

Anna Tukiendorf

ROLA MIEDZI W NIEKTÓRYCH PROCESACH METABOLICZNYCH ROŚLIN

Metale pobierane są przez rośliny w postaci rozpuszczalnych w wodzie jonów. Rola, jaką pełnią w roślinie, jest bardzo różnorodna. Działają one stabilizująco na struktury cząsteczek oraz dzięki zmianom wartościowości, zapoczątkowują reakcje łańcuchowe z udziałem wolnych rodników. Metale mogą również łączyć się wiązaniem koordynacyjnym z białkami, tworząc metaloenzymy, w których metal stanowi grupę prostetyczną. Jony wielu metali są aktywatorami enzymów i tworzą wtedy luźne wiązania między enzymem a substratem, na który enzym działa [50].

Niezbędność miedzi dla roślin wynika między innymi z faktu, że metal ten wchodzi w skład szeregu enzymów katalizujących główne procesy metaboliczne — fotosyntezę i oddychanie. Znany jest również wpływ tego pierwiastka na wzrost roślin, przemiany azotowe, utlenianie fenoli i amin aromatycznych, na procesy lignifikacji i metabolizm hormonów. Z tych to powodów, niedobór miedzi wpływa w decydujący sposób na rośliny. Przede wszystkim obniża ilość oraz aktywność tych białek enzymatycznych, których składnikiem strukturalnym jest miedź. Zakłócone zostają również reakcje świetlnej i ciemnej fazy fotosyntezy, zmniejsza się poziom syntezy barwników fotosyntetycznych oraz obserwuje się dezintegrację błon tylakoidowych [6, 19, 39, 62, 69].

Własności jonu miedzi

Miedź pobierana jest przez rośliny w postaci jonu dwuwartościowego lub w postaci związków chelatowych. Własności fizykochemiczne jonu miedzi powodują, że pierwiastek ten, przy normalnych jego ilościach w glebie, nie występuje w komórkach rośliny w postaci wolnych jonów. Ze względu na silne własności kompleksotwórcze, reaguje z wieloma związkami organicznymi. Wartościowościami głównymi miedź może się wiązać z grupami: karboksylową, aminową, enolową, sulfonową, oksymową. Wartościowościami zaś dodatkowymi, może łączyć się z aminami I, II

i III-rzędowymi, grupą hydroksylową alkoholi, karbonylową i tioestrową. Znane są więc połączenia miedzi z kwasami organicznymi, kwasami nukleinowymi, aminokwasami, dipeptydami i białkami [18, 24, 35, 50, 53, 71]. Kompleksowe połączenia miedzi z aminokwasami o charakterze anionowym wykrywane są często w tkankach naczyniowych roślin, co wskazuje, że uczestniczą one w transportowaniu tego jonu w roślinie [72]. Również w tkankach zwierzęcych wykazano, że miedź przenoszona jest przez błony plazmatyczne w postaci kompleksów z aminokwasami [80, 84]. Oprócz aminokwasów, ligandami z którymi pierwiastek ten łączy się tworząc ruchliwe formy zdolne do przemieszczania, są kwasy organiczne [85], a wśród nich najczęściej spotykane połączenia miedzi z kwasami fenolowymi. Jednak ligandami, do których jony metali, a w tym i jony miedzi, wykazują największe powinowactwo w tworzeniu kompleksów, są białka [50, 74]. Należą tu białka zarówno enzymatyczne, jak i nie będące enzymami, ale wykazujące dużą aktywność biologiczną oraz drobnocząsteczkowe białka miedziowe często o nieokreślonych jeszcze funkcjach fizjologicznych.

Miedź może wiązać się z białkami w różny sposób, co prowadzi do zmian we własnościach optycznych, magnetycznych i oksydacyjno-redukujących. W zależności od tych własności wyróżnia się trzy typy miedzi [14, 76].

Typ I miedzi jest formą Cu^{2+} , która nadaje białkom miedziowym niebieską barwę. Obecność tego typu miedzi w białku wiąże się z występowaniem sygnału ERP i wyraźną absorpcją światła przy długości fali 600 nm. Jony miedzi zaliczane do typu I występują w takich białkach jak: plastocjanina, azuryna, kusacjanina, umecjanina, stellacjanina, mawicjanina, rusticjanina. Mogą również występować w białkach miedziowych wspólnie z jonami miedzi zaliczanymi do typów II i III (lakaza, oksydaza askorbinianowa).

Typ II stanowi jon miedzi dwuwartościowej, ale jego obecność nie nadaje białkom miedziowym barwy niebieskiej. Podobnie jak jony Cu^{2+} typu I, również jony Cu^{2+} typu II są przyczyną występowania maksimum absorpcji światła przy długości fali 600 nm. Typ II może być jedynym typem miedzi w białkach (dysmutaza ponadtlenkowa, oksydaza galaktozy) lub występuje wspólnie z innymi typami (oksydaza askorbinianowa, lakaza).

Do typu III należą atomy miedzi dwu- lub jednowartościowej. Nie dają one wykrywalnego sygnału ERP, a maksimum absorpcji światła białek połączonych z tym typem miedzi przypada na zakres 330—350 nm. Ten typ miedzi występuje u zwierząt w oksyhemocjaninie i ceruloplazminie oraz powszechnie, wspólnie z typami I i II, w oksydazie askorbinianowej i lakazie. Typ III miedzi jest również charakterystyczny dla roślinnych i zwierzęcych miedzioniein, specyficznych połączeń miedzi z drobnocząsteczkowymi białkami bogatymi w cysteinę.

Roślinne białka miedziowe

Najpowszechniej występującymi i najlepiej poznanymi białkami miedziowymi roślin są enzymy z grupy oksydaz oraz plastocjanina i wykazująca aktywność enzymatyczną frakcja I rozpuszczalnych białek stromy chloroplastów.

Oksydaza cytochromowa jest lipoproteidowym enzymem związanym z wewnętrzną błoną mitochondrium. Pełni rolę terminalnej oksydazy w łańcuchu transportu elektronów, katalizując utlenianie zredukowanego cytochromu c z udziałem tlenu. W skład enzymu wchodzi dwa atomy miedzi towarzyszące dwóm układom hemowym [34].

Oksydaza askorbinianowa to enzymatyczne wielocząsteczkowe białko zawierające osiem atomów miedzi o różnych własnościach. Katalizuje oksydację askorbinianu do L-dehydroaskorbinianu [76].

Oksydaza p-difenolowa (lakaza) jest enzymem katalizującym reakcje utleniania fenoli i amin aromatycznych. Uczestniczy również w lignifikacji tkanek roślinnych, a także w procesach ich humifikacji w glebie [36, 73]. Zawiera w cząsteczce 4 jony miedzi należące do różnych typów. Jeden z jonów Cu^{2+} zaliczany do typu I nadaje białku niebieską barwę, drugi jon Cu^{2+} jest typu II i warunkuje obecność sygnału ERP, dwa pozostałe jony miedzi należą do typu III [41, 42, 58]. Według Broma i in. [11] dwa ostatnie jony miedzi zaliczane do typu III, są jednowartościowe.

Fenolaza (oksydaza o-difenolowa dawniej zwana katecholazą) jest enzymem utleniającym mono- i o-dwufenole. Enzym ten występuje w mitochondriach oraz w błonach tylakoidowych i jest białkiem związanym z jednym atomem miedzi [31, 40].

Dysmutaza ponadtlenkowa — białko o strukturze dimeru, zawierające w każdym monomerze po jednym atomie miedzi i cynku. Enzym ten, współdziałając z katalazą i peroksydazami, chroni komórki przed toksycznym działaniem tlenu. Występuje w chloroplastach i mitochondriach [47].

Plastocjanina jest niebieskim białkiem zawierającym jeden atom miedzi należący do typu I [16]. Występuje w chloroplastach glonów [28] i roślin wyższych [29, 57], gdzie funkcjonuje w fotosyntetycznym łańcuchu transportu elektronów [30].

Frakcja I jest jedną z frakcji białek stromy chloroplastów. Zawiera wykrywalne ilości miedzi a jej ciężar określa się na około 650 kD. Wykazuje aktywność karboksylazy RuBP a często również i oksygenazy RuBP. Można więc przypuszczać, że miedź obecna w tej frakcji jest konieczna dla obu bądź jednej z tych aktywności enzymu. Jednak rola miedzi w karboksylazowej i oksygenazowej funkcji enzymu jest kontrowersyjna. W przypadku karboksylazy RuBP wykazano, że enzym ten zawiera jeden gramoatom miedzi związany z mołem enzymu. Miedź występuje tu w formie Cu^{2+} , jest stechiometrycznym komponentem enzymu, pełni w nim funkcjonalną rolę, a enzym ma specyficzne miejsce wiążące ten metal [82]. Są również sugestie, że rola miedzi obecnej w tym enzymie, polega na częściowym utrzymywaniu jego odpowiedniej konformacji, a usunięcie metalu z enzymu nie zmienia jego specyficznej aktywności [83].

