

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
BIOLOĢIJAS FAKULTĀTE
AUGU FIZIOLOĢIJAS KATEDRA

LIELAIS LAIMIŅŠ (*SEDUM MAXIMUM*) KĀ MODEĻSUGA
SMAGO METĀLU IETEKMES UN UZŅEMŠANAS
FIZIOLOĢIJAS PĒTĪJUMOS

Bakalaura darbs

Autors: Irina Jožikova

Stud. apl. Nr. ij11001

Darba vadītājs: prof. Ģederts Ieviņš

RĪGA 2018

KOPSAVILKUMS

Darbā ir apkopota informācija par augu hiperakumulācijas spējām. Darba mērķis bija pārbaudīt iespēju izmantot lielo laimiņu smago metālu ietekmes un uzņemšanas pētījumos kontrolētos apstākļos un eksperimentāli noteikt biogēno metālu varu, cinku, mangānu un nātriju uzkrāšanos augos, kas audzēti metālu dažādu koncentrāciju ietekmē. Fizioloģiskās atbildes pētījumiem mērīja hlorofila saturu un hlorofila *a* fluorescenci, beigās noteica metālu saturu dažādās auga daļās.

Darba rezultātā secināts, ka lielais laimiņš spēj efektīvi uzkrāt mangānu un cinku virsmezes orgānos, mangāns tika uzkrāts lielos daudzumos. Varš un nātrijs arī tika uzkrāti, bet pie lielajām nātrija koncentrācijām tika pamanāmi kavēta augu attīstība un augšana. Hlorofila saturs lapās un hlorofila *a* fluorescences arī tika ietekmēti, bet augi spēja pielāgoties. Lielais laimiņš var būt potenciāli izmantots fitoremediācijas nolūkos.

Atslēgvārdi: lielais laimiņš, fitoekstrakcija, hiperakumulatori, hlorofils, hlorofila *a* fluorescences, atomu absorbcijas spektrofotometrija

SUMMARY

Tallest stonecrop (*Sedum maximum*) as a model species for physiological studies of heavy metal effects and accumulation.

In this paper the information on the abilities of plant hyperaccumulation is summarized. The aim was to examine the possibility to use tallest stonecrop in research of heavy metal influence and uptake in controlled conditions and experimentally determine the accumulation of biogenic metals, - copper, zinc, manganese and sodium in plants, which were grown in the presence of different metal concentrations. To check the physiological reaction, chlorophyll content and chlorophyll *a* fluorescence was measured, in the end metal content in different parts of plants was determined.

The results showed that the tallest stonecrop is able to effectively accumulate manganese and zinc in shoots, big amount of manganese was accumulated. Copper and sodium were accumulated too, but the plants' growth and development was inhibited at the higher concentrations of sodium. Chlorophyll content and chlorophyll *a* fluorescence in leaves also was influenced, but the plants were able to adapt. Tallest stonecrop is the potential candidate in phytoremediation.

Key words: tallest stonecrop, phytoextraction, hyperaccumulation, chlorophyll, chlorophyll *a* fluorescence, atomic absorption spectrophotometry

SATURS

IEVADS	5
1.LITERATŪRAS APSKATS	6
1.1. Smagie metāli vidē.....	6
1.1.1. Biogēnie metāli Cu, Zn, Mn	6
1.1.2. Smago metālu izturība augiem	7
1.1.3. Smago metālu uzkrāšana augos un fitoremediācija	8
1.2. Sedum ģints sugas kā metālu hiperakumulatori	10
1.3. Ar fotosintēzi saistītie parametri augu fizioloģiskā stāvokļa raksturošanai	11
1.3.1. Hlorofila koncentrācija	11
1.3.2. Hlorofila a fluorescence	12
2.MATERIĀLI UN METODES	14
2.1. Augu materiāls.....	14
2.2. Audzēšanas apstākļi un apstrāde	14
2.3. Hlorofila un hlorofila <i>a</i> fluorescences analīzes	15
2.4. Augