

WPŁYW OŁOWIU NA FOTOSYNTEZĘ

The effect of lead on photosynthesis

Daria SŁOWIK

Summary: The current knowledge on the effect of lead on photosynthesis is reviewed. Lead decreases the rate of photosynthesis. It is taken up mainly by roots of plants. Leaves accumulate only a little part of this toxicant. Lead impedes a synthesis of photosynthetic pigments. This may be a reason of decrease of photosynthesis, but there are other reasons of decrease of photosynthesis since some researches have found that lead doesn't inhibit a synthesis of photosynthetic pigments. In light reactions lead restricts photosynthetic electrons transport, especially in PS II. Lead decreases the amount of LHC II proteins. The most sensitive is D₁ protein of PS II. In dark reactions lead diminishes activity or synthesis of enzymes involved in this phase (RuBPC, E. C.4.1.1.39 and PEPC, E. C.4.1.1.31). It seems that primary target of lead on photosynthesis are dark reactions.

Key words: photosynthesis, lead, light reactions of photosynthesis, dark reactions of photosynthesis, primary target of lead working.

Mgr Daria Słowik, Zakład Fizjologii Roślin, Instytut Botaniki, Uniwersytet Warszawski, ul. Krakowskie Przedmieście 26/28, 00-927 Warszawa

WSTĘP

Pomimo prowadzonych od kilku dziesięcioleci intensywnych badań, mechanizm działania jonów ołowiu na proces fotosyntezy nie został całkowicie wyjaśniony. Poznano potencjalne możliwości ich oddziaływania na wiele etapów fotosyntezy, ale nadal nie określono do końca pierwotnych reakcji oddziaływania ołowiu na omawiany proces. Dotychczasowe badania na poziomie molekularnym dotyczące tego proble-

mu są nieliczne, ponadto różni badacze otrzymali niejednokrotnie sprzeczne wyniki.

Niniejszy artykuł ma na celu podsumowanie dotychczasowych rezultatów badań nad działaniem jonów ołowiu na fotosyntezę.

POBIERANIE OŁOWIU I JEGO ROZMIESZCZENIE W ROŚLINIE

Ołów jest pobierany głównie przez korzenie [95], zwłaszcza w obrębie strefy włośnikowej

Skróty: ALAD (E. C.4.2.1.24) – dehydrataza kwasu delta-aminolewulinowego; D₁ – białko, centrum reakcji PSII; F₀ – niezmienna minimalna fluorescencja, charakteryzująca otwarte centra reakcji; F_m – maksymalna fluorescencja, charakteryzująca zamknięte centra reakcji; F_v – zmienna fluorescencja, wyrażona jako różnica F_m i F₀; F_v/F_m – wskaźnik fotochemicznej wydajności fotosystemu II (PSII); LHCII – zbierający światło kompleks chlorofil a/b – białko; PEPC (E. C.4.1.1.31) – karboksylaza fosfoenolopirogronianowa; PSI(II) – I(II) fotosystem; RuBPC (E. C.4.1.1.39) – karboksylaza/oksygenaza rybulozoz-1,5-bisfosforanowa; t_{1/2} – połowkowy czas przejścia od F₀ do F_m; PQ – plastochinon; Q_A – chinon A; Q_B – chinon B; OEC – kompleks białkowy uczestniczący w wydzielaniu tlenu; Phe – feofityna; ATP – adenozyntrojfosforan; NADH – dinukleotyd nikotynoadeninowy, forma zredukowana; NADPH – fosforan dinukleotydu nikotynoadeninowego, forma zredukowana.

i merystematycznej (protoderma i czapeczka) [28, 34], a następnie jest on przemieszczany drogą apoplastyczną w kierunku organów nadziemnych [17, 18, 19, 20, 84, 102, 103]. Znacznie większa część pobranego przez roślinę ołowiu (93–96%) zatrzymywana jest w obrębie korzenia [17]. Uważa się, że korzenie gromadzi od 3 do 50 razy więcej ołowiu niż liście [37, 56].

Część ołowiu, która dotrze do liści, transportowana jest w ich obrębie przede wszystkim wiązkami przewodzącymi, gdzie jest on akumulowany [6, 48]. Najwięcej złogów ołowiu znajduje się w komórkach budujących wiązkę liścia oraz w przestworach międzykomórkowych [99]. W obrębie komórki ołów występuje najczęściej w pierwotnej ścianie komórkowej, wakuolach, retikulum endoplazmatycznym, aparacie Golgiego, otoczce jądrowej, plazmodesmach, rzadziej natomiast w chloroplastach, mitochondriach, jądrze komórkowym oraz jąderku. Nie stwierdzono złogów ołowiu w peroksysomach i wtórnej ścianie komórkowej [35, 48, 65, 66, 93, 94, 98, 101]. Takie rozmieszczenie ołowiu w komórce może być związane z mechanizmem odporności roślin na ten metal. Zdeponowanie jonów ołowiu w wakuoli czy ścianie komórkowej uniemożliwia ich bezpośredni wpływ na przebieg podstawowych procesów metabolicznych komórki [97]. Dużą rolę w transporcie jonów metali ciężkich do wakuoli odgrywają fitochelatyny [90], syntetyzowane w roślinie w odpowiedzi na zwiększoną ilość pobranych jonów tych metali [87, 88]. Peptydy te zbudowane są z trzech rodzajów aminokwasów: kwasu glutaminowego, cysteiny i glicyny, a do ich syntezy niezbędny jest konstrytuwny enzym, syntetaza fitochelatynowa, aktywowany przez wolne jony Pb^{+2} [88].

Ze względu na to, że tylko bardzo niewielka część pobranego przez roślinę ołowiu przedostaje się do liści, a jeszcze mniejsza do chloroplastów, w badaniach nad wpływem tego metalu na poszczególne procesy i reakcje składowe fotosyntezy ważne jest przyjęcie odpowiedniej metody. Ołów można wprowadzać bezpośrednio do liści wraz z prądem transpiracyjnym, poprzez umieszczenie odciętego końca liścia w wodnym roztworze soli tego metalu. Wpływ ołowiu na

fotosyntezę jest w takim przypadku bezpośredni a nie pośredni, co może mieć miejsce przy ograniczonym transporcie wody w obrębie korzeni, a tym samym zmniejszonym jej dostępie do liści.

OBJAWY TOKSYCZNEGO DZIAŁANIA OŁOWIU NA ROŚLINY

Zmiany, jakie wywołuje ołów w liściach są drastyczne, chociaż dociera do nich tylko znikoma część tego metalu. Głównym objawem toksycznego działania ołowiu jest ograniczenie wzrostu i chloroza [26]. Liście roślin poddanych działaniu ołowiu charakteryzują się mniejszą powierzchnią blaszki, wolniejszym wzrostem, obniżeniem turgoru oraz mniejszą rozwartością szparek; często też na skutek obniżonej zawartości chlorofilu zmieniają barwę na czerwoną [48, 58, 97]. Etiolowane liście potraktowane ołowiem, a następnie wystawione na światło, zazielniają się znacznie słabiej w porównaniu z liśćmi nie traktowanymi tym metalem [97]. Zmiany te, szczególnie dotyczące liści młodych, świadczą o występowaniu zaburzeń w procesie syntezy chlorofilu, wywołanych obecnością ołowiu. W liściach dojrzałych takie zmiany świadczyć mogą o nasileniu degradacji chlorofilu [2].

SYNTEZA BARWNIKÓW FOTOSYNTETYCZNYCH

Ołów hamuje syntezę barwników fotosyntetycznych [17, 32, 60, 68, 78]. U sinicy *Nostoc muscorum* odbywa się to w następującej kolejności: chlorofil *b* – chlorofil *a* – karotenoidy [68]. Mechanizm toksycznego działania ołowiu na proces syntezy barwników fotosyntetycznych nie jest w pełni wyjaśniony. Wiadomo, że wrażliwym etapem w sekwencji reakcji syntezy chlorofilu jest konwersja dwóch cząsteczek kwasu delta-aminolewulinowego w jedną cząsteczkę porfobilinogenu. Reakcję tę katalizuje dehydrataza kwasu delta-aminolewulinowego (ALAD, E. C. 4. 2. 1. 24) – enzym, który w centrum aktywnym zawiera dwie reszty cysteiny. Enzymy o takiej budowie centrum aktywnego są niezmiernie wrażliwe na działanie jonów metali ciężkich. Ponadto, ALAD jest metaloenzymerem

zawierającym luźno związany cynk, co zwiększa jeszcze bardziej jego wrażliwość na jony metali ciężkich. Aktywność enzymu uwarunkowana jest obecnością zredukowanych form grup siarczkowych cysteiny. Utlenienie tych grup, bądź połączenie ich z jonami ołowiu, prowadzi do utraty aktywności enzymu [17, 97]. Jednocześnie pod wpływem ołowiu następuje zahamowanie zdolności do syntezy kwasu delta-aminolewulinowego [17], co dodatkowo wpływa na wrażliwość omawianej reakcji na ten metal. Ponieważ u ludzi i zwierząt ALAD jest enzymem uczestniczącym w biosyntezie hemu, większość badań nad tym enzymem przeprowadzono na materiale zwierzęcym. Nie wszystkie wyniki dotyczące wpływu ołowiu na aktywność ALAD u zwierząt są zgodne z wynikami badań przeprowadzonymi na roślinach. Haeger-Aronsen i in. [31], prowadzący badania nad biosyntezą hemu stwierdzili, że cynk podany *in vivo* znosi spowodowane ołowiem obniżenie aktywności ALAD. Z kolei Scarponi i Perucci [72] wykazali, że ołów *in vivo* hamował aktywność ALAD, a *in vitro*, w przeciwieństwie do cynku, nie wpływał na aktywność tego enzymu u kukurydzy. Według tych badaczy ołów w roślinach hamuje syntezę ALAD, a nie reakcję katalizowaną przez ten enzym. Wynika stąd, że zależnie od sposobu podawania ołowiu do tkanek można uzyskać całkowicie odmienne wyniki. ALAD nie jest zapewne jedynym enzymem wrażliwym na działanie jonów ołowiu w szlaku syntezy chlorofilu [97]. Silniejsze hamowanie przez ołów syntezy chlorofilu *b* niż syntezy chlorofilu *a* [78] świadczy o wrażliwości na ten metal również innych enzymów w szlaku syntezy porfiry. Zależność ta nie dotyczy jednak wszystkich gatunków roślin. Badania nad lucerną i koniczyną wykazały, że ołów w podobnym stopniu obniża w tych roślinach zawartość obydwu rodzajów barwników chlorofilowych [14]. Niektórzy autorzy uzasadniali zmniejszenie ilości chlorofilu pod wpływem ołowiu efektem wzmożonej aktywności chlorofilazy w roślinach traktowanych tym metalem [2].

Wielu badaczy wiąże hamowanie fotosyntezy z zaburzeniami w syntezie chlorofilu lub obniżeniem ich zawartości pod wpływem ołowiu

[2, 17, 32, 60, 77, 78]. Autorzy ci stwierdzili znacznie mniejszą akumulację chlorofilu *a* i *b* w roślinach traktowanych tym metalem, co może być przyczyną ograniczenia zarówno syntezy białek, w tym LHCII, jak i stabilizacji błon tylakoidowych [5, 15, 52], a w końcowym efekcie fotosyntezy. Wyniki badań przeprowadzonych na grochu i kukurydzy nie potwierdzają tej hipotezy [70, 75]. Brak zmian w zawartości chlorofilu *a* i *b* może świadczyć o zahamowaniu aktywności zarówno enzymów zaangażowanych w syntezę chlorofilu, jak i ich degradację. Inaktywacja nie jest więc w tym przypadku wysoce specyficzna. Prawdopodobnie odbywa się na zasadzie utleniania grup –SH tych enzymów.

W lucernie i koniczynie ołów obniżał zawartość karotenoidów w podobny sposób jak chlorofilu [14]. U sinicy *Nostoc muscorum* zawartość karotenoidów była obniżana w mniejszym stopniu niż zawartość chlorofilu [68], natomiast u kukurydzy i grochu zawartość karotenoidów, podobnie jak i chlorofilu, nie uległa zmianie [70, 75]. Wyniki tych prac mogą świadczyć o możliwości hamowania przez jony ołowiu zarówno syntezy jak i rozkładu karotenoidów, co może odbywać się na podobnej zasadzie jak w przypadku chlorofilu, poprzez zahamowanie aktywności enzymów zaangażowanych zarówno w ich syntezę, jak i degradację (utlenienie grup –SH tych enzymów).

Obniżenie zawartości barwników chloroplastowych przez ołów może powodować strukturalne i funkcjonalne zaburzenia aparatu fotosyntetycznego. Wielu autorów zwracało uwagę na konieczność występowania barwników fotosyntetycznych dla syntezy bądź stabilizacji kompleksów LHCII [4, 15, 23, 25, 50, 52, 53, 83, 85]. Z obniżeniem ilości barwników fotosyntetycznych można wiązać rozpad kompleksu chlorofilowo-białkowego LHCII. Rebecchini i Hanzely [69] podają, że pod wpływem ołowiu obserwowano nieprawidłowości w wykształcaniu gran, związane z zaburzeniem wbudowywania specyficznych polipeptydów (np. LHCII) do błon chloroplastu. Przyczyną mogła być degradacja LHCII w wyniku zmniejszenia zawartości barwników fotosyntetycznych.

Brak zmian w zawartości barwników foto-

syntetycznych pod wpływem ołowiu, obserwowany przez niektórych autorów prowadzących badania na dojrzałych liściach, przy jednoczesnym obniżeniu natężenia fotosyntezy sugeruje, że obniżenie fotosyntezy pod wpływem tego metalu nie musi być związane z obniżeniem zawartości barwników, zarówno chlorofilu jak i karotenoidów [70, 75].

FAZA JASNA FOTOSYNTETY

Badania wykazały, że metale ciężkie hamują fotosyntetyczny transport elektronów, co w efekcie prowadzi do obniżenia natężenia fotosyntezy [7, 11, 24, 27, 43, 44, 54, 62, 96, 100]. Szczególnie wrażliwy na działanie ołowiu okazał się transport elektronów związany z fotosystemem II (PSII) [14, 54]. Miles i in. [54] nie stwierdzili wpływu ołowiu na fotosystem I (PSI), ale doniesienia innych autorów [96] wskazują, że ołów powodował obniżenie intensywności transportu elektronów także w obrębie tego fotosystemu. Becerril i in. [14] wykazali, że zarówno w badaniach *in vivo* jak i *in vitro*, ołów powodował 30–40% redukcję transportu elektronów w obrębie PSI.

Pomiar parametrów szybkiej indukcji fluorescencji chlorofilu *a* umożliwia prześledzenie prawidłowego przebiegu pierwotnych reakcji fotochemicznych PSII. Dla dobrze funkcjonującego aparatu fotosyntetycznego roślin wartość F_v/F_m (fluorescencja zmienna/fluorescencja maksymalna), charakteryzująca fotochemiczną wydajność PSII, zawiera się w przedziale 0,80 – 0,85 [16]. Obniżenie fotochemicznej wydajności fotoukładu II ma wpływ na natężenie fotosyntezy. Stwierdzono, że pod wpływem jonów ołowiu ulegają obniżeniu również inne parametry fluorescencji chlorofilu *a* (F_v , F_m , F_0 , $t_{1/2}$) [62, 70], co świadczy o istnieniu wielu potencjalnie możliwych miejsc oddziaływania tego metalu na fotosyntetyczny transport elektronów. Zmniejszona redukcja chinonu A (Q_A) [62] pod wpływem jonów ołowiu może świadczyć o występowaniu zaburzeń zarówno funkcji, jak i struktury kompleksu zbierającego energię LHCII, odpowiedzialnego za wcześniejsze (w stosunku do redukcji Q_A) etapy świetlnej fazy fotosynte-

zy. W niektórych publikacjach sugeruje się również zmniejszenie ilości białek kompleksu LHCII pod wpływem ołowiu [74]. Jak wspomniano wcześniej, zarówno dla syntezy jak i stabilizacji LHCII niezbędna jest obecność barwników fotosyntetycznych, a pod wpływem ołowiu ich ilość może znacznie się zmniejszać. W efekcie, degradacja LHCII może być spowodowana zmianą w zawartości barwników. Nie można jednak wykluczyć oddziaływania ołowiu na błony chloroplastowe w sposób bezpośredni, tym bardziej, że nie wszyscy autorzy stwierdzali zmiany w zawartości barwników pod wpływem ołowiu [62, 70, 75]. Sabinis i in. [71] obserwowali gromadzenie się ołowiu na brzegach tylakoidów gran, co sugeruje bezpośrednie oddziaływanie jonów ołowiu na LHCII [97]. Ahmed i Tajmir-Riahi [3] stwierdzili, że ołów *in vitro* może oddziaływać na LHCII poprzez związanie się z białkowymi podjednostkami kompleksu, zmieniając ich strukturę. Oligomeryczna struktura kompleksu LHCII jest niezbędnym warunkiem zapewniającym odpowiednio wysoką wydajność zbierania i przekazywania energii do centrum reakcji PSII [33, 40, 42]. Z utrzymaniem tej struktury jest ściśle skorelowana zawartość kwasu trans- Δ^3 -heksadekenowego w cząsteczce fosfatydyloglicerolu, ważnego składnika błon tylakoidowych [33, 40, 44]. Doniesienia niektórych badaczy [42, 47] wskazywały na obniżenie pod wpływem jonów ołowiu zawartości tego kwasu tłuszczowego. Obniżenie zawartości kwasu trans- Δ^3 -heksadekenowego w cząsteczkach fosfatydyloglicerolu może powodować zmiany strukturalne błon tylakoidów, co z kolei może ograniczać transport elektronów i w konsekwencji obniżać natężenie fotosyntezy.

Wielkość puli akceptora elektronów, plastochinonu (PQ), po redukcyjnej stronie PSII ma zasadniczy wpływ na fotosyntetyczny transport elektronów. W literaturze spotkać można doniesienia o obniżeniu puli PQ pod wpływem ołowiu [62], podobnie jak i pod wpływem innych metali ciężkich [9, 10, 46]. Autorzy sugerowali, że zmniejszenie puli plastochinonu wynika z obniżenia jego syntezy. Znaczna redukcja puli plastochinonu stymuluje akumulację rodników chinonowych, które następnie ulegają autooksyda-

cji w obecności tlenu z wytworzeniem anionu ponadtlenkowego, co indukuje reakcje wtórne, w wyniku których powstają rodniki hydroksylowe [55]. Powoduje to stres oksydacyjny związany z wytworzeniem nadmiernej ilości aktywnych form tlenu, co nie jest specyficznym efektem działania ołowiu [55]. Stres oksydacyjny indukowany ołowiem potwierdziły wyniki badań Przymusińskiego i in. [64], którzy w korzeniach łubinu żółtego obserwowali stymulację syntezy polipeptydu o ciężarze cząsteczkowym 16000. Białko to może być podjednostką dysmutazy nadtlenkowej [63]. Aktywne formy tlenu są prawdopodobnie odpowiedzialne za uszkodzenia białka D₁ w centrum reakcji PSII i w konsekwencji za jego degradację [55]. Według Streb i in. [82] białko D₁ jest najwrażliwszym miejscem w PSII. Degradacja tego białka w warunkach nadmiernego stresu przewyższa jego zdolność do resyntezy i w efekcie obniża się jego zawartość.

Aktywność PSII może być hamowana pod wpływem ołowiu również po jego utleniającej (donorowej) stronie [54]. Uszkodzenie kompleksu wydzielania tlenu (OEC) może wynikać z uszkodzenia błon tylakoidowych w wyniku częściowej degradacji ich frakcji lipidowej, co z kolei hamuje fotosyntetyczny transport elektronów, a uwolnione kwasy tłuszczowe z lipidów acylowych hamują dodatkowo fotosyntetyczny transport elektronów, głównie wokół PSII i po jego utleniającej stronie [41, 73]. Zmiany w obrębie błon tylakoidowych polegają w dużej mierze na wzmożonym katabolizmie lipidów, podobnie jak procesy starzenia roślin [8].

Ołów może także ograniczać przepływ elektronów w obrębie fotosystemu II, na drodze od feofityny (Phe) przez chinon A (Q_A) do chinonu B (Q_B) [43]. Może to być spowodowane – podobnie jak pod wpływem innych metali ciężkich – modyfikacją struktury centrów reakcji oraz brakiem możliwości prawidłowego funkcjonowania poszczególnych przenośników elektronów [43].

Wpływ ołowiu na fazę świetlną fotosyntezy może być również związany z ograniczeniem pobierania i translokacji w liściu innych pierwiastków istotnych dla jej przebiegu. Znany jest fakt występowania objawów niedoboru żelaza u

roślin, spowodowany nadmiernym stężeniem metali ciężkich w podłożu [8]. W konsekwencji następuje ograniczenie transportu elektronów w fotosyntezie oraz destrukcja błon tylakoidowych [1, 57, 76, 86].

FAZA CIEMNA FOTOSYNTAZY

Spadek natężenia fotosyntezy pod wpływem ołowiu dotyczy również reakcji zachodzących w stromie chloroplastów [78, 79, 81]. Reakcje fazy ciemnej fotosyntezy, w których wiązany jest CO₂ w cyklu Calvina, są bezpośrednio hamowane przez ołów [45]. Stwierdzono, że ołów obniżał aktywność karboksylazy/oksygenazy rybulozo-1,5-bisfosforanowej (RuBPC, E. C. 4.1.1.39) [78, 79] oraz karboksylazy fosfienolopirogronianowej (PEPC, E. C. 4.1.1.31) [79, 81]. Aktywność PEPC, *in vivo* i *in vitro*, u roślin C₄ (kukurydza) jest bardziej hamowana przez ołów niż aktywność RuBPC u roślin C₃ (jęczmień) [79]. Enzymy te zawierają reszty cysteiny – SH w centrum aktywnym [51, 80], co jest przyczyną ich wrażliwości na jony ołowiu. Stiborowa i Leblowa [81] stwierdziły, że stała hamowania przez ołów dla izoenzymu PEPCI była ok. dwukrotnie wyższa niż dla izoenzymu PEPCII. Według autorek PEPCI wykazuje właściwości tego enzymu u C₄, natomiast PEPCII u roślin C₃. Wysoka wrażliwość na jony ołowiu PEPCI może więc powodować zakłócenia fotosyntezy u roślin C₄. W przypadku RuBPC ołów hamuje aktywność karboksylazową i oksygenazową w podobnym stopniu, o czym świadczy jednakowe hamowanie natężenia procesów fotosyntezy i fotooddychania [59].

Ołów może również prowadzić do obniżenia poziomu 3-fosfoglicerynianu, rybozy i rybulozy [59]. Tak więc w fazie ciemnej fotosyntezy asymilacja CO₂ pod wpływem ołowiu może być ograniczana bezpośrednio w dwojaki sposób: 1. poprzez hamowanie aktywności enzymów biorących udział w wiązaniu CO₂ (HCO₃⁻) – RuBPC, PEPC; 2. poprzez ograniczenie regeneracji prekursora akceptora CO₂ – rybulozo-1,5-bisfosforanu.

Faza ciemna fotosyntezy może być również ograniczana przez ołów w sposób pośredni, po-

przez ograniczanie dostępu CO_2 do wnętrza liści na skutek przemykania szparek [13, 21]. Ograniczenie pobierania wody prowadzi do obniżenia potencjału wodnego liści i hamowania transpiracji [9, 21, 36]. Zakłócenia w gospodarce wodnej mają ujemny wpływ na procesy fizjologiczne, w tym i fotosyntezę [5, 38, 89]. Wcześniejsze doniesienia [12] wskazywały na ścisłą korelację pomiędzy hamowaniem fotosyntezy i transpiracji pod wpływem ołowiu. Badania późniejsze wykazały, że procesy związane z wymianą CO_2 są bardziej wrażliwe na ołów niż transpiracja [59, 61].

Na fazę ciemną fotosyntezy ma wpływ prawidłowy przebieg fazy świetlnej, dostarczającej tzw. „siły asymilacyjnej” (ATP, NADPH). Zmiany w fotosyntetycznym transporcie elektronów mogą indukować zaburzenia cyklu Calvina.

SKUTKI EKOLOGICZNE

Ołów nie jest zaliczany do składników pokarmowych i jego brak w roślinach nie ma wpływu na ich plonowanie i jakość uzyskanego plonu [102]. Obecność ołowiu w środowisku życia roślin prowadzi do zakłócenia ich wzrostu i rozwoju. Toksyczny wpływ ołowiu na fotosyntezę powoduje, że rośliny rosnące na glebie skażonej ołowiem wykazują ograniczony wzrost i chlorozę [26], co prowadzi do obniżenia ich biomasy i zmniejszenia plonów [95]. Pobieranie i akumulacja ołowiu przez rośliny powoduje obniżenie jakości plonów na terenach zanieczyszczonych tym metalem, a ich spożywanie stwarza dodatkowo zagrożenie dla ludzi i zwierząt [95].

UWAGI KOŃCOWE

Prowadzone od wielu lat badania nad wpływem ołowiu na proces fotosyntezy nie dają pełnej odpowiedzi na pytania o mechanizm jego działania. Badania mają charakter fragmentaryczny, co uniemożliwia kompleksowe podejście do problemu, uwzględniające współdziałanie poszczególnych organelli i przebiegających w nich procesów.

Interesującym zagadnieniem wydaje się być tu dobrze znany fakt wzajemnej zależności pro-

cesów fotosyntezy i oddychania [67]. Zahamowanie fotosyntezy pod wpływem ołowiu powinno powodować obniżenie produkcji substratów niezbędnych do przebiegu oddychania. Jednak pod wpływem ołowiu, przy jednoczesnym spadku natężenia fotosyntezy, następuje wzmożenie oddychania ciemniowego [49, 60, 62, 75]. Obecnie trudno jest ten fakt wytłumaczyć. Niektórzy autorzy sugerują, że gdy ograniczony jest przebieg fazy ciemnej fotosyntezy, wzmożone oddychanie odgrywa rolę ochronną poprzez utlenianie produktów fazy jasnej fotosyntezy [62].

PODZIĘKOWANIA:

Pani prof. dr hab. Elżbiecie Romanowskiej i Panu prof. dr hab. Eugeniuszowi Parysowi bardzo dziękuję za cenne wskazówki i uwagi dotyczące niniejszego artykułu.

LITERATURA

- [1] ABADIA A., AMBARD-BRETTEVILLE F., REMY R., TREMOLIERES A. 1988. Iron-deficiency in pea leaves: Effect on lipid composition and synthesis. *Physiol. Plant.* **72**: 713–717.
- [2] ABDEL-BASSET R., ISSA A. A., ADAM M. S. 1995. Chlorophyllase activity: effects of heavy metals and calcium. *Photosynthetica* **31**: 421–425.
- [3] AHMED A., TAJMIR-RIABI H. A. 1993. Interaction of toxic metal ions Cd^{+2} , Hg^{+2} , and Pb^{+2} with light-harvesting proteins of chloroplast thylakoid membranes, ANFTIR studies. *J. Inorg. Chem.* **50**: 235–243.
- [4] APEL K., KLOPPSTECH K. 1980. The effect of light on the biosynthesis of the light-harvesting chlorophyll a/b protein. *Planta* **150**: 426–430.
- [5] ASPINALL D., PALEG L. G. 1981. Proline accumulation. Physiological aspects. W: L. G. PALEG, D. ASPINALL (red.), *Physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants* Academic Press, New York, s. 205–240.
- [6] BARCELO J., POSCHENRIEDER CH. 1990. Plant water relations as affected by heavy metal stress: A review. *J. of Plant Nutrition* **13**: 1–37.
- [7] BASZYŃSKI T. 1986. Heavy metals as factors affecting photosynthetic apparatus activity. *Folia Physiol. Cytol. Gen.* **1**: 7–27.
- [8] BASZYŃSKI T. 1991. O pośrednim mechanizmie działania metali ciężkich na reakcje fotochemiczne chloroplastów roślin wyższych. W: *Zanieczyszczone środowisko a fizjologia roślin*, PTB Warszawa: 7–15.
- [9] BASZYŃSKI T., KRÓL M., KRUPA Z., RUSZKOWSKA M., WOLIŃSKA D., WOJCISKA U. 1982. Photosynthetic apparatus of spinach exposed to excess copper. *Z. Pflanzenphysiol.* **108**: 385–395.
- [10] BASZYŃSKI T., WAJDA L., KRÓL M., WOLIŃSKA D., KRUPA Z., TUKENDORF A. 1980. Photosynthetic activi-

- ties of cadmium-treated tomato plants. *Physiol. Plant.* **48**: 365–370.
- [11] BAZZAZ F. A., CARLSON R. W., ROLFE G. L. 1974. Effect of Cd on photosynthesis and transpiration of excised leaves of corn and sunflower. *Physiol. Plant.* **32**: 373–376.
- [12] BAZZAZ F. A., CARLSON R. W., ROLFE G. L. 1974. The effect of heavy metals on plants: PART I. Inhibition of gas exchange in sunflower by Pb, Ni, and Tl. *Environm. Pollut.* **7**: 241–246.
- [13] BAZZAZ F. A., CARLSON R. W., ROLFE G. L. 1975. Inhibition of corn and sunflower photosynthesis by lead. *Physiol. Plant.* **34**: 326–329.
- [14] BECERRIL J. M., MUNOZ-RUEDA A., APARICIO-TEJO P., GONZALES-MURUA C. 1988. The effects of cadmium and lead on photosynthetic electron transport in clover and lucerne. *Plant Physiol. Biochem.* **26**: 357–363.
- [15] BENNETT J. 1981. Biosynthesis of the light-harvesting chlorophyll a/b protein, Polypeptide turnover in darkness. *Eur. J. Biochem.* **118**: 61–70.
- [16] BJÖRKMAN O., DEMMIG B. 1987. Photon yield of O₂ evolution and chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origins. *Planta* **170**: 489–504.
- [17] BURZYŃSKI M. 1985. Influence of lead on the chlorophyll content and on initial steps of its synthesis in greening cucumber seedlings. *Acta Soc. Bot. Pol.* **54**: 95–105.
- [18] BURZYŃSKI M. 1987. The uptake and transpiration of water and the accumulation of lead by plants growing on lead chloride solutions. *Acta Soc. Bot. Pol.* **56**: 271–280.
- [19] BURZYŃSKI M. 1988. The uptake and accumulation of phosphorus and nitrates and the activity of nitrate reductase in cucumber seedlings treated with PbCl₂ or CdCl₂. *Act. Soc. Bot. Pol.* **57**: 349–359.
- [20] BURZYŃSKI M., BUDZIAN J. 1996. Uptake, translocation and growth effects of Cd, Pb and Cu in *Amaranthus paniculatus* L. *Biol. Bull. of Poznań* **33**, Suppl.: 17.
- [21] CARLSON R. W., BAZZAZ F. A., ROLFE G. L. 1975. The effect of heavy metals on plants. II. Net photosynthesis and transpiration of whole corn and sunflower plants treated with Pb, Cd, Ni and Tl. *Environm. Res.* **10**: 113–120.
- [22] CLUSTERS H., VAN ASSCHE F. 1985. Inhibition of photosynthesis by heavy metals. *Photosyn. Res.* **7**: 21–40.
- [23] DAHLIN C. 1988. Correlation between pigment composition and apoprotein of the light-harvesting complex II (LHC II) in wheat (*Triticum aestivum*). *Physiol. Plant.* **74**: 342–348.
- [24] DRAŹKIEWICZ M. 1996. Sensitivity of maize seedlings to Cd as measured by leaf growth parameters, photosynthetic pigment content and Kautsky effect cadmium influence on membrane permeability in *Acer pseudoplatanus* L. callus cultures. *Biol. Bull. of Poznań* **33**, suppl.: 21.
- [25] EYTAN G., OHAD J. 1972. Biogenesis of chloroplast membranes. VIII. Modulation of chloroplast lamellae composition and function induced by discontinuous illumination and inhibition of ribonucleic acid and protein synthesis during greening of *Chlamydomonas reinhardtii* y-1 mutant cells. *J. Biol. Chem.* **247**: 122–129.
- [26] FOY C. D., CHANEY R. L., WHITE M. C. 1978. The physiology of metal toxicity in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **29**: 511–566.
- [27] GEMEL J., WATERS-EARHART B., SANDERS P. S., ELLER-SIECK M. R. 1997. Effect of pentachlorophenolate, chlorpyrifos and lead chloride on chlorophyll fluorescence. *J. Environm. Sci. Health* **A32**: 543–565.
- [28] GLATER F. A. B., HERNANDEZ L. 1972. Lead detection in living plant tissue using a new histochemical method. *J. Air Pollut. Control Assoc.* **22**: 463–467.
- [29] GREGER M., BERTELL G. 1991. Effects of Ca²⁺ and Cd²⁺ on the carbohydrate metabolism in sugar beet (*Beta vulgaris*). *J. Exp. Bot.* **43**: 167–173.
- [30] GREGER M., OGREN E. 1991. Direct and indirect effects of Cd²⁺ on photosynthesis in sugar beet (*Beta vulgaris*). *Physiol. Plant.* **83**: 129–135.
- [31] HAEGER-ARONSEN B., SHUTZ A., ABDULLE M. 1976. Antagonistic effects *in vivo* of zinc on inhibition of delta-aminolevulinic acid dehydratase by lead. *Arch. Env. Health* **31**: 215–220.
- [32] HAMPP R., LENDZIAN K. 1974. Effect of lead ions on chlorophyll synthesis. *Naturwissenschaften* **61**: 218–219.
- [33] HUNER N. P. A., KRÖL M., WILLIAMS J. P., MAISSAN E., KRUPA Z. 1989. Development at cold-hardening temperatures: Membrane assembly and organization. W: P. H. LI (red.) *Low Temperature Stress Physiology in Crops*, CRC Press Inc., Boca Raton, s. 53–65.
- [34] IDZIKOWSKA K. 1988. Preliminary research on lead absorption and translocation in root tip cells of *Populus nigra* Italica Moench. *Acta. Soc. Bot. Pol.* **57**: 217–222.
- [35] IDZIKOWSKA K. 1994. The effect of lead on the ultrastructure of root tip cells in *Pinus sylvestris* L. seedlings. *Bull. Soc. Amis. Sci. Lettr. Poznań* **30**: 5–10.
- [36] KASTORI R., PETROVIC M., PETROVIC N. 1992. Effect of excess lead, cadmium, copper and zinc on water relations in sunflower. *J. Plant Nutrit.* **15**: 2427–2439.
- [37] KOEPE D. E. 1977. The uptake, distribution and effect of cadmium and lead in plants. *Sci. Total Environm.* **7**: 197–206.
- [38] KRAMER P. J. 1988. Changing concepts regarding plant water relations. *Plant Cell Environm.* **11**: 565–568.
- [39] KRAUSE G. H., WEIS E. 1984. Review: Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology. II. Interpretation of fluorescence signals. *Photosyn. Res.* **5**: 139–157.
- [40] KRUPA Z. 1988. Cadmium-induced changes in the composition and structure of the light-harvesting chlorophyll a/b protein complex II in radish cotyledons. *Physiol. Plant.* **73**: 518–524.
- [41] KRUPA Z., BASZYŃSKI T. 1985. Effects of cadmium on the acyl lipid content and fatty acid composition in thylakoid membranes isolated from tomato leaves. *Acta Physiol. Plant.* **7**: 55–64.
- [42] KRUPA Z., BASZYŃSKI T. 1989. Environmental stresses as factors modifying the structure of the light-harvesting chlorophyll-protein complex II. *Photosynthetica* **23**: 695–698.
- [43] KRUPA Z., BASZYŃSKI T. 1995. Some aspects of heavy

- metals toxicity towards photosynthetic apparatus – direct and indirect effects on light and dark reactions. *Acta Physiol. Plant.* **17**: 177–190.
- [44] KRUPA Z., ÖQUIST G., HUNER N. P. A. 1992. The influence of cadmium on primary photosystem II photochemistry in bean as revealed by chlorophyll a fluorescence – a preliminary study. *Acta Physiol. Plant.* **14**: 71–76.
- [45] KRUPA Z., ÖQUIST G., HUNER N. P. A. 1993. The effects of cadmium on photosynthesis of *Phaseolus vulgaris* – a fluorescence analysis. *Plant Physiol.* **88**: 626–630.
- [46] KRUPA Z., RUSZKOWSKI M., GIŁOWSKA-JUNG E. 1982. The effect of chromate on the synthesis of plastid pigments and lipoquinones in *Zea mays* L. seedlings. *Acta Soc. Bot. Pol.* **51**: 275–281.
- [47] KRUPA Z., SKÓRZYŃSKA E., MAKSYMIEC W., BASZYŃSKI T. 1987. Effect of cadmium treatment on the photosynthetic apparatus and its photochemical activities in greening radish seedlings. *Photosynthetica* **21**: 156–164.
- [48] KSIĄŻEK M., WOŹNY A., SIWIECKI R. 1984. The sensitivity of poplar leaves to lead nitrate and the intracellular localization of lead. *Eur. J. Forest. Pathol.* **14**: 113–122.
- [49] LAMOREAUX R. J., CHANEY W. R. 1978. The effect of cadmium on net photosynthesis, transpiration and dark respiration of excised silver maple leaves. *Physiol. Plant.* **43**: 231–236.
- [50] LEGOCKA J., JACKOWSKI G., SCHNEIDER J. 1993. Cytokinin-controlled expression of the apoprotein of the light-harvesting complex of photosystem II (LHC II) in tissue culture of *Dianthus caryophyllus*, II. The availability of LHC II apoprotein. *Acta Physiol. Plant.* **15**: 237–240.
- [51] LORIMER G. H. 1981. The carboxylation and oxygenation of ribulose-1,5-bisphosphate: the primary events in photosynthesis and photorespiration. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **32**: 349–383.
- [52] MACHOLD O., MEISTER A., SAGROMSKY H., HOYER-HANSEN G., WETTSTEIN D. V. 1977. Composition of photosynthetic membranes of wild-type barley and chlorophyll b-less mutants. *Photosynthetica* **11**: 200–206.
- [53] MAYFIELD S. P., TAYLOR W. C. 1984. Carotenoid-deficient maize seedlings fail to accumulate light-harvesting chlorophyll a/b binding protein (LHCP) mRNA. *Eur. J. Biochem.* **144**: 79–84.
- [54] MILES C. D., BRANDLE J. R., DANIEL D. J., CHU-DER O., SCHNARE P. D., UHLIK D. J. 1972. Inhibition of photosystem II in isolated chloroplasts by lead. *Plant Physiol.* **49**: 820–825.
- [55] MOSTOWSKA A., GWÓŹDZ A. 1995. Reakcje aparatu fotosyntetycznego na stres oksydacyjny (Responses of photosynthetic apparatus to oxidative stress). *Post. Biol. Komórki* **22**: 43–63.
- [56] MOTTO H. L., DAINES R. H., CHILKO D. M., MOTTO C. K. 1970. Lead in soils and plants: its relationship to traffic volume and proximity to highways. *Environm. Sci. Tech.* **4**: 231–238.
- [57] NISCHIO J. N., ABADIA J., TERRY N. 1985. Chlorophyll-proteins and electron transport during iron nutrition – mediated chloroplast development. *Plant Physiol.* **78**: 296–299.
- [58] PÅHLSSON A. M. 1989. Toxicity of heavy metals (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants. *Water Air Soil Pollut.* **47**: 287–319.
- [59] POSKUTA J. W., PARYS E., ROMANOWSKA E. 1987. The effects of lead on the gaseous exchange and photosynthetic carbon metabolism of pea seedlings. *Acta Soc. Bot. Pol.* **56**: 127–137.
- [60] POSKUTA J. W., PARYS E., ROMANOWSKA E. 1996. Toxicity of lead to photosynthesis, accumulation of chlorophyll, respiration and growth of *Chlorella pyrenoidosa*. Protective role of dark respiration. *Acta Physiol. Plant.* **18**: 165–171.
- [61] POSKUTA J. W., PARYS E., ROMANOWSKA E., GAJDIS-GUJDAN H., WRÓBLEWSKA B. 1988. The effects of lead on photosynthesis, ¹⁴C distribution among photoassimilates and transpiration of maize seedling. *Acta Soc. Bot. Pol.* **57**: 149–155.
- [62] POSKUTA J. W., WACŁAWCZYK-LACH E. 1995. *In vivo* responses of primary photochemistry of photosystem II and CO₂ exchange in light and in darkness of tall fescue genotypes to lead toxicity. *Acta Physiol. Plant.* **17**: 233–240.
- [63] PRZYMUSIŃSKI R., GWÓŹDZ E. A. 1994. Increased accumulation of the 16 x 10³ Mr polypeptide in lupin roots exposed to lead, copper and nitrite ions. *Environm. Exp. Bot.* **34**: 63–68.
- [64] PRZYMUSIŃSKI R., SPYCHAŁA M., GWÓŹDZ E. A. 1991. Inorganic lead changes, growth and polypeptide pattern of lupin roots. *Biochem. Physiol. Pflanzen* **187**: 51–57.
- [65] PRZYMUSIŃSKI R., WOŹNY A. 1985. The reactions of lupin roots on the presence of lead in the medium. *Biochem. Physiol. Pflanzen* **180**: 309–318.
- [66] PRZYMUSIŃSKI R., WOŹNY A. 1987. The development, anatomy and ultrastructure of poplar roots in the presence of lead. W: R. SIWIECKI (red), *Biological Reactions of Trees to Industrial Pollution*. Inst. Dendrologii PAN, Kórnik, s. 165–173.
- [67] RAGHAVENDRA K. A. S., PADMASREE K., SARADADEVI K. 1994. Interdependence of photosynthesis and respiration in plant cells: interactions between chloroplasts and mitochondria. *Plant Science* **97**: 1–14.
- [68] RAI L. C., RAIZADA M., MALLICK N., YASHMIN-HUSAINI A., SINGH A. K., DUBEY S. K. 1990. Effect of four heavy metals on the biology of *Nostoc muscorum*. *Biol. Metals* **2**: 229–234.
- [69] REBECHINI H. M., HANZELY L. 1974. Lead induced ultrastructural changes in chloroplasts of the hydropyte *Ceratophyllum demersum*. *Z. Pflanzenphysiol.* **73**: 377–386.
- [70] ROMANOWSKA E., PARYS E., SIEDLECKA M., PIOTROWSKI T., POSKUTA J. 1996. Responses of pea leaf photosynthetic and respiratory metabolism to lead toxicity. *Biol. Bull. of Poznań* **33**, Suppl: 52–53.
- [71] SABINIS D. D., GORDON M., GALSTON A. W. 1969. A site with an affinity for heavy metals on the thylakoid membranes of chloroplasts. *Plant Physiol.* **44**: 1355–1363.
- [72] SCARPONI L., PERUCCI P. 1984. Effect of some metals

- and related metal-organic compounds on ALA-dehydratase activity of corn. *Plant Soil* **79**: 69–75.
- [73] SHAW A. B., ANDERSON M. M., MCCARTHY R. E. 1976. Role of galactolipid in spinach chloroplast lamellar membranes. II. Effects of galactolipid depletion on phosphorylation and electron flow. *Plant Physiol.* **57**: 724–729.
- [74] SŁOWIK D. 1998. Wpływ ołowiu na fotosyntezę i oddychanie w odciętych liściach kukurydzy. Praca magisterska, Zakład Fizjologii Roślin IB, Uniwersytet Warszawski.
- [75] SŁOWIK D., ROMANOWSKA E., PARYS E. 1998. The effect of lead on photosynthesis and respiration in detached maize leaves. *Acta Physiol. Plant.* **20**, Suppl.: 27–28.
- [76] SPILLER S., TERRY N. 1980. Limiting factors in photosynthesis II. Iron stress diminishes photochemical capacity by reducing the number of photosynthetic units. *Plant Physiol.* **65**: 121–125.
- [77] STIBOROVA M., DITRICOVA M., BREZINOVA A. 1987. Effect of heavy metal ions on growth and biochemical characteristics of photosynthesis of barley and maize seedlings. *Biol. Plant.* **29**: 453–467.
- [78] STIBOROVA M., DOUBRAVOVA M., BEREZINOVA A. 1986. Effect of heavy metal ions on growth and biochemical characteristics of photosynthesis of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Photosynthetica* **20**: 418–425.
- [79] STIBOROVA M., DOUBRAVOVA M., LEBLOVA S. 1986. A comparative study of the effect of heavy metal ions on ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase and phosphoenolpyruvate carboxylase. *Biochem. Physiol. Pflanzen.* **181**: 373–379.
- [80] STIBOROVA M., LEBLOVA S. 1983. The role of cystein SH groups in the phosphoenolpyruvate carboxylase molecule of maize. *Physiol. Veg.* **21**: 935–942.
- [81] STIBOROVA M., LEBLOVA S. 1985. Heavy metal inactivation of maize (*Zea mays* L.) phosphoenolpyruvate carboxylase isoenzymes. *Photosynthetica* **19**: 500–503.
- [82] STREB P., MICHAEL-KNAUF A., FEIERABEND J. 1993. Preferential photoinactivation of catalase and photoinhibition of photosystem II and common early symptoms under various osmotic and chemical stress conditions. *Physiol. Plant.* **88**: 590–598.
- [83] TAKEMOTO J., LASCELLES J. 1973. Coupling between bacteriochlorophyll and membrane protein synthesis in *Rhodospseudomonas spheroides*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **70**: 799–803.
- [84] TER HAAR G. L. 1970. Air as a source of lead in edible crops. *Environm. Sci. Techn.* **4**: 226–229.
- [85] TERAOKA T., KATOCH S. 1989. Synthesis and breakdown of the apoprotein of light-harvesting chlorophyll a/b protein in chlorophyll b-deficient mutant of rice. *Plant Cell Physiol.* **30**: 571–580.
- [86] TERRY N. 1980. Limiting factors in photosynthesis. I. Use of iron stress to control photochemical capacity *in vivo*. *Plant Physiol.* **65**: 114–120.
- [87] TUKENDORF A. 1989. Proteins and peptides binding heavy metals. *Post.Bioch.* **35**: 141–153.
- [88] TUKENDORF A. 1993. Fitochelatyny-roślinne peptydy wiążące metale ciężkie. *Post.Bioch.* **39**: 60–67.
- [89] VENEKAMP J. H. 1989. Regulation of cytosol acidity in plants under conditions of drought. *Physiol. Plant.* **76**: 112–117.
- [90] VÖGELI-LANGE R., WAGNER G. J. 1990. Subcellular localization of cadmium and cadmium-binding peptides in tobacco leaves. *Plant Physiol.* **92**: 1083–1086.
- [91] WEIGEL J. H. 1985. The effect of Cd^{+2} on photosynthetic reactions of mesophyll protoplasts. *Physiol. Plant.* **63**: 192–200.
- [92] WEIGEL J. H. 1985. Inhibition of photosynthetic reactions of isolated intact chloroplasts by cadmium. *J. Plant. Physiol.* **119**: 179–189.
- [93] WIERZBICKA M. 1984. Lead influence on adventitious roots of *Allium cepa* L. – Pb^{+2} pathways of translocation and its localization. Praca doktorska, Uniwersytet Warszawski.
- [94] WIERZBICKA M. 1987. Lead translocation and localization in *Allium cepa* roots. *Can. J. Bot.* **65**: 1851–1860.
- [95] WIERZBICKA M. 1995. Oddziaływanie metali ciężkich na rośliny. *Kosmos* **44**: 639–651.
- [96] WONG D., GOVINDJEE 1976. Effects of lead ions on photosystem I in isolated chloroplasts: studies on the reaction center P700. *Photosynthetica* **10**: 241–254.
- [97] WOŹNY A. (red.) 1995. Ołów w komórkach roślinnych, pobieranie – reakcje – odporność. Sorus Poznań UAM.
- [98] WOŹNY A., GZYL J., IDZIKOWSKA K., SAMARDAKIEWICZ S., KRZESŁOWSKA M. 1994. Lead in the ultrastructure of plant cells. *Cell Biol. Internat. IVth Eur. Cell. Biol. Congress, Abstracts* **18**: 567.
- [99] WOŹNY A., JERCZYŃSKA E. 1991. The effect of lead on early stages of *Phaseolus vulgaris* L. growth *in vitro* conditions. *Biol. Plant.* **33**: 32–39.
- [100] WOŹNY A., STROŃSKI A., GWÓDŹ E. 1990. Plant cell responses to cadmium. *UAM Ser. Biologia* **44**: 1–29.
- [101] WOŹNY A., ZATORSKA B., MŁODZIANOWSKI F. 1982. Influence of lead on the development of lupin seedlings and ultrastructural localization of this metal in the roots. *Acta Soc. Bot.* **51**: 345–351.
- [102] WÓJCIK P. 1997. Ekologiczne skutki nawożenia. *Now. Roln.* **5**: 40.
- [103] ZIMDAHL R. L., ARVİK J. H. 1973. Lead in soils and plants: a literature review. *CRC Crit. Rev. Environm. Control.* **3**: 213.
- [104] ZIMDAHL R. L., KOEPPÉ D. E. 1978. Uptake by plants, W: W. R. BOGESS (red.), *Lead in the environment*. Washington, D. C. Nat. Sci. Foundation, s. 99–104.