Niezbędność miedzi dla aktywności oksygenazowej enzymu wynika z faktu, że chloroplasty roślin rosnących w warunkach niedoboru miedzi, mają wyższą wydajność fotosyntezy [76]. Takie obserwacje wskazywałyby, że niedobór jonów tego metalu obniża proces fotooddychania katalizowany przez oksygenazę RuBP. Z drugiej strony wykazano, że nadmiar miedzi nie wzmacnia aktywności oksyge-

Tabela I

Roślinne białka miedziowe [wg 43, 54, 76]

Białko	Ciężar cząsteczkowy	Ilość atomów miedzi	Typ miedzi			Maksimum absorpcji w świetle widzialnym	Występowanie
			I	II	III		
Oksydaza cytochromowa	200 000	2	1			605	Mitochondria
Oksydaza askorbinianowa	140 000	8	2	2	4	605	Cytoplazma
Lakaza	110 000	4	1	1	2	614	Grzyby, lateks drzewa lakowego
Fenolaza	40 000	1		?		—	Chloroplasty
Dysmutaza ponadtlenkowa	33 200	2		2		680	Chloroplasty, mitochondria
Plastocjanina	21 500 lub 10 690	2	2			597	Chloroplasty szpinaku
Fracja I	650 000	1	1			597	Chloroplasty fasoli
Mawicjanina	18 000	?	?			—	Chloroplasty
Umecjanina	14 600	1	1			600	<i>Cucurbita pepo</i> medullosa
Stellacjanina	20 000	1	1			610	<i>Armoracia lapathifolia</i>
Kusacjanina	8 000	1	1			604	<i>Rhus vernicifera</i>
lub plantacjanina	10 000	1	1			592	<i>Cucumis sativus</i>
Rusticjanina	16 600	1	1			593	<i>Spinacia oleracea</i>
Azuryna	14 600	1	1			597	<i>Thiobacillus ferro-oxidans</i>
	16 000	1	1			625	<i>Bor-detella</i>
	16 000	1	1			630	<i>Pseudomonas</i>
Niebieskie białko z etiolowanej fasoli	22 000	1	1			598	Siewki fasoli
Niebieskie białko z otrąb ryżu	23 000	1	1			600	Otręby ryżu

nazy [22], a wydajność fotosyntezy obniża się głównie przez oddziaływanie tego metalu na reakcje świetlne fotosyntezy, hamując transport elektronów w obu fotosystemach [17, 63, 68, 75]. Obserwuje się wówczas również zwiększenie aktywności lipooksygenazy, która powoduje destrukcję błon chloroplastowych [64].

Oprócz opisanych powyżej i powszechnie znanych białek miedziowych o własnościach enzymów, występują w komórkach bakterii i grzybów, w etiolowanych roślinach, w wydzielinach tkanek i w tkankach fotosyntezujących mniej znane połączenia miedzi z białkami drobnocząsteczkowymi. Tego typu białka miedziowe są niebieskie, zawierają po jednym atomie miedzi dwuwartościowej zaliczanej do typu I, wykazują maksima absorpcji w ultrafiolecie i w świetle widzialnym. Metaboliczne znaczenie wielu z nich nie jest znane. Przypuszcza się, że mogą one, podobnie jak kompleksy miedzi z aminokwasami, brać udział w transportowaniu miedzi w roślinie, lub też przypisuje im się rolę w magazynowaniu miedzi. Ponieważ jednak niewiele wiadomo o mechanizmach rządzących dystrybucją miedzi w tkankach, komórkach czy organelach, dlatego funkcje tych białek miedziowych łączy się najczęściej z miejscami ich występowania. Do białek tych należą:

- mawicjanina wyizolowana z zielonej odmiany dyni *Cucurbita pepo* medullosa [43]
- umecjanina izolowana ze skórki chrzanu *Armoracia lapathifolia* [54]
- stellacjanina wyizolowana z lateksu drzewa lakowego *Rhus vernicifera* [42, 58]
- kusacjanina lub plantacjanina wyizolowana z lupiny ogórka *Cucumis sativus* i liści szpinaku *Spinacia oleracea* [1, 2, 45]
- rusticjanina otrzymana z kwasolubnej bakterii *Thiobacillus ferro-oxidans*. Rusticjanina stanowi w komórkach tej bakterii około 5% całkowitego białka i jest inicjalnym akceptorem elektronów w utlenianiu Fe^{2+} przez *Thiobacillus* [14].
- azuryrna izolowana z komórek wielu odmian bakterii *Bordetella* [70] oraz z komórek *Pseudomonas* [10], gdzie białko to funkcjonuje w transporcie elektronów między cytochromem c (u *Pseudomonas* cytochrom 551) i oksydazą cytochromową.

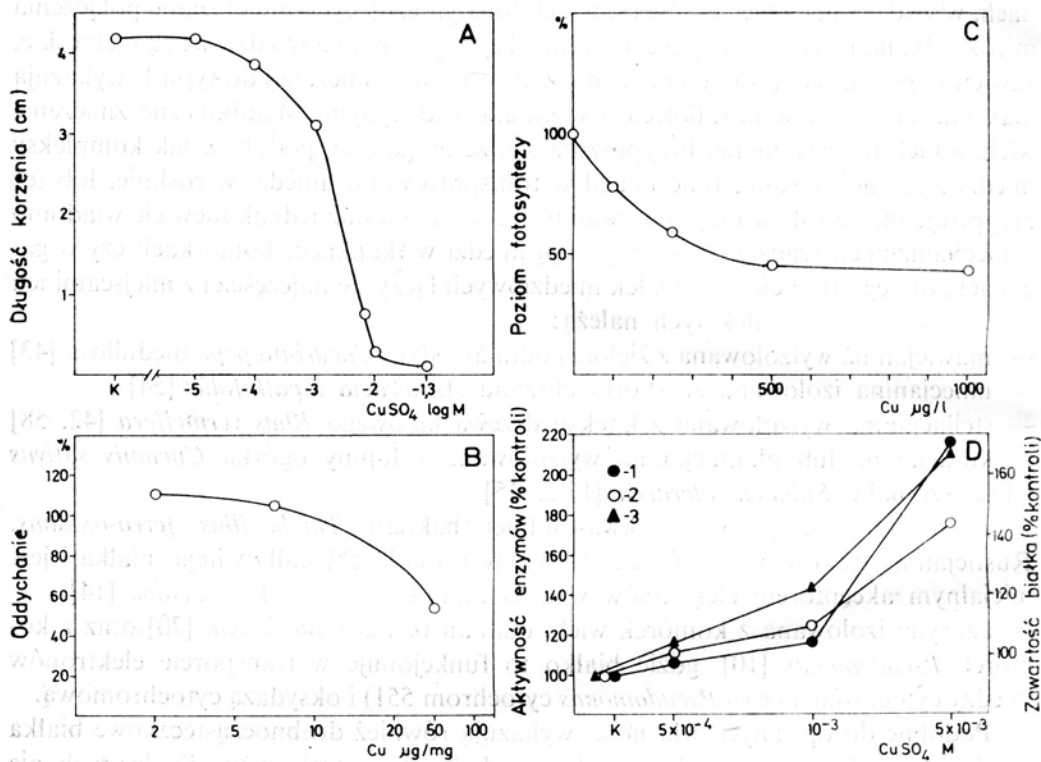
Podobne do opisanych własności wykazują również drobnocząsteczkowe białka miedziowe izolowane z etiolowanych siewek fasoli i otrąb ryżu, dla których nie określono jeszcze nazwy [67].

Skutki nadmiaru miedzi w roślinach

Przy podwyższonym stężeniu miedzi w środowisku odżywczym roślin, następuje znaczne jej nagromadzenie w komórkach i tkankach. Według obserwacji Sandmanna i Bögera [65], komórki glonu *Scenedesmus acutus* rosnąc w środowisku zawierającym zwiększoną zawartość jonów Cu^{2+} , mogą gromadzić ten metal w ilościach od 110 do 1000 razy większych w porównaniu z jego ilością normalnie występującą w komórce. Najczęstszymi skutkami zbyt dużej akumulacji miedzi jest ograniczenie wzrostu organów roślinnych (ryc. 1A), obniżenie poziomu oddychania (ryc. 1B), fotosyntezy (ryc. 1C) oraz stymulujące działanie na aktywność niektórych enzymów i syntezę rozpuszczalnych białek (ryc. 1D).

Miedź wnikając do części nadziemnych roślin, gromadzi się głównie w liściach

i chloroplastach [25]. Baszyński i in. [7], badając aparat fotosyntetyczny roślin szpinaku dobrze przystosowujących się do wzrostu na znacznie zwiększonych dawkach miedzi w glebie wykazali, że akumulacja tego metalu w chloroplastach wpływa na wzrost ilości syntetyzowanych barwników chlorofilowych i karotenoidowych, wzrost aktywności I układu fotosyntezy i syntezy plastocjaniny.



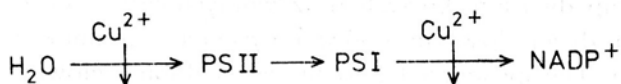
Ryc. 1. Wpływ różnych stężeń CuSO_4 na: A — wzrost korzeni siewek sałaty, B — oddychanie komórek *Chlorella vulgaris*, C — poziom fotosyntezy w komórkach *Chlorella pyrenoidosa*, D — aktywność peroksydazy (1) i katalazy (2) oraz syntezę rozpuszczalnych białek (3) w siewkach sałaty [na podstawie danych zawartych w 46, 49, 52]

Z doświadczeń *in vitro*, w których badano wpływ jonów Cu^{1+} i Cu^{2+} dodawanych w różnych stężeniach do wyizolowanych chloroplastów, wynika, że nadmierne ilości miedzi wnikając do tych organelli powodują:

1. destrukcję błon lipidowych i chlorofilu połączoną z wytwarzaniem etanu i etylenu [64],
2. gwałtowną destrukcję kompleksów chlorofilowo-białkowych [63],
3. zmiany w błonach wywołane tworzeniem kompleksów białek tylakoidowych z miedzią [75],
4. inaktywację ferredoksyny na skutek utleniającego działania miedzi na grupy -SH tego enzymu [68].

