLER, J. és ARNDT, U. (Szerk): *Bioindikatoren für Umweltbelastung – Neue Aspekte und Entwicklungen*. Hohenheimer Umwelttagung–Verlag Josef Margraf Universität Hohenheim, 49-59. p.
- NÁDAS, E., BALOGH, Á., KISS, F., NAGY, Z., SZENTE, K. (1997): Some aspects of carbohydrate metabolism in two C₃ grassland species under elevated CO₂. *Abstracta Botanica* 21 (2) 323-328. p.
- NADEAU, J.A., SACK, F.D. (2002): Stomatal development in *Arabidopsis*. The *Arabidopsis* Book. American Society of Plant Biologists, 0066. p.
- NAGY, Z., SZENTE, K., TUBA, Z. (1997): Acclimation of dicot and monocot temperate grassland species to long-term elevated CO₂ concentration. *Abstracta Botanica* 21 (2) 297-304. p.
- NAGY, Z., TUBA, Z., CZÓBEL, S., ENGLONER, A., PALICZ, G., BENKŐ, Z., HELYES, L. (2002): Ecophysiological response by loess grassland vegetation to elevated air CO₂ concentration in a miniFACE system. 7th Hungarian Congress on Plant Physiology *Acta Biologica Szegediensis* 215-217. p.
- NALI, C., FRANCINI, A., LORENZINI, G. (2006): Biological monitoring of ozone: the twenty-year Italian experience. *Journal of Environmental Monitoring* 8 25-32. p.

- NALI, C., FRANCINI, A., LORENZINI, G. (2009): White clover clones as a cost-effective indicator of phytotoxic ozone: 10 years of experience from central Italy. *Environmental Pollution* 157 (5) 1421-1426. p.
- NALI, C., GUIDI, L., FILIPPI, F., SOLDATINI, G., LORENZINI, G. (1998): Photosynthesis of two poplar clones contrasting in O₃ sensitivity. *Trees* 12 (4) 196-200. p.
- NALI, C., PUCCIARIELLO, C., MILLS, G., LORENZINI, G. (2005): On the different sensitivity of white clover clones to ozone: Physiological and biochemical parameters in a multivariate approach. *Water, Air, and Soil Pollution* 164 (1-4) 137-153. p.
- NEUFELD, H.S., PEOPLES, S.J., DAVISON, A.W., CHAPPELKA, A.H., SOMERS, G.L., THOMLEY, J.E., BOOKER, F.L. (2012): Ambient ozone effects on gas exchange and total non-structural carbohydrate levels in cutleaf coneflower (*Rudbeckia laciniata* L.) growing in Great Smoky Mountains National Park. *Environmental Pollution* 160 74-81. p.
- NUNES, T.V., PIO, C.A. (2001): Emission of volatile organic compounds from Portuguese eucalyptus woods. *Chemosphere-Global Change Science* 3 239-248. p.
- ONANDIA, G., OLSSON, A.-K., BARTH, S., KING, J.S., UDDLING, J. (2011): Exposure to moderate concentrations of tropospheric ozone impairs tree stomatal response to carbon dioxide. *Environmental Pollution* 159 (10) 2350-2354. p.
- PÄÄKKÖNEN, E., HOLOPAINEN, T., KÄRENLAMPI, L. (1997): Variation in ozone sensitivity among clones of *Betula pendula* and *Betula pubescens*. *Environmental Pollution* 95 (1) 37-44. p.
- PAOLETTI, E. (2005): Ozone slows stomatal response to light and leaf wounding in a Mediterranean evergreen broadleaf, *Arbutus unedo*. *Environmental Pollution* 134 (3) 439-445. p.
- PAOLETTI, E. (2006): Impact of ozone on Mediterranean forests: A review. *Environmental Pollution* 144 (2) 463-474. p.
- PAOLETTI, E. (2007): Ozone impacts on forests. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* 68 1-13. p.
- PAOLETTI, E., BYTNEROWICZ, A., ANDERSEN, C., AUGUSTAITIS, A., FERRETTI, M., GRULKE, N.E., GUENTHARDT-GOERG, M.S., INNES, J., JOHNSON, D., KARNOSKY, D., LUANGJAME, J., MATYSSEK, R., MCNULTY, S., MUELLER-STARCK, G., MUSSELMAN, R., PERCY, K. (2007a): Impacts of air pollution and climate change on forest ecosystems - Emerging research needs. *The Scientific World Journal* 7 1-8. p.
- PAOLETTI, E., GRULKE, N.E. (2005): Does living in elevated CO₂ ameliorate tree response to ozone? A review on stomatal responses. *Environmental Pollution* 137 (3) 483-493. p.
- PAOLETTI, E., GRULKE, N.E. (2010): Ozone exposure and stomatal sluggishness in different plant physiognomic classes. *Environmental Pollution* 158 (8) 2664-2671. p.
- PAOLETTI, E., MANNING, W.J. (2007): Toward a biologically significant and usable standard for ozone that will also protect plants. *Environmental Pollution* 150 (1) 85-95. p.
- PAOLETTI, E., NALI, C., LORENZINI, G. (2007b): Early responses to acute ozone exposure in two *Fagus sylvatica* clones differing in xeromorphic adaptations: Photosynthetic and stomatal processes, membrane and epicuticular characteristics. *Environmental Monitoring and Assessment* 128 (1-3) 93-108. p.
- PEGUERO-PINA, J.J., GIL-PELEGRIN, E., MORALES, F. (2013): Three pools of zeaxanthin in *Quercus coccifera* leaves during light transitions with different roles in rapidly reversible photoprotective energy dissipation and photoprotection. *Journal of Experimental Botany* 64 (6) 1649-1661. p.

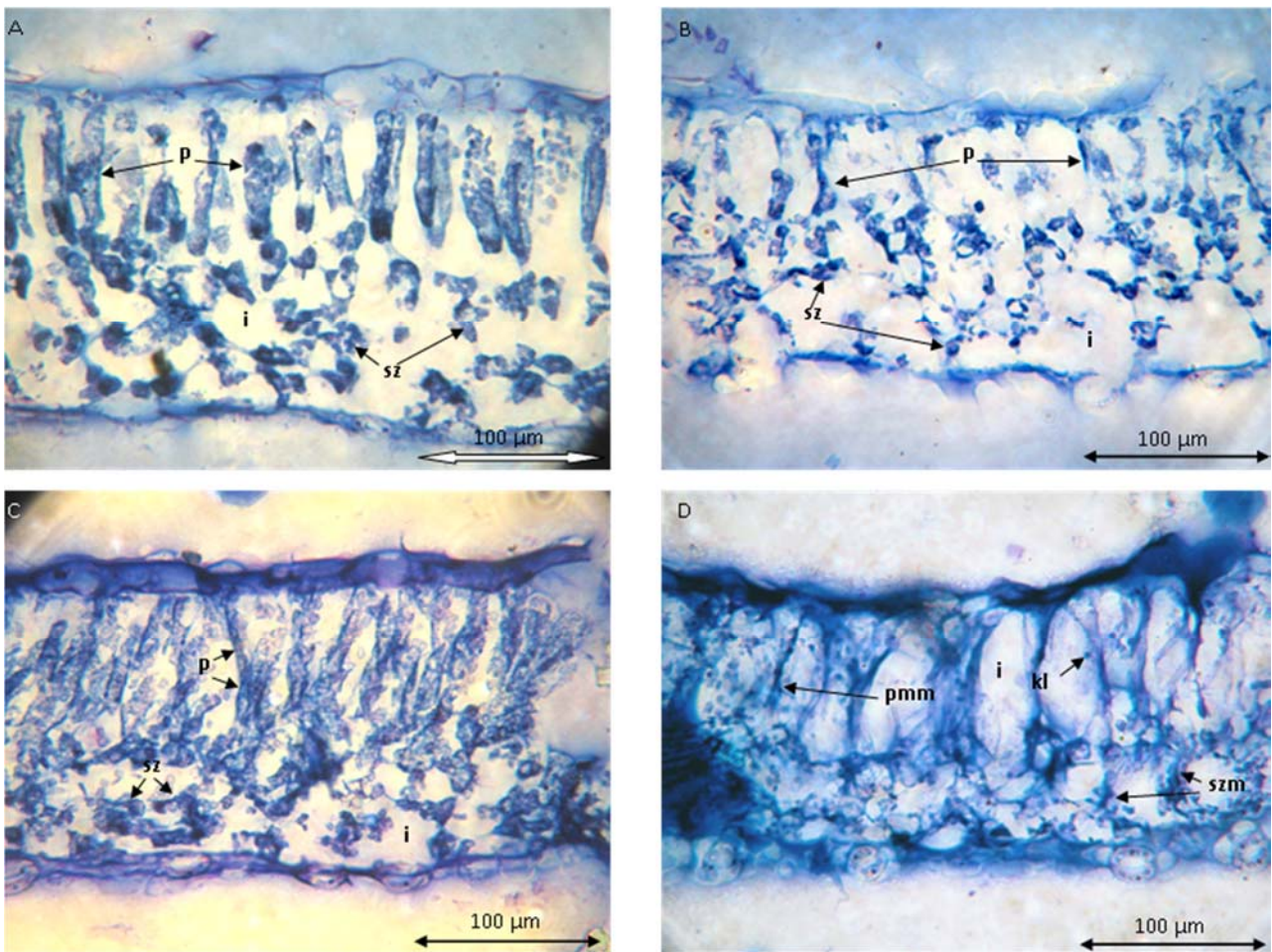
- PELL, E.J., SCHLAGNHAUFER, C.D., ARTECA, R.N. (1997): Ozone-induced oxidative stress: Mechanisms of action and reaction. *Physiologia Plantarum* 100 (2) 264-273. p.
- PELLINEN, R., PALVA, T., KANGASJARVI, J. (1999): Subcellular localization of ozone-induced hydrogen peroxide production in birch (*Betula pendula*) leaf cells. *Plant Journal* 20 (3) 349-356. p.
- PILEGAARD, K. (2001): Air-soil exchange of NO, NO₂ and O₃ in forests. *Water Air and Soil Pollution* 20 (1) 79-88. p.
- PINTER, P.J., KIMBALL, B.A., WALL, G.W., LAMORTE, R.L., HUNSAKER, D.J., ADAMSEN, F.J., FRUMAU, K.F.A., VUGTS, H.F., HENDREY, G.R., LEWIN, K.F., NAGY, J., JOHNSON, H.B., WECHSUNGE, F., LEAVITT, S.W., THOMPSON, T.L., MATTHIAS, A.D., BROOKS, T.J. (2000): Free-air CO₂ enrichment (FACE): blower effects on wheat canopy microclimate and plant development. *Agricultural and Forest Meteorology* 103 (4) 319-333. p.
- PLEIJEL, H., DANIELSSON, H., OJANPERA, K., DE TEMMERMAN, L., HOGY, P., BADIANI, M., KARLSSON, P.E. (2004): Relationships between ozone exposure and yield loss in European wheat and potato - a comparison of concentration- and flux-based exposure indices. *Atmospheric Environment* 38 (15) 2259-2269. p.
- PLEIJEL, H., GELANG, J., SILD, E., DANIELSSON, H., YOUNIS, S., KARLSSON, P.E., WALLIN, G., SKARBY, L., SELLDEN, G. (2000): Effects of elevated carbon dioxide, ozone and water availability on spring wheat growth and yield. *Physiologia Plantarum* 108 (1) 61-70. p.
- PLÖCHL, M., LYONS, T., OLLERENSHAW, J., BARNES, J. (2000): Simulating ozone detoxification in the leaf apoplast through the direct reaction with ascorbate. *Planta* 210 (3) 454-467. p.
- POLLET, B., STEPPE, K., VAN LABEKE, M.C., LEMEURE, R. (2009): Diurnal cycle of chlorophyll fluorescence in *Phalaenopsis*. *Photosynthetica* 47 (2) 309-312. p.
- POSPISIL, P., SKOTNICA, J., NAUS, J. (1998): Low and high temperature dependence of minimum F₀ and maximum F_M chlorophyll fluorescence *in vivo*. *Biochimica Et Biophysica Acta-Bioenergetics* 1363 (2) 95-99. p.
- POSTIGLIONE, L., FAGNANO, M., MEROLA, G. (2000): Response to ambient ozone of two white clover (*Trifolium repens* L.cv. "Regal") clones, one resistant and one sensitive, grown in a Mediterranean environment. *Environmental Pollution* 109 (3) 525-531. p.
- PYE, J.M. (1988): Impact of ozone on the growth and yield of trees – a review. *Journal of Environmental Quality* 17 (3) 347-360. p.
- RÄMÖ, K., KANERVA, T., OJANPERÄ, K., MANNINEN, S. (2007): Growth onset, senescence, and reproductive development of meadow species in mesocosms exposed to elevated O₃ and CO₂. *Environmental Pollution* 145 (3) 850-860. p.
- RÄMÖ, K., SLOTTE, H., KANERVA, T., OJANPERA, K., MANNINEN, S. (2006): Growth and visible injuries of four *Centaurea jacea* L. ecotypes exposed to elevated ozone and carbon dioxide. *Environmental and Experimental Botany* 58 (1-3) 287-298. p.
- RAO, M.V., DAVIS, K.R. (1999): Ozone-induced cell death occurs via two distinct mechanisms in Arabidopsis: the role of salicylic acid. *The Plant Journal* 17 (6) 603-614. p.
- RAO, M.V., KOCH, J.R., DAVIS, K.R. (2000): Ozone: a tool for probing programmed cell death in plants. *Programmed Cell Death in Higher Plants*. Springer, 101-114. p.

- RAO, M.V., LEE, H.I., DAVIS, K.R. (2002): Ozone-induced ethylene production is dependent on salicylic acid, and both salicylic acid and ethylene act in concert to regulate ozone-induced cell death. *The Plant Journal* 32 (4) 447-456. p.
- REILING, K., DAVISON, A.W. (1992): The response of native, herbaceous species to ozone – growth and fluorescence screening. *New Phytologist* 120 (1) 29-37. p.
- REILING, K., DAVISON, A.W. (1995): Effects of ozone on stomatal conductance and photosynthesis in populations of *Plantago major* L. *New Phytologist* 129 (4) 587-594. p.
- REINERT, R.A., EASON, G. (2000): Genetic control of O₃ sensitivity in a cross between two cultivars of snap bean. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 125 (2) 222-227. p.
- RIBAS, A., PENUELAS, J. (2003): Biomonitoring of tropospheric ozone phytotoxicity in rural Catalonia. *Atmospheric Environment* 37 63-71. p.
- ROGERS, H.H., THOMAS, J.F., BINGHAM, G.E. (1983): RESPONSE OF AGRONOMIC AND FOREST SPECIES TO ELEVATED ATMOSPHERIC CARBON-DIOXIDE. *Science* 220 (4595) 428-429. p.
- RONDON, A., JOHANSSON, C., GRANAT, L. (1993): Dry deposition of nitrogen-dioxide and ozone to coniferous forests. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* 98 (D3) 5159-5172. p.
- ROSCHINA, V.V., ROSCHINA, V.D. (2003): Ozone and Plant Cell. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishersp.
- RUTH, B., WEISEL, B. (1993): Investigations on the photosynthetic system of spruce affected by forest decline and ozone fumigation in closed chambers. *Environmental Pollution* 79 (1) 31-35. p.
- SAGE, R.F., SHARKEY, T.D., SEEMANN, J.R. (1989): Acclimation of photosynthesis to elevated CO₂ in 5 C₃ species. *Plant Physiology* 89 (2) 590-596. p.
- SALVATORI, E., FUSARO, L., MEREU, S., BERNARDINI, A., PUPPI, G., MANES, F. (2012): Different O₃ response of sensitive and resistant snap bean genotypes (*Phaseolus vulgaris* L.): the key role of growth stage, stomatal conductance, and PSI activity. *Environmental and Experimental Botany* p.
- SAMUEL, M.A., MILES, G.P., ELLIS, B.E. (2000): Ozone treatment rapidly activates MAP kinase signalling in plants. *The Plant Journal* 22 (4) 367-376. p.
- SANDERMANN, H. (1996): Ozone and plant health. *Annual Review of Phytopathology* 34 347-366. p.
- SANDERMANN, H., ERNST, D., HELLER, W., LANGEBARTELS, C. (1998): Ozone: an abiotic elicitor of plant defence reactions. *Trends in Plant Science* 3 (2) 47-50. p.
- SANZ, M.J., CALATAYUD, V. (2009): Ozone injury in European Forest Species. Bean cultivars.p.
- SARRY, J.E., MONTILLET, J.L., SAUVAIRE, Y., HAVAUX, M. (1994): The protective function of the xanthophyll cycle in photosynthesis. *Febs Letters* 353 (2) 147-150. p.
- SCHAFLER, P. (1998): Bioindikation von Ozon in Ostösterreich: eine Fallstudie. Wien: Österreichische Gesellschaft für Waldökosystemforschung und experimentelle Baumforschung, 178. p.
- SCHREIBER, U., VIDAVER, W., RUNECKLES, V.C., ROSEN, P. (1978): Chlorophyll fluorescence assay for ozone injury in intact plants. *Plant Physiology* 61 (1) 80-84. p.

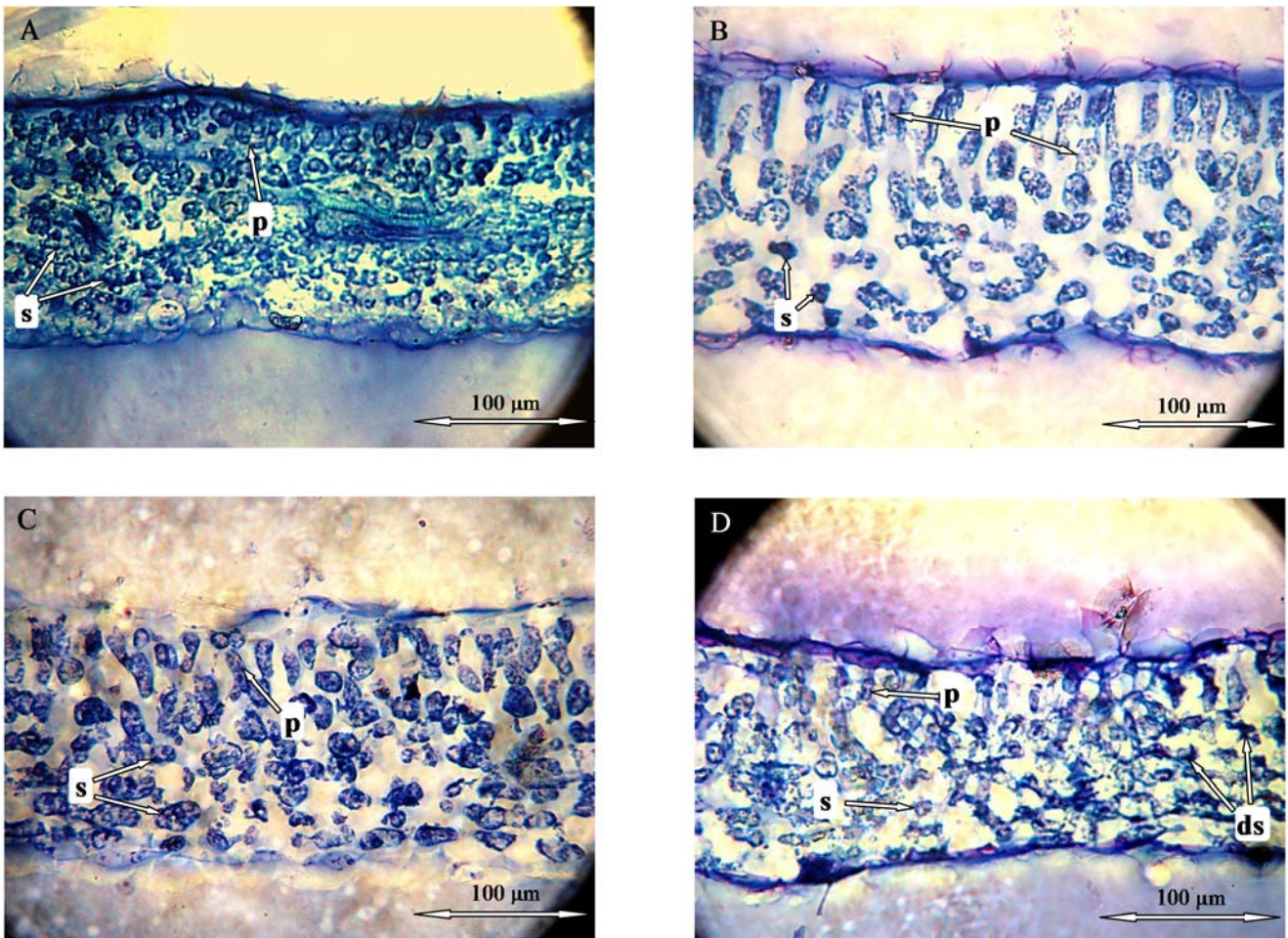
- SHARMA, Y.K., LEÓN, J., RASKIN, I., DAVIS, K.R. (1996): Ozone-induced responses in *Arabidopsis thaliana*: the role of salicylic acid in the accumulation of defense-related transcripts and induced resistance *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 93 (10) 5099-5104. p.
- SHIRKE, P.A., PATHRE, U.V. (2003): Diurnal and seasonal changes in photosynthesis and photosystem 2 photochemical efficiency in *Prosopis juliflora* leaves subjected to natural environmental stress. *Photosynthetica* 41 (1) 83-89. p.
- SIELEWIESIUK, J., MATULA, M., GRUSZECKI, W.I. (1997): Photo-oxidation of chlorophyll a in digalactosyldiacylglycerol liposomes containing xanthophyll pigments: indication of a special photoprotective ability of zeaxanthin. *Cellular and Molecular Biology Letters* 2 59-68. p.
- SIMPSON, D., TUOVINEN, J.P., EMBERSON, L., ASHMORE, M.R. (2003): Characteristics of an ozone deposition module II: Sensitivity analysis. *Water Air and Soil Pollution* 143 (1-4) 123-137. p.
- SITCH, S., COX, P.M., COLLINS, W.J., HUNTINGFORD, C. (2007): Indirect radiative forcing of climate change through ozone effects on the land-carbon sink. *Nature* 448 (7155) 791-U4. p.
- STAEHELIN, J., PRÉVÔT, A.S.H., BARNES, J. (2000): Photochemie der troposphäre. In: GUDERIAN, R. (Szerk): *Atmosphäre. Handbuch der Umweltveränderungen und Ökotoxikologie*. Berlin, Germany: Springer Verlag, 207-341. p.
- STENGLEIN, S.A., ARAMBARRI, A.M., SEVILLANO, M.D., BALATTI, P.A. (2005): Leaf epidermal characters related with plant's passive resistance to pathogens vary among accessions of wild beans *Phaseolus vulgaris* var. *aborigineus* (*Leguminosae-Phaseoleae*). *Flora* 200 (3) 285-295. p.
- SUBCZYNSKI, W.K., MARKOWSKA, E., GRUSZECKI, W.I., SIELEWIESIUK, J. (1992): Effects of polar carotenoids on dimyristoylphosphatidylcholine membranes – a spin-label study. *Biochimica et Biophysica Acta* 1105 (1) 97-108. p.
- SUGANO, S.S., SHIMADA, T., IMAI, Y., OKAWA, K., TAMAI, A., MORI, M., HARA-NISHIMURA, I. (2010): Stomagen positively regulates stomatal density in *Arabidopsis*. *Nature* 463 (7278) 241-U130. p.
- SYVERTSEN, J.P., LLOYD, J., MCCONCHIE, C., KRIEDEMANN, P.E., FARQUHAR, G.D. (1995): On the relationship between leaf anatomy and CO₂ diffusion through the mesophyll of hypostomatous leaves. *Plant Cell and Environment* 18 (2) 149-157. p.
- SZENTE, K., NAGY, Z., TUBA, Z. (1998): Enhanced water use efficiency in dry loess grassland species grown at elevated air CO₂ concentration. *Photosynthetica* 35 (4) 637-640. p.
- SZERDAHELYI, T., FOTI, S., NAGY, J., CZOBEL, S., BALOGH, J., TUBA, Z. (2004a): Species composition and CO₂ exchange of a temperate loess grassland (*Salvia-Festucetum rupicolae*) at present-day and expected future air CO₂ concentrations. *Ekologia-Bratislava* 23 137-146. p.
- SZERDAHELYI, T., NAGY, J., FOTI, S., CZOBEL, S., BALOGH, J., TUBA, Z. (2004b): Botanical composition and selected CO₂ exchange characteristics of temperate semi-desert sand grassland in Hungary under present-day and elevated air CO₂ concentrations. *Ekologia-Bratislava* 23 124-136. p.
- TAIZ, L., ZEIGER, E. (2010): Secondary metabolites and plant defense. In: TAIZ, L. és ZEIGER, E. (Szerk): *Plant Physiology*. Sinauer Associates Inc. Publisher 283-308. p.

- THUNIS, P., CUVELIER, C. (2000): Impact of biogenic emissions on ozone formation in the Mediterranean area - a BEMA modelling study. *Atmospheric Environment* 34 (3) 467-481. p.
- TONNEIJCK, A.E.G., VANDIJK, C.J. (1997): Effects of ambient ozone on injury and yield of *Phaseolus vulgaris* at four rural sites in the Netherlands as assessed by using ethylenediurea (EDU). *New Phytologist* 135 (1) 93-100. p.
- TUBA, Z. (2003): Az emelkedő légköri CO₂ koncentráció növényökológiai hatásai. "Agro-21" füzetek 32 111-127. p.
- TUBA, Z. (2005): Is the long-term elevated air CO₂ environment beneficial for plants, crops and vegetation? *Journal of Crop Improvement* 13 (1-2) 1-6. p.
- TUBA, Z., JONES, M.B., SZENTE, K., NAGY, Z., GARVEY, L., BAXTER, R. (1998): Some ecophysiological and production responses of grasslands to long-term elevated CO₂ under continental and atlantic climates
- limates. In: CSERMELY, P. (Szerk): *Stress of Life from Molecules to Man*. New York: The New York Academy of Sciences, 241-250. p.
- TUBA, Z., LICHTENTHALER, H.K. (2007): Long-term acclimation of plants to elevated CO₂ and its interaction with stresses. *Stress Responses in Biology and Medicine: Stress of Life in Molecules, Cells, Organisms, and Psychosocial Communities* 1113 135-146. p.
- TUBA, Z., RASCHI, A., LANINI, G.M., NAGY, Z., HELYES, L., VODNIK, D., SANITÁ DI TOPPI, L. (2003): Plant response to elevated carbon dioxide. In: SANITÁ DI TOPPI, L. és PAWLIK-SKOWRONSKA, B. (Szerk): *Abiotic Stresses in Plants*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 157-204. p.
- TUBA, Z., SZENTE, K., KOCH, J. (1994): Response of photosynthesis, stomatal conductance, water-use efficiency and production to long-term elevated CO₂ in winter-wheat. *Journal of Plant Physiology* 144 (6) 661-668. p.
- TUBA, Z., SZENTE, K., NAGY, Z., CSINTALAN, Z., KOCH, J. (1996): Responses of CO₂ assimilation, transpiration and water use efficiency to long-term elevated CO₂ in perennial C-3 xeric loess steppe species. *Journal of Plant Physiology* 148 (3-4) 356-361. p.
- TUZET, A., PERRIER, A., LOUBET, B., CELLIER, P. (2011): Modelling ozone deposition fluxes: The relative roles of deposition and detoxification processes. *Agricultural and Forest Meteorology* 151 (4) 480-492. p.
- VAN HOVE, L.W.A., BOSSEN, M.E., DE BOK, F.A.M., HOOIJMAIJERS, C.A.M. (1999): The uptake of O₃ by poplar leaves: the impact of a long-term exposure to low O₃ concentrations. *Atmospheric Environment* 33 (6) 907-917. p.
- VANDERMEIREN, K., BLACK, C., LAWSON, T., CASANOVA, M.A., OJANPERA, K. (2002): Photosynthetic and stomatal responses of potatoes grown under elevated CO₂ and/or O₃ - results from the European CHIP-programme. *European Journal of Agronomy* 17 (4) 337-352. p.
- VIALETTO, G., RACALBUTO, S., GASPARRINI, G., MANES, F., GIANNINI, M.A., CAPOGNA, F., DE BONFILS, A., POSTIGLIONE, L., FAGNANO, M., MEROLA, G., FORLANI, A., PICCOLO, R., FUMAGALLI, I., BELGIOVINE, N., MIGNANEGO, L. (2002): Ozone critical levels and effects on plants in Italy. Rome: ENEA, 1-16. p.
- VINGARZAN, R. (2004): A review of surface ozone background levels and trends. *Atmospheric Environment* 38 (21) 3431-3442. p.
- VODNIK, D., PFANZ, H., MACEK, I., KASTELEC, D., LOJEN, S., BATIC, F. (2002): Photosynthesis of cocksbur *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. at sites of naturally elevated CO₂ concentration. *Photosynthetica* 40 (4) 575-579. p.

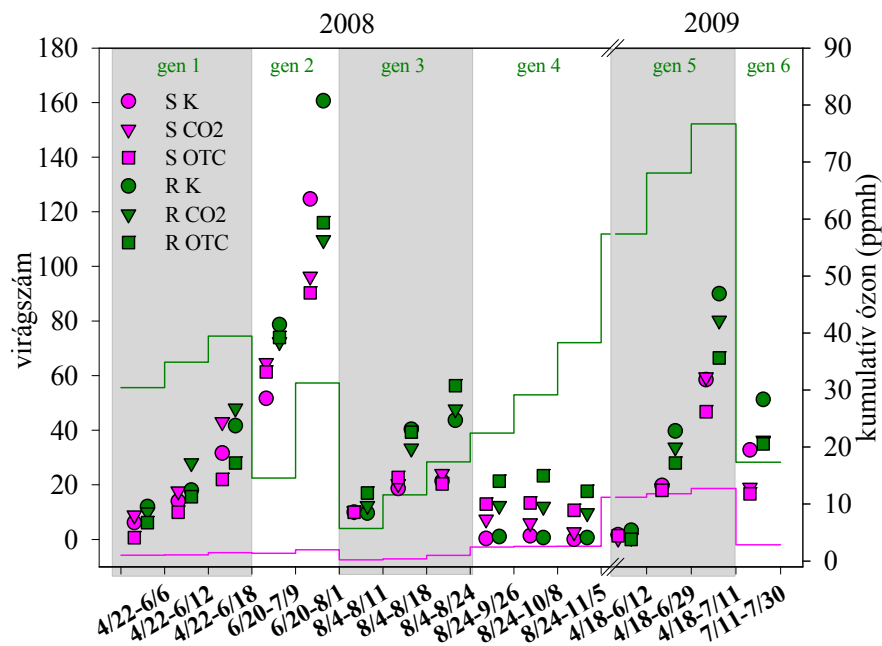
- VOLK, M., OBRIST, D., NOVAK, K., GIGER, R., BASSIN, S., FUHRER, J. (2010): Subalpine grassland NEE CO₂ fluxes indicate reduced GPP and reco at elevated ozone, but no reduction of productivity. 23rd Task Force Meeting. Tervuren, Belgium, 26. p.
- VOLLENWEIDER, P., OTTIGER, M., GÜNTHARDT-GOERG, M.S. (2003): Validation of leaf ozone symptoms in natural vegetation using microscopical methods. *Environmental Pollution* 124 (1) 101-118. p.
- WANG, H., NGWENYAMA, N., LIU, Y., WALKER, J.C., ZHANG, S. (2007): Stomatal development and patterning are regulated by environmentally responsive mitogen-activated protein kinases in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 19 (1) 63-73. p.
- WENG, J.H., LAI, M.F. (2005): Estimating heat tolerance among plant species by two chlorophyll fluorescence parameters. *Photosynthetica* 43 (3) 439-444. p.
- WILD, A., WOLF, G. (1980): The effect of different light intensities on the frequency and size of stomata, the size of cells, the number, size and chlorophyll content of chloroplasts in the mesophyll and the guard-cells during the ontogeny of primary leaves of *Sinapis alba*. *Zeitschrift Fur Pflanzenphysiologie* 97 (4) 325-342. p.
- WILKINSON, S., MILLS, G., ILLIDGE, R., DAVIES, W.J. (2012): How is ozone pollution reducing our food supply? *Journal of Experimental Botany* 63 (2) 527-536. p.
- WITTIG, V.E., AINSWORTH, E.A., NAIDU, S.L., KARNOSKY, D.F., LONG, S.P. (2009): Quantifying the impact of current and future tropospheric ozone on tree biomass, growth, physiology and biochemistry: a quantitative meta-analysis. *Global Change Biology* 15 (2) 396-424. p.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) (2000): Air Quality Guidelines for Europe, 2nd edition, WHO Regional Publications, European Series, No. 91. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 288. p.
- WUSTMAN, B.A., OKSANEN, E., KARNOSKY, D.F., NOORMETS, A., ISEBRANDS, J.G., PREGITZER, K.S., HENDREY, G.R., SOBER, J., PODILA, G.K. (2001): Effects of elevated CO₂ and O₃ on aspen clones varying in O₃ sensitivity: can CO₂ ameliorate the harmful effects of O₃? *Environmental Pollution* 115 (3) 473-481. p.
- YALPANI, N., ENYEDI, A.J., LEÓN, J., RASKIN, I. (1994): Ultraviolet light and ozone stimulate accumulation of salicylic acid, pathogenesis-related proteins and virus resistance in tobacco. *Planta* 193 (3) 372-376. p.
- ZHANG, R., CRUZ, J.A., KRAMER, D.M., MAGALLANES-LUNDBACK, M.E., DELLAPENNA, D., SHARKEY, T.D. (2009): Moderate heat stress reduces the pH component of the transthylakoid proton motive force in light-adapted, intact tobacco leaves. *Plant Cell and Environment* 32 (11) 1538-1547. p.
- ZHENG, Y., SHIMIZU, H., BARNES, J.D. (2002): Limitations to CO₂ assimilation in ozone-exposed leaves of *Plantago major*. *New Phytologist* 155 (1) 67-78. p.

8.2 *Ábrák*

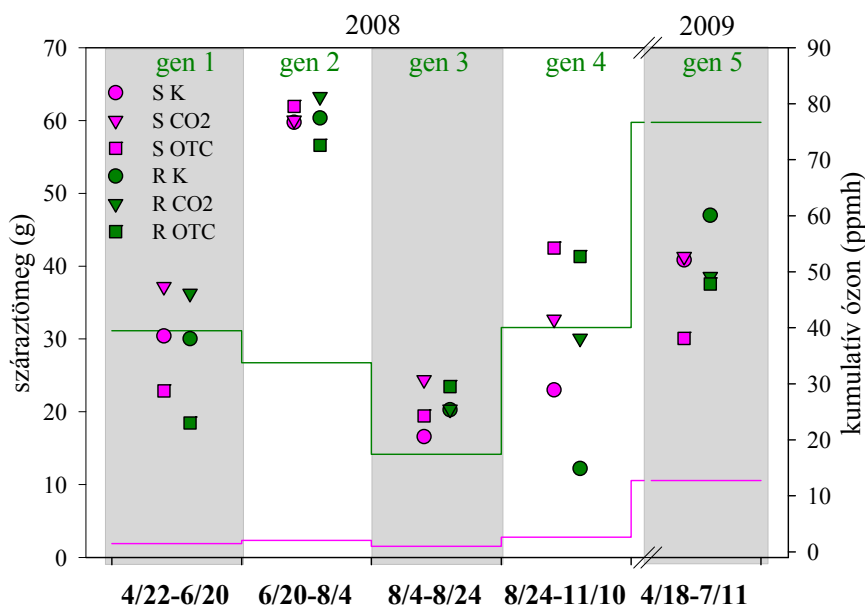
28. ábra: A *P. vulgaris* ózonszenzitív és –rezisztens genotípusok leveleinek keresztmetszeti képe. A) rezisztens *P. vulgaris* (R 123) kifejlett levele; B) idős rezisztens *P. vulgaris* (R123) levél; C) szenzitív *P. vulgaris* (S 156) kifejlett levele; D) idős (és károsodott) szenzitív *P. vulgaris* (S156) levél. Betűjelzések: p: paliszád sejtek; s: szivacsos sejtek; i: intercelluláris tér; pmm: a paliszád sejtek maradványai; szm: a szivacsos sejtek maradványai; kl: kloroplasztisz. A paliszád parenchima különbözik leginkább a két vonal között.



29. ábra: A *T. repens* NC-R genotípusának kifejlett (A) és idős (C) leveléből, valamint az NC-S genotípus kifejlett (B) és idős (károsodott, D) leveleinek keresztmetszeti felvétele. A szindrómás levelek mind paliszád, mind szivacsos sejtjeinek egy része dezintegrálódott, a sejtek mérete csökkent. A felvételek alapján a tünetes levél sejtjeiben kevesebb kloroplasztisz található, mint a rezisztens párjánál. Betűjelzések: p: paliszád sejtek; sz: szivacsos sejtek; i: intercelluláris tér; ds: struktúrájukban megváltozott sejtek.



30. ábra: A *T. repens* két genotípusán mért virágszámok. A zöld vonal az x-tengelyen jelölt időszakok órás átlagos ózonkoncentrációinak kumulatív összegét, a rózsaszínű vonal pedig ugyanezen időszakok órás átlagos AOT40 értékeinek kumulatív összegét jelölik. Az x tengelyen jelölt időszakok első időpontjai az ültetést, az utolsó időpontok a mérés időpontját jelölik. Szimbólumok: S: szenitív, R: rezisztens, K: szabadföldi, CO2: emelt CO2-os kezelés, OTC: kontroll OTC. Az ábrán feltüntettük a vizsgálat évét és a vizsgált növedék (gen) számát.



31. ábra: A *T. repens* két genotípusán mért száraztömegek. A zöld vonal az x-tengelyen jelölt időszakok órás átlagos ózonkoncentrációinak kumulatív összegét, a rózsaszínű vonal pedig ugyanezen időszakok órás átlagos AOT40 értékeinek kumulatív összegét jelölik. Az x tengelyen jelölt időszakok első időpontjai az ültetést, az utolsó időpontok a mérés időpontját jelölik. Szimbólumok: mint a 28. ábrán. Az ábrán feltüntettük a vizsgálat évét és a vizsgált növedék (gen) számát.

8.3 Táblázatok

11. táblázat: A *P. vulgaris* fajon mért szövettani paraméterek közötti szignifikáns különbségek genotípusonkénti, évszakonkénti és a levélfejlődési stádiumonkénti összehasonlítása. A kiemelt betűjelzések a szignifikánsan magasabb értékeket jelölik. Az egyenlőségjelek a szignifikáns eltérés hiányát jelzik. Betűjelzések: S, s: szenzitív; R: rezisztens; t: tél; ny: nyár; f: fiatal; K, k: kifejlett; I: idős; Kt: kifejlett téli levél; Fny: fiatal nyári levél; Kny; kifejlett nyári levél; Iny: idős nyári levél

<i>P. vulgaris</i>	rezisztens/ szenzitív				tél/nyár		kifejlett/ fiatal		idős/ fiatal		idős/ kifejlett	
	Kt	Fny	Kny	Iny	S	R	S	R	S	R	S	R
levélvastagság, L (µm)	s	R	R	s	t	=	K	K	I	I	k	=
színi epidermisz vastagság(µm)	=	=	s	=	t	t	K	K	=	I	k	=
fonáki epidermisz vastagság (µm)	s	=	=	=	t	=	K	=	I	I	=	=
mezofillum vastagság (l, µm)	s	R	R	R	t	Ny	K	K	I	I	=	=
paliszád parenchima vastagság(µm)	s	R	R	=	t	Ny	K	K	I	I	=	=
szivacsos parenchima vastagság(µm)	s	R	=	R	t	=	K	K	I	I	=	I
paliszád parenchima/összparenchima	=	=	R	=	=	=	=	=	=	f	=	k
paliszádparenchima/µm2 kmetszet terület	=	=	=	s	=	=	=	=	=	f	k	k
szivacsos parenchima/µm2 kmetszet terület	=	=	s	=	=	=	=	=	=	f	=	=
intracellulárisok területe/µm2 kmetszet ter	=	=	=	R	=	Ny	=	=	I	I	I	I
intercellulárisok hányada (fias)(1-Am/l*W	=	=	=	R	=	Ny	=	=	I	I	=	I
mezofillumsejtek felszíne Sm (m2/m2) =1,36*Lm/W	s	=	=	=	=	Ny	K	=	I	I	=	I
paliszád par sejtek felszíne Sm (m2/m2)=1,36*Lm(p)/W	s	=	=	=	=	Ny	K	=	I	I	=	=
szivacsos par sejtek felszíne Sm (m2/m2)1,36*Lm(sz)/W	=	=	=	=	=	=	=	=	=	I	=	=
mezofillumsejtek térfogata Vm (m3/m2)= Am/W	s	R	=	=	t	=	K	K	I	=	k	k
átlagos paliszád par. Sejtméret µm2 (ter.)	=	R	R	=	t	=	=	K	=	I	=	=
átlagos szivacsos par. Sejtméret µm2(ter)	s	=	s	=	t	=	K	=	I	=	=	=
átlagos paliszád sejt térfogat m3/m2	s	=	=	=	t	=	K	=	=	=	=	k
átlagos szivacsos sejt térfogatom3/m2	s	=	=	=	t	=	=	=	=	=	=	=
paliszád parenchima/szivacsos parenchima vastagság	=	=	=	=	=	Ny	=	=	=	=	=	=
paliszád/szivacsos terület	=	=	R	=	=	=	=	=	=	f	=	k
gáz konduktancia az intercellulárisban (gias)(fias1,55/lk)	=	=	=	R	t	=	f	f	f	f	=	I
sztómaszám/mm2 alul	s	=	R	=	t	Ny	f	f	f	f	=	k
epidermiszsejt/mm2 alul	s	s	R	s	t	=	f	f	f	f	k	k
SI% alul	R	R	R	R	Ny	Ny	=	=	=	I	I	I
sztómaméret alul	=	=	s	R	Ny	Ny	K	=	=	I	=	I
pórusméret alul	=	s	s	R	Ny	Ny	=	K	=	I	=	I
zárósejt mérete alul	=	=	s	R	Ny	Ny	K	=	=	I	=	I
pórus hossz alul	=	=	s	R	Ny	Ny	K	K	I	I	=	I
pórus szél/hossz alul	s	s	=	s	=	Ny	f	f	f	f	=	k
epidermiszsejt területe alul	R	=	s	R	Ny	Ny	K	K	I	I	I	I
sztómaszám/mm2 felül	=	R	R	R	=	Ny	=	=	I	I	I	I
epidermiszsejt/mm2 felül	R	s	=	=	t	t	f	f	f	f	=	k
SI% felül	=	R	R	R	=	Ny	=	=	I	I	I	I
sztómaméret felül	s	=	s	R	=	Ny	K	K	=	I	k	=
pórusméret felül	=	R	s	R	Ny	Ny	K	=	=	I	k	=
zárósejt mérete felül	s	=	=	R	Ny	Ny	K	K	=	I	k	=
pórus hossz felül	s	s	s	=	=	Ny	K	K	I	I	k	=
pórus szél/hossz felül	R	R	=	R	Ny	=	=	f	=	f	=	=
epidermiszsejt területe felül	=	R	R	=	Ny	Ny	K	K	I	I	=	=

12. táblázat: A *T. repens* fajon mért szövettani paraméterek közötti szignifikáns különbségek genotípusonkénti, évszakonkénti és a levélfejlődési stádiumonkénti összehasonlítása. A kiemelt betűjelzések a szignifikánsan magasabb értékeket jelölik. Az egyenlőségjelek a szignifikáns eltérés hiányát jelzik. Betűjelzések: S, s: szenzitív; R: rezisztens; t: tél; ny: nyár; f: fiatal; K, k: kifejlett; I: idős; Kt: kifejlett téli levél; Fny: fiatal nyári levél; Kny: kifejlett nyári levél; Iny: idős nyári levél