Wynikiem takich oddziaływań jonów miedzi z chloroplastami w doświadczeniach *in vitro* jest wyraźna inhibicja transportu elektronów w obu fotosystemach. Według

Sandmanna i Bögera [64] miedź blokuje fotosyntetyczny transport elektronów po utlenionej stronie fotosystemu II- i po zredukowanej stronie fotosystemu I.



Działające w przyrodzie bariery biologiczne powodują, że u niektórych gatunków lub odmian roślin, transport miedzi do części nadziemnych jest ograniczony w wyniku zatrzymywania znacznych ilości tego metalu w korzeniach [8, 21]. Tolerancja tych roślin na toksyczne stężenia miedzi w środowisku jest na ogół dość duża i może jeszcze dodatkowo wzrastać w środowiskach skażonych tym pierwiastkiem. Rośliny te wykazują do takich środowisk szczególną adaptację poprzez wytwarzanie swoistych mechanizmów tolerancyjności. Decydują o tym głównie dwa procesy fizjologiczne rośliny. Jeden z nich, to zdolność do wydalania nadmiaru jonów miedzi z tkanek, a drugi akumulowanie dużych ilości tego metalu w tkankach w formach nietoksycznych. W tym drugim przypadku, tylko część miedzi pozostaje w formie najbardziej toksycznej, czyli jonowej. Większość tego pierwiastka podlega nietrwałej adsorpcji lub silnemu wiązaniu z białkami albo wyłączeniu z ogólnego metabolizmu poprzez odkładanie w przestrzeniach międzykomórkowych, w cytoplazmie czy wakuolach komórek.

Organizmy niższe, np. drożdże wykazując zdolność do redukcji siarczanów, wytworzyły swoisty mechanizm obrony przed nadmiarem wnikającej do ich komórek miedzi [4]. Zaobserwowano, że wzrost komórek drożdży w środowisku zawierającym duże stężenie siarczanu miedziowego, prowadzi do powstania odmiany drożdży tolerancyjnej na toksyczne stężenia tego metalu. Odmiana ta, wytwarza duże ilości siarkowodoru dyfundującego z komórek na zewnątrz, w wyniku czego, na powierzchni błon komórkowych drożdży powstaje coraz obfitsza warstwa granulek siarczku miedziowego.

U komórkach grzybów oraz w tkankach roślin wyższych, zwierząt i człowieka obserwuje się również inne procesy obronne przeciwdziałające naturalnemu lub sztuczному zwiększeniu stężenia jonów Cu^{2+} i Cu^{1+} oraz jonów takich metali jak: Cd^{2+} , Zn^{2+} , Hg^{2+} , Ag^{1+} . Reakcje obronne u tych organizmów polegają na wytwarzaniu drobnocząsteczkowych białek mających zdolność wiązania nadmiaru wolnych jonów metali w nietoksyczne kompleksy. Takie połączenia metali z białkami wykazują niezwykle wysoką zawartość siarki i noszą nazwę metalotionein [44, 61] oraz niezależnie od rodzaju metalu, organizmu czy organu w jakim powstają, wykazują podobne własności. Poznano dotychczas: Cu-tioneiny z komórek *Neurospora crassa* [84], z komórek drożdży [51], z korzeni *Agrostis gigantea* [15, 20], z wątroby szczura [80], Cd-tioneiny soi [13], pomidorów [5], fasoli [77], wątroby i nerki szczura [3, 32, 48, 59, 66, 78, 79], końskiej nerki i wątroby [26], Zn-tioneiny w wątrobie szczura [9, 37, 38], w wątrobie człowieka [12], w komórkach HeLa [27]. Związki te charakteryzują się:

1. niskim ciężarem cząsteczkowym (8—10 kD),
2. znacznie zwiększoną zawartością cysteiny oraz seryny, lizyny i argininy,

- [12] Bühler R. H. O., Kägi J. H. R., 1974. Human hepatic metallothioneins. *FEBS Letters* 39, 229—234.
- [13] Casterline J. L., Barnett N. M., 1977. Isolation and characterization of cadmium-binding components in soybean plants. *Plant Physiol.* 59, S-124.
- [14] Cox J. C., Aasa R., Malmström B. G., 1978. EPR studies on the blue copper protein, rusticyanin. A protein involved in Fe^{+2} oxidation at pH 2.0 in *Thiobacillus ferro-oxidans*. *FEBS Letters* 93, 157—160.
- [15] Curvetto N. R., Rauser W. E., 1979. Isolation and characterization of copper-binding proteins from roots of *Agrostis gigantea* tolerant to excess copper. *Plant Physiol.* 63, 59—68.
- [16] Danny J., Davis and Antony San Pietro, 1979. Preparation and characterization of a chemical modified plastocyanin. *Anal. Biochem.* 95, 254—259.
- [17] Habermann H. M., 1969. Reversal of copper inhibition in chloroplast reactions by manganese. *Plant Physiol.* 44, 331—336.
- [18] Hartzell C. R., Gurd F. R. N., 1969. Formation and spectral properties of copper (II) ion complexes of the NH_2 -terminal pentapeptide from sperm whale myoglobin and of certain tetra- and pentapeptides. *J. Biol. Chem.* 244, 147—153.
- [19] Hill J. M., 1973. The changes with age in the distribution of copper and some copper-containing oxidases in red clover (*Trifolium pratense* L. cv. Dorset clarrgrass). *J. Exp. Bot.* 24, 525—536.
- [20] Hogan G. D., Rauser W. E., 1981. Role of copper binding, absorption, and translocation in copper tolerance of *Agrostis gigantea* Roth. *J. Exp. Bot.* 32, 27—36.
- [21] Jarvis S. C., Jones L. H. P., 1978. Uptake and transport of cadmium by perennial ryegrass from flowing solution culture with a constant concentration of cadmium. *Plant Soil* 49, 333—342.
- [22] Jensen R. G., Bahr J. T., 1977. Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 28, 379—400.
- [23] Jowett D., 1958. Populations of *Agrostis* spp. tolerant of heavy metals. *Nature* 182, 816—817.
- [24] Joyce B. K., Cohn M., 1969. Magnetic resonance studies of the interaction of cupric ion with native and modified forms of ribonuclease. *J. Biol. Chem.* 244, 811—821.
- [25] Kabata-Pendias A., Pendias H., 1979. Pierwiastki śladowe w środowisku biologicznym. Wydawnictwa Geologiczne, Warszawa.
- [26] Kägi J. H. R., Vallee B. L., 1960. Metallothionein: a cadmium and zinc containing protein from equine renal cortex. *J. Biol. Chem.* 235, 3460—3465.
- [27] Karin M., Herschman H. R., 1980. Characterization of the metallothioneins induced in HeLa cells by dexamethasone and zinc. *Eur. J. Biochem.* 107, 395—401.
- [28] Katoh S., 1960. A new copper protein from *Chlorella ellipsoidea*. *Nature* 186, 533—534.
- [29] Katoh S., Suha I., Shirotori I., Takamiya A., 1961. Distribution of plastocyanin in plants, with special reference to its localization in chloroplasts. *Arch. Biochem. Biophys.* 94, 136—141.
- [30] Katoh S., Takamiya A., 1965. Restoration of NADP photoreducing activity of sonicated chloroplasts by plastocyanin. *Biochim. Biophys. Acta* 99, 156—160.
- [31] Kączkowski J., 1980. Utleńianie Biologiczne. *Biochemia roślin.* PWN Warszawa, t. I, 65—76.
- [32] Kimura M., Otaki N., Yoshiki S., Suzuki M., Horiuchi N., Suda T., 1974. The isolation of metallothionein and its protective role in cadmium poisoning. *Arch. Biochem. Biophys.* 165, 340—348.
- [33] Kojima Y., Berger C., Vallee B. L., Kägi J. H. R., 1976. Amino-acid sequence of equine renal metallothionein-1B. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 73, 3413—3417.
- [34] Laskowska-Klita T., 1973. Oksydaza cytochromowa, budowa i funkcje. *Postępy Biochemii* 19, 261—278.
- [35] Lehrer S. S., 1969. Fluorescence and absorption studies of the binding of copper and iron to transferrin. *J. Biol. Chem.* 244, 3613—3617.
- [36] Leonowicz A., 1975. Badania nad indukcją lakazy u niektórych grzybów z klasy *Basidiomycetes*. Rozprawa habilitacyjna, UMCS Wydział Biologii i Nauk o Ziemi.
- [37] Ludany A., Kellermayer M., Jobst K., 1980a. Metal content of rat liver cell organelles. *Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung.* 15, 229—236.
- [38] Ludany A., Kellermayer M., Jobst K., 1980b. Zn-binding protein profile of rat liver cytosol. *Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung.* 15, 237—244.
- [39] Lyszcz S., Ruszkowska M., Wojcieszka U., Zinkiewicz E., 1976. The activity of ascorbic acid

and catechol oxidase, the rate of photosynthesis and respiration as related to plants organs, stage of development and copper supply. *Acta Agrobot.* 29, 99—105.