<i>T. repens</i>	rezisztens/ szenzitív				tél/nyár		kifejlett/ fiatal		idős/ fiatal		idős/ kifejlett	
	Kt	Fny	Kny	Iny	S	R	S	R	S	R	S	R
levélvastagság, L (μm)	s	=	=	R	t	=	K	K	I	I	k	I
színi epidermisz vastagság(μm)	=	R	R	=	=	=	K	K	I	I	=	k
fonáki epidermisz vastagság (μm)	=	R	R	=	=	=	K	K	=	=	k	k
mezofillum vastagság (l, μm)	s	=	=	R	t	=	K	K	I	I	k	I
paliszád parenchima vastagság(μm)	s	=	=	R	t	=	K	K	I	I	k	I
szivacsos parenchima vastagság(μm)	s	=	=	R	=	=	K	K	I	I	=	I
paliszád parenchima/összparenchima	=	R	=	=	t	=	=	=	=	=	=	=
paliszádparenchima/ μm^2 kmetszet terület	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=	=
szivacsos parenchima/ μm^2 kmetszet terület	=	s	=	=	Ny	Ny	f	f	f	=	=	I
intracellulárisok területe/ μm^2 kmetszet ter	=	R	=	=	t	t	K	=	I	I	=	=
intercellulárisok hányada (fias)(1-Am/l*W)	=	R	=	=	t	t	K	A	I	=	=	=
mezofillumsejtek felszíne Sm (m^2/m^2) =1,36*Lm/W	s	=	s	R	=	Ny	K	=	=	I	k	I
paliszád par sejtek felszíne Sm (m^2/m^2)=1,36*Lm(p)/W	=	=	=	R	=	=	K	=	I	I	=	=
szivacsos par sejtek felszíne Sm (m^2/m^2)1,36*Lm(sz)/W	s	=	s	R	=	Ny	=	=	=	=	k	I
mezofillumsejtek térfogata Vm (m^3/m^2)= Am/W	=	=	=	R	=	Ny	K	K	=	I	k	I
átlagos paliszád par. Sejtméret μm^2 (ter.)	R	=	R	R	t	=	K	K	I	I	=	=
átlagos szivacsos par. Sejtméret μm^2 (ter)	=	=	R	=	=	=	K	K	I	I	=	=
átlagos paliszád sejt térfogat m^3/m^2	s	=	=	R	t	Ny	=	=	=	=	=	=
átlagos szivacsos sejt térfogat m^3/m^2	=	=	=	R	=	Ny	=	=	=	I	=	I
paliszád parenchima/szivacsos parenchima vastagság	=	=	=	=	t	t	A	=	I	=	=	=
paliszád/szivacsos terület	=	R	=	=	t	=	=	=	=	=	=	=
gáz konduktancia az intercellulárisban (gias)(fias1,55/lk)	=	R	=	s	t	t	A	=	I	=	=	k
sztómaszám/mm2 alul	R	=	R	R	Ny	=	f	K	=	=	I	=
epidermiszsejt/mm2 alul	R	R	R	R	t	t	=	K	f	f	=	k
SI% alul	R	=	=	=	Ny	Ny	=	K	I	I	I	I
sztóma méret alul	R	=	s	s	Ny	t	K	=	=	=	I	=
pórus méret alul	=	R	=	s	t	t	K	K	I	=	=	k
zárósejt mérete alul	R	s	s	s	Ny	=	f	=	I	=	I	I
pórus hossz alul	R	=	s	s	Ny	=	=	=	I	=	I	=
pórus szél/hossz alul	=	R	R	=	t	=	K	K	=	=	k	k
epidermiszsejt területe alul	s	=	s	s	Ny	t	K	=	I	=	=	=
sztómaszám/mm2 felül	R	R	R	R	=	t	=	f	=	f	I	=
epidermiszsejt/mm2 felül	R	R	R	=	t	t	f	f	f	f	=	=
SI% felül	=	=	=	s	Ny	=	=	=	I	I	I	=
sztóma méret felül	=	s	s	s	Ny	Ny	=	=	=	I	=	I
pórus méret felül	=	R	=	=	t	t	K	K	I	I	k	=
zárósejt mérete felül	=	s	s	s	Ny	Ny	=	=	=	I	=	I
pórus hossz felül	s	R	R	R	t	=	=	K	=	I	I	=
pórus szél/hossz felül	R	=	s	=	Ny	t	=	=	=	=	=	=
epidermiszsejt területe felül	s	s	s	s	=	Ny	=	=	=	I	=	I

13. táblázat: *P. vulgaris* keresztmetszeti felvételein mért paraméterek főkomponens-analízise.
 Jelzések: L_v: levélvastagság, M_v: mezofillumvastagság, Pm_v: paliszád mezofillum vastagsága, Sm_v_ szivacsos mezofillum vastagsága, Pm_ter%: a paliszád mezofillum aránya az egész keresztmetszet területén, Sm_ter%: a szivacsos mezofillum területének keresztmetszet területén belüli aránya, inter_ter: az intercellulárisok területe; Fias: az intercellulárisok levélen belüli aránya; MSm: mezofillum sejtméret; SSm: szivacsos sejtméret; PSm: paliszád sejtméret; MVm: mezofillumsejt térfogata; P_xter: paliszád mezofillumsejt átlagos területe; S_xter: szivacsos mezofillumsejt átlagos területe; P_xvol: paliszádmezofillum térfogata; S_xvol: szivacsos mezofillum térfogata; Pv/Sv a paliszád és szivacsos mezofillum vastagságának aránya; Pt/St: a paliszád és szivacsos mezofillum területének aránya; Gias: intercelluláris tér gázkonduktanciája; Pm%: a paliszád parenchima/összparenchima

Total Variance Explained

Component	Initial Eigenvalues			Extraction Sums of Squared Loadings			Rotation Sums of Squared Loadings		
	Total	% of Variance	Cumulative %	Total	% of Variance	Cumulative %	Total	% of Variance	Cumulative %
1	6,994	34,969	34,969	6,994	34,969	34,969	4,625	23,124	23,124
2	5,064	25,318	60,287	5,064	25,318	60,287	4,371	21,856	44,980
3	3,383	16,914	77,201	3,383	16,914	77,201	4,165	20,824	65,804
4	1,456	7,279	84,480	1,456	7,279	84,480	3,735	18,676	84,480

Rotated Component Matrix^a

		Component									
		1			2			3			4
1	MSm	,909	15	Pt/St	,940	13	S_xter	,886	10	Fias	,909
5	SSm	,778	16	Pm_%	,933	14	S_xvol	,782	9	inter_ter	,871
4	Sm_v	,754	18	Pv/Sv	,801	11	P_xter	,711	19	Gias	,820
2	M_v	,752	20	Pm_ter%	,666	12	P_xvol	,676	6	PSm	,324
3	L_v	,726	8	Pm_v	,535	7	Vm	,618	1	MSm	,231
6	PSm	,623	6	PSm	,425	3	L_v	,618	2	M_v	,162
8	Pm_v	,580	11	P_xter	,387	2	M_v	,584	3	L_v	,130
7	Vm	,538	12	P_xvol	,252	8	Pm_v	,499	4	Sm_v	,098
9	inter_ter	,430	7	Vm	,178	4	Sm_v	,461	8	Pm_v	,096
10	Fias	,351	2	M_v	,136	6	PSm	,226	13	S_xter	,058
11	P_xter	,165	3	L_v	,103	16	Pm_%	,052	5	SSm	,050
13	S_xter	,163	9	inter_ter	,000	10	Fias	,035	14	S_xvol	-,015
12	P_xvol	,079	1	MSm	-,014	15	Pt/St	,019	18	Pv/Sv	-,018
15	Pt/St	,012	10	Fias	-,072	18	Pv/Sv	,016	15	Pt/St	-,111
16	Pm_%	,011	13	S_xter	-,079	1	MSm	,012	16	Pm_%	-,148
14	S_xvol	-,030	19	Gias	-,211	20	Pm_ter%	,008	11	P_xter	-,167
20	Pm_ter%	-,153	14	S_xvol	-,261	17	Sm_ter%	-,021	12	P_xvol	-,248
18	Pv/Sv	-,157	4	Sm_v	-,280	9	inter_ter	-,025	7	Vm	-,491
17	Sm_ter%	-,215	5	SSm	-,398	5	SSm	-,183	17	Sm_ter%	-,646
19	Gias	-,235	17	Sm_ter%	-,656	19	Gias	-,387	20	Pm_ter%	-,685

Extraction Method: Principal Component Analysis.

Rotation Method: Varimax with Kaiser Normalization.

a. Rotation converged in 6 iterations.

14. táblázat: *T. repens* keresztmetszeti felvételein mért paraméterek főkomponens-analízise.

Jelzések: L_v: levélvastagság, M_v: mezofillumvastagság, Pm_v: paliszádmezofillum vastagsága, Sm_v_ szivacsos mezofillum vastagsága, Pm_ter%: a paliszádmezofillum aránya az egész keresztmetszet területén, Sm_ter%: a szivacsos mezofillum területének keresztmetszet területén belüli aránya, inter_ter: az intercellulárisok területe; Fias: az intercellulárisok levélen belüli aránya; MSm: mezofillum sejtméret; SSm: szivacsos sejtméret; PSm: paliszád sejtméret; MVm: mezofillumsejt térfogata; P_xter: paliszádmezofillum területe; S_xter: szivacsos mezofillum területe; P_xvol: paliszádmezofillum térfogata; S_xvol: szivacsos mezofillum térfogata; Pv/Sv a paliszád és szivacsos mezofillum térfogatának aránya; Pt/St: a paliszád és szivacsos mezofillum területének aránya; Gias: intercelluláris tér gázkonduktanciája; Pm%: a paliszád parenchima levélen belüli aránya

Component	Total Variance Explained								
	Initial Eigenvalues			Extraction Sums of Squared Loadings			Rotation Sums of Squared Loadings		
	Total	% of Variance	Cumulative %	Total	% of Variance	Cumulative %	Total	% of Variance	Cumulative %
1	6,901	34,504	34,504	6,901	34,504	34,504	5,009	25,047	25,047
2	4,472	22,360	56,864	4,472	22,360	56,864	4,337	21,686	46,733
3	4,049	20,247	77,111	4,049	20,247	77,111	4,307	21,534	68,267
4	1,528	7,642	84,753	1,528	7,642	84,753	2,562	12,809	81,077
5	1,028	5,138	89,891	1,028	5,138	89,891	1,763	8,815	89,891

Rotated Component Matrix^a

	Component	Component																			
		1	2	3	4	5															
1	L_v	,869	,953	,953	,932	,871															
3	S_xter	,856	,949	,933	,900	,768															
2	M_v	,846	,780	,921	,479	,451															
4	MVm	,787	,682	,291	,362	,209															
6	Sm_v	,786	,666	,288	,294	,202															
5	Pm_v	,749	,514	,167	,274	,142															
7	P_xter	,577	,506	,162	,221	,134															
9	S_xvol	,402	,351	,090	,199	,131															
8	PSm	,372	,115	,084	,159	,112															
13	MSm	,271	,096	,083	,127	,109															
10	inter_t er	,244	,070	,067	,122	,091															
11	Fias	,231	,030	,062	,046	,087															
12	Pv/Sv	,171	,028	,058	-,018	,065															
14	P_xvol	,159	,009	,027	-,033	,038															
15	SSm	,124	-,003	,000	-,091	,030															
16	Pt/St	-,032	-,017	-,078	-,102	-,008															
17	Pm_%	-,038	-,136	-,189	-,117	-,015															
18	Pm_te r%	-,169	-,162	-,469	-,123	-,050															
19	Sm_te r%	-,177	-,302	-,660	-,272	-,056															
20	Gias	-,241	-,449	-,852	-,301	-,135															

Extraction Method: Principal Component Analysis.

Rotation Method: Varimax with Kaiser Normalization.

a. Rotation converged in 6 iterations.

15. táblázat: A kezelés a varianciaanalízis eredménye alapján az NC-S genotípus sztómakonduktanciáját $p < 0,05$ szignifikancia szinten meghatározza.

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: gs

genotype	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
NC- Corrected Model	267932.627 ^a	2	133966.313	1.382	.259
Intercept	9074844.331	1	9074844.331	93.598	.000
treatment	267932.627	2	133966.313	1.382	.259
Error	6108173.623	63	96955.137		
Total	15361116.102	66			
Corrected Total	6376106.249	65			
NC- Corrected Model	482586.917 ^b	2	241293.458	3.600	.033
Intercept	7492675.840	1	7492675.840	111.787	.000
treatment	482586.917	2	241293.458	3.600	.033
Error	4088618.809	61	67026.538		
Total	12251101.570	64			
Corrected Total	4571205.726	63			

a. R Squared = .042 (Adjusted R Squared = .012)

b. R Squared = .106 (Adjusted R Squared = .076)

16. táblázat: A *P. vulgaris* két genotípusán mért paraméterek kezelésenkénti eltérései a különböző mérési időpontokban. CO₂= emelt szén-dioxid, K= szabadföld; OTC= kontroll OTC. A különböző betűk egy soron belül szignifikáns eltérést jelölnek.

genotípus	időpont	tünet (%)			levélszám (db)			termésszám (db)			termékek száraztömege (g)			sztómakonduktancia (mmol m ⁻² s ⁻¹)			Fv/Fm			RFd			
		CO ₂	K	OTC	CO ₂	K	OTC	CO ₂	K	OTC	CO ₂	K	OTC	CO ₂	K	OTC	CO ₂	K	OTC	CO ₂	K	OTC	
R	2008.06.12	0,000a	0,000a	0,000a				1,000a	0,000a	1,000a				173,67a	145,33a	177,33a	0,780a	0,675a	0,790a	2,917a	2,662a	2,890a	
	2008.06.30	0,000a	0,000a	0,000a	30,400a	25,833a	24,667a	41,000a	38,500a	45,833a				641,33a	876,67a	221,00a	0,835a	0,760a	0,814a	2,609a	2,790a	2,673a	
	2008.07.25	0,000a	0,762a	0,000a	19,600a	25,500a	16,500a	39,800a	36,833a	29,333a	30,983a	27,747a	25,305a										
	2008.09.26	0,000a	0,000a	0,000a	13,667a	11,000a	15,333a																
	2008.10.08	0,110a	0,000a	0,000a	17,000a	13,333a	16,000a	11,667ab	0,000a	15,667b				256,80a	291,50a	204,50a	0,798b	0,660a	0,792b	3,021b	1,268a	3,164b	
	2008.11.07	0,000a	0,000a	0,000a	18,000a	12,333a	18,333a	11,333b	0,000a	13,500b	2,857b	0,000a	3,343b	68,83a	24,03a	46,50a	0,610a	0,641a	0,696a	3,084a	1,810a	2,483a	
	2009.06.12													266,40b	378,44c	163,32a	0,722a	0,650a	0,640a	3,247a	2,540a	2,033a	
	2009.07.01	0,000a	0,000a	0,000a	11,500a	12,600a	16,000a	13,750a	9,600a	22,250a				354,00b	22,80a	42,40a	0,831a	0,748a	0,832a	2,839a	2,161a	2,651a	
	2009.07.13	1,993b	0,336a	0,000a	30,000ab	13,200a	37,250b	27,500a	19,400a	37,250a													
	2009.07.30				6,750a	6,750a	7,000a	21,500a	14,750a	18,250a	25,688a	15,776a	27,055a										
S	2008.06.12	0,000a	0,000a	3,200b				2,833a	0,000a	0,000a				441,67a	252,00a	208,67a	0,785a	0,770a	0,804a	2,710a	2,828a	3,111a	
	2008.06.30	0,138a	1,982a	1,457a	27,667a	25,667a	29,167a	65,000a	40,833a	55,333a				860,00a	1113,33a	442,00a	0,821a	0,774a	0,780a	2,507a	2,613a	2,515a	
	2008.07.25	0,097a	30,837b	7,585a	19,500a	20,000a	16,833a	42,500a	41,167a	36,667a	26,098a	26,216a	26,298a										
	2008.09.26	2,347b	0,420a	0,653a	16,750a	14,333a	20,333a																
	2008.10.08	0,000a	0,530b	0,080ab	18,667a	17,667a	25,333a	16,333b	0,000a	12,333b				176,00ab	351,00b	112,22a	0,816b	0,753a	0,834b	3,091b	1,924a	2,760b	
	2008.11.07	6,443a	2,053a	1,383a	21,000ab	16,000a	27,330b	23,333b	3,500a	20,000b	3,173ab	0,047a	3,790b	33,13a	21,17a	29,73a	0,768a	0,574a	0,692a	1,941a	1,978a	1,597a	
	2009.06.12													460,03a	542,44a	497,62a	0,574a	0,680a	0,666a	2,173a	1,876a	2,837a	
	2009.07.01	0,000a	0,220b	0,000a	13,500a	11,000a	17,000a	18,750a	8,250a	26,750a				440,80a	474,14a	488,78a	0,776b	0,697a	0,805b	2,544a	2,050a	2,271a	
	2009.07.13	9,265a	5,296a	12,175a	14,750a	13,400a	16,750a	24,750a	20,600a	27,250a													
	2009.07.30				1,250a	2,400a	0,000a	18,000a	16,200a	21,000a	13,733a	13,024a	18,290a										

17. táblázat: A *T. repens* két genotípusán mért paraméterek kezeléenkénti eltérései a különböző mérési időpontokban. CO₂= emelt szén-dioxid, K= szabadföld; OTC= kontroll OTC. A különböző betűk egy soron belül szignifikáns eltérést jelölnek.

genotípus	időpont	tünet (%)			virág (db)			szárzöttség (g)			sztómakonduktancia (mmol m ⁻² s ⁻¹)			Fv/Fm			RFd		
		CO ₂	K	OTC	CO ₂	K	OTC	CO ₂	K	OTC	CO ₂	K	OTC	CO ₂	K	OTC	CO ₂	K	OTC
R	2008.06.06	0,00a	0,00a	0,00a	10,00a	12,00a	6,17a												
	2008.06.09	0,00a	0,00a	0,00a	28,00a	18,00a	15,67a				661,67a	295,33a	161,67a	0,768a	0,740a	0,807a	2,450a	2,482a	2,851a
	2008.06.18	0,00a	0,00a	0,00a	48,00a	41,67a	28,00a	36,24a	30,05a	18,47a									
	2008.06.23										1095,00a	769,33a	651,67a	0,658a	0,728a	0,741a	2,305a	3,137a	2,559a
	2008.07.09	0,00a	0,00a	0,00a	72,33a	78,67a	74,00a												
	2008.08.03	0,00a	0,00a	0,00a	109,67a	160,67a	116,00a	63,26a	60,34a	56,60a									
	2008.08.11				12,33a	9,67a	17,00a												
	2008.08.18	0,00a	0,00a	0,00a	33,33a	40,33a	39,33a												
	2008.08.24	0,00a	0,00a	0,00a	47,67a	43,67a	56,33a	20,34a	20,27a	23,46a									
	2008.09.26	0,00a	0,00a	0,00a	12,33ab	1,00a	21,33b												
	2008.10.08	0,00a	0,00a	0,00a	12,00ab	0,67a	23,33b				239a	479a	173,14a	0,831a	0,799a	0,764a	3,211a	2,588a	2,903a
	2008.11.07	0,00a	0,00a	0,00a	9,67a	0,67a	17,67a	30,07ab	12,21a	41,33b	108a	169,67a	121a	0,837a	0,836a	0,803a	2,137a	2,493a	2,520a
	2009.06.12	0,00a	0,00a	0,00a	0,67a	3,33a	0,00a				242,7a	503,58b	293,18ab	0,800a	0,809a	0,801a	2,685a	3,324a	3,061a
	2009.06.29	0,00a	0,00a	0,00a	33,75a	39,75a	28,00a												
	2009.07.06	0,00a	0,00a	0,00a	80,25a	90,00a	66,5a	38,56a	46,98a	37,54a	398,7b	117,75a	502,6c	0,785a	0,732a	0,777a	2,872a	2,039a	2,580a
2009.07.30	0,00a	0,00a	0,00a	36,25a	51,25a	35,00a													
S	2008.06.06	3,33a	0,50a	1,33a	8,83a	6,17a	0,67a												
	2008.06.09	7,00a	5,00a	8,5a	17,67a	14,00a	10,00a				590,00b	126,00a	209,67ab	0,835a	0,827a	0,859a	2,827a	3,351a	3,524a
	2008.06.18	7,67a	11,67a	21,67a	43,00a	31,67a	22,00a	37,17a	30,42a	22,88a									
	2008.06.23										833,33ab	1060,00b	405,33a	0,779a	0,778a	0,745a	2,542a	2,714a	2,434a
	2008.07.09	3,67a	5,83a	18,67a	64,67a	51,67a	61,33a												
	2008.08.03	2,00a	7,00a	7,67a	96,33a	124,67a	90,33a	60,03a	59,76a	61,92a									
	2008.08.11				10,33a	10,00a	10,00a												
	2008.08.18	1,67a	23,33b	0,00a	20,33a	18,67a	22,67a	24,38a	16,58a	19,43a									
	2008.08.24	0,00a	0,00a	0,00a	24,00a	21,33a	20,33a												
	2008.09.26	0,00a	0,00a	0,00a	7,33ab	0,33a	13,00b												
	2008.10.08	0,00a	0,00a	0,00a	6,00ab	1,33a	13,33b				212,33ab	278,00b	121,90a	0,845a	0,821a	0,845a	3,438a	2,862a	3,355a
	2008.11.07	0,00a	0,00a	0,00a	2,67a	0,00a	10,67b	32,68a	23,00a	42,50a	141,33a	139,00a	115,33a	0,853a	0,840a	0,840a	2,700a	2,497a	2,700a
	2009.06.12	0,00a	0,00a	0,00a	0,33a	1,67a	1,33a				461,68b	568,52b	135,00a	0,792a	0,808a	0,821a	2,472a	2,633a	2,740a
	2009.06.29	0,00a	0,00a	0,00a	18,75a	19,75a	18,00a												
	2009.07.06	0,50a	5,75a	0,00a	59,5a	58,5a	46,75a	41,31a	40,84a	30,09a	464,3b	213,65a	512,4b	0,828a	0,741a	0,801a	2,944a	2,560a	2,406a
2009.07.30	0,25a	1,75a	2,75a	19,00a	32,75b	16,75a													

18. táblázat: A *P. vulgaris* és *T. repens* egyes genotípusainak egyes kezeléseken fejlődött egyedein mért paraméterek korrelációi. *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$.

man's rho		<i>P. vulgaris</i>				<i>T. repens</i>			
		kumO ZONE	kumA OT40	DAS	gs	KumO ZONE	KumA OT40	DAH	gs
R	CO2 levél-virág	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
		ns	ns	ns	-	ns	ns	ns	-
		ns	ns	ns	-	ns	ns	ns	-
		ns	ns	ns	,829*	ns	ns	ns	-
		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	K levél-virág	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
		ns	ns	ns	-	ns	ns	ns	-
		ns	ns	ns	-	ns	ns	ns	-
		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	,886*
	OTC levél-virág	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
		-	ns	-	-	ns	ns	ns	-
		ns	ns	ns	-	ns	ns	ns	-
		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
S	CO2 tünet	,783*	,950**	ns	ns	ns	ns	ns	,894*
		-,762*	-,810*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
		ns	ns	ns	-	ns	ns	ns	-
		ns	ns	ns	-	ns	ns	ns	-
		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	K tünet	,667*	ns	,787*	ns	ns	ns	ns	ns
		-,762*	-,905**	ns	ns	ns	ns	ns	ns
		ns	ns	ns	-	ns	ns	ns	-
		ns	ns	ns	-	ns	ns	ns	-
		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	OTC tünet	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
		-,881**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
		ns	ns	ns	-	ns	ns	ns	-
		ns	ns	ns	-	ns	ns	ns	-
		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
		ns	-,899*	ns	ns	ns	-,886*	ns	

9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom konzulensemnek, Dr. Csintalan Zsoltnak az adatok feldolgozásában és az eredmények értékelésében nyújtott felbecsülhetetlen segítségéért, a közös munka során átadott rengeteg értékes ismeretért, továbbá irántam tanúsított türelméért, szakmai és emberi támogatásáért.

Köszönöm Prof. Dr. Nagy Zoltánnak, hogy még az olykor megvalósíthatatlannak tűnő terveim megvalósításában is rengeteget segített, de szükség esetén a kellő tisztánlátással ésszerűségeire intett, hasznos tanácsaival és példájával is hozzájárulva kutatói látásmódom kialakításához.

Hálával tartozom a SZIE Növényteni és Ökofiziológiai Intézet néhai intézetvezetőjének, Prof. Dr. Tuba Zoltánnak, amiért ennek a kutatásnak a megvalósításához szükséges szakmai és anyagi háttérrel biztosította számomra.

Köszönetet mondok Dr. Déri Helgának a szövettani mérések megtervezésében, irányításában és kivitelezésében nyújtott segítségéért, amely nélkül az itt bemutatott tanulmány legnagyobb részét képező szövettani kísérletsorozat nem jöhetett volna létre. Köszönöm Dr. Péli Evelin Ramónának, Dr. Pintér Krisztinának, Jócsák Ildikónak, Dr. Balogh Jánosnak és Ürmös Zsoltnak azt a rengeteg szakmai és gyakorlati segítséget, biztatást és támogatást, amivel munkám előmenetelét megalapozták.

Köszönetet mondok Prof. Dr. Frank Batičnak, Prof. Dr. Dominik Vodniknak és Dr. Boris Turknek, amiért a szlovéniai fluoreszcencia-indukció és gázcseremérés-sorozatot lehetővé tették, valamint ottani munkám során befogadtak és mindenben támogattak. Köszönöm a hozzájárulást Dr. Horváth Lászlónak, aki a kísérletekhez szükséges meteorológiai adatokat bocsátott rendelkezésemre; Dr. Mészáros Róbertnek, aki a kísérletsorozat tervezésekor és az első eredmények értékelésekor nyújtott szakmai segítséget; Dr. Felicity Hayesnek, aki kapcsolattartóm volt az ICP-Vegetation Programmal, és a kísérleti növényanyagot valamint a szükséges protokollokat tette számomra hozzáférhetővé, és Balogh Barnabásnak, aki az OTC kísérletek során nyújtott technikai segítséget. Köszönöm a segítséget Molnár Anikónak, Török Tibornének, Horváth Mihálynének valamint a SZIE Növényteni és Ökofiziológiai Intézet dolgozóinak és PhD hallgatóinak, akik bármiben segítségemre voltak.

Külön köszönet illeti Dr. Erdős Zoltánt, a Nemzeti Agrárkutatói és Innovációs Központ Gyümölcsstermesztési Kutatóintézetének Igazgatóját, aki a dolgozat és a publikációk írása, valamint a doktori szigorlatra való felkészülés ideje alatt minden lehetséges eszközzel maximális mértékben segítségemre volt. Köszönet Dr. Kerek Mária Magdolnának, Dr. Surányi Dezső professzornak és a Gyümölcskutató Intézet munkatársainak biztatásukért és tanácsaikért.