- [40] Łyszcz S., 1980. Wpływ miedzi na aktywność niektórych oksydoreduktaz miedzioproteidowych w roślinach w różnych fazach rozwoju. Praca doktorska, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach.
- [41] Malmström B. G., Reinhammar B., Vänngård T., 1968. Two forms of copper (II) in fungal laccase. *Biochim. Biophys. Acta* 156, 67—76.
- [42] Malmström B. G., Reinhammar B., Vänngård T., 1970. The state of copper in stellacyanin and laccase from the lacquer tree *Rhus vernicifera*. *Biochim. Biophys. Acta* 205, 48—57.
- [43] Marchesini A., Minelli M., Merkle H., Kroneck P. M. H., 1979. Mavicyanin, a blue copper protein from *Cucurbita pepo medullosa*. Purification and characterization. *Eur. J. Biochem.* 101, 77—84.
- [44] Margoshes M., Vallee B. L., 1957. A cadmium protein from equine kidney cortex. *J. Am. Chem. Soc.* 79, 4813—4814.
- [45] Markossian K. A., Aikazyan V. Ts., Nalbandyan R. M., 1974. Two copper-containing proteins from cucumber (*Cucumis sativus*). *Biochim. Biophys. Acta* 359, 47—54.
- [46] McBrien D. C. H., Hassall K. A., 1967. The effect of toxic doses of copper upon respiration, photosynthesis and growth of *Chlorella vulgaris*. *Physiol. Plant.* 20, 113—117.
- [47] Michalski W., 1975. Dysmutaza ponadtlenkowa. *Postępy Biochemii* 21, 295—317.
- [48] Minko D. T., Poulsen K., Weilgus S., Shaw C. F., Petering D. H., 1980. On the sensitivity of metallothioneins to oxidation during isolation. *Biochem. J.* 191, 475—485.
- [49] Mukherji S., Das Gupta B., 1972. Characterization of copper toxicity in lettuce seedlings. *Physiol. Plant.* 27, 126—129.
- [50] Muszyńska G., 1970. Jony w katalizie enzymatycznej. *Postępy Biochemii* 16, 67—88.
- [51] Naiki N., Yamagata S., 1976. Isolation and some properties of copper-binding proteins found in a copper-resistant strain of yeast. *Plant Cell Physiol.* 17, 1281—1295.
- [52] Nielsen E. S., Kamp-Nielsen L., Wium-Andersen S., 1969. The effect of deleterious concentrations of copper on the photosynthesis of *Chlorella pyrenoidosa*. *Physiol. Plant.* 22, 1121—1133.
- [53] Ozolina G. R., Lapina L. P., 1976. Binding of copper with proteins in plant leaves. *Fizjol. Rast.* 23, 1134—1140.
- [54] Paul K. G., Stigbrand T., 1970. Umecyanin, a novel intensely blue copper protein from horseradish root (*Armoracia lapathifolia*). *Biochim. Biophys. Acta* 221, 255—263.
- [55] Premakumar R., Winge D. R., Wiley R. D., Rajagopalan K. V., 1975a. Copper-induced synthesis of copper-chelatin in rat liver. *Arch. Biochem. Biophys.* 170, 267—277.
- [56] Preamakumar R., Winge D. R., Wiley R. D., Rajagopalan K. V., 1975b. Copper-chelatin: isolation from various eucaryotic sources. *Arch. Biochem. Biophys.* 170, 278—288.
- [57] Ramshaw J. A. M., Brown R. H., Scawen M. D., Boulter D., 1973. Higher plant plastocyanin. *Biochim. Biophys. Acta*, 303, 269—273.
- [58] Reinhammar B., 1970. Purification and properties of laccase and stellacyanin from *Rhus vernicifera*. *Biochim. Biophys. Acta* 205, 35—47.
- [59] Ridlington J. W., Winge D. R., Fowler B. A., 1981. Long-term turnover of cadmium metallothionein in liver and kidney following a single low dose of cadmium in rats. *Biochim. Biophys. Acta* 673, 177—183.
- [60] Rupp H., Voelter W., Weser U., 1974. 270 MHz proton magnetic resonance spectra of metallothionein. *FEBS Letters* 40, 176—179.
- [61] Rupp H., Weser U., 1974. Conversion of metallothionein into Cu-thionein, the possible low molecular weight form of neonatal hepatic mitochondriocuprein. *FEBS Letters* 44, 293—297.
- [62] Ruszkowska M., Łyszcz S., Wojcieszka U., Wolska E., Zinkiewicz E., 1977. Skutki niedoboru miedzi w roślinach intensywnie nawożonych NPK. w: Nowacki E. *Fizjologia i biochemia intensywnie nawożonych roślin*. Puławy 1977, 153.
- [63] Samuelsson G., Öquist G., 1980. Effects of copper chloride on photosynthetic electron transport and chlorophyll-protein complexes of *Spinacia oleracea*. *Plant Cell Physiol.* 21, 445—454.

- [64] Sandmann G., Böger P., 1980a. Copper-mediated lipid peroxidation processes in photosynthetic membranes. *Plant Physiol.* 66, 797—800.
- [65] Sandmann G., Böger P., 1980b. Copper deficiency and toxicity in *Scenedesmus*. *Z. Pflanzenphysiol.* 98, 53—59.
- [66] Shaikh Z. A., Lucis O. J., 1971. Isolation of cadmium-binding proteins. *Experientia* 27, 1024—1025.
- [67] Shichi H., Hackett D. P., 1963. Purification and properties of a blue protein from etiolated mung bean seedlings. *Arch. Biochem. Biophys.* 100, 185—191.
- [68] Shioi Y., Tamai H., Sasa T., 1978. Inhibition of photosystem II in the green alga *Ankistrodesmus falcatus* by copper. *Physiol. Plant.* 44, 434—438.
- [69] Spencer D., Possingham J. V., 1960. The effect of nutrient deficiencies on the Hill reaction of isolated chloroplasts from tomato. *Austral. J. Biol. Sci.* 13, 441—455.
- [70] Sutherland I. W., Wilkinson J. F., 1963. Azurin: a copper protein found in *Bordetella*. *J. Gen. Microbiol.* 30, 105—112.
- [71] Szkolnik M., 1980. Mikroelementy w życiu roślin, PWRiL, Warszawa, 169—188.
- [72] Timperley M. H., Brooks R. R., Peterson P. J., 1973. The distribution of nickel, copper, zinc and iron in tree leaves. *J. Exp. Bot.* 24, 889—895.
- [73] Trojanowski J., 1964. Roślinne oksydazy miedzioproteidowe. *Postępy Biochemii* 10, 93—112.
- [74] Tsangaris J. M., Chang J. W., Martin R. B., 1969. Cupric and nickel ion interactions with proteins as studies by circular dichroism. *Arch. Biochem. Biophys.* 103, 53—58.
- [75] Vierke G., Struckmeier P., 1977. Binding of copper (II) to proteins of the photosynthetic membrane and its correlation with inhibition of electron transport in class II chloroplasts of spinach. *Z. Naturforsch.* 32c, 605—610.
- [76] Walker C. D., Webb J., 1981. Copper in plants: forms and behaviour. w: *Copper in soils and plants*. Eds. Loneragan J. F., Robson A. D., Graham R. D., Academic Press Sydney, New York, London, Toronto, San Francisco, 189—212.
- [77] Weigel H. J., Jager H. J., 1980. Subcellular distribution and chemical form of cadmium in bean plants. *Plant Physiol.* 65, 480—482.
- [78] Weser U., Donay F., Rupp H., 1973. Cadmium-induced synthesis of hepatic metallothionein in chicken and rats. *FEBS Letters* 32, 171—174.
- [79] Weser U., Rupp H., Donay F., Linnemann F., Voelter W., Voetsch W., Jung G., 1973. Characterization of Cd Zn-thionein (metallothionein) isolated from rat and chicken liver. *Eur. J. Biochem.* 39, 127—140.
- [80] Winge D. R., Premakumar R., Rajagopalan K. V., 1975. Metal-induced formation metallothionein in rat liver. *Arch. Biochem. Biophys.* 170, 242—252.
- [81] Winge D. R., Premakumar R., Wiley R. D., Rajagopalan K. V., 1975. Copper-chelatin: purification and properties of a copper-binding protein from rat liver. *Arch. Biochem. Biophys.* 170, 253—266.
- [82] Wishnick M., Lane M. D., Scrutton M. C., Mildvan A. S., 1969. The presence of tightly bound copper in ribulose diphosphate carboxylase from spinach. *J. Biol. Chem.* 244, 5761—5763.
- [83] Wishnick M., Lane D., Scrutton M. C., 1970. The interaction of metal ions with ribulose 1,5-diphosphate carboxylase from spinach. *J. Biol. Chem.* 245, 4939—4947.
- [84] Woolhouse H. W., Walker S., 1981. The physiological basis of copper toxicity and copper tolerance in higher plants. w: *Copper in soil and plants*. Eds. Loneragan J. F., Robson A. D., Graham R. D., Academic Press Sydney, New York, London, Toronto, San Francisco, 235—262.
- [85] Yuferowa S. G., Sayenko G. N., Biochenko E. A., 1969. Copper compounds in plants. *Fizjol. Rast.* 16, 8—13.

Dr ANNA TUKIENDORF

Zakład Fizjologii Roślin, Instytut Biologii UMCS,
ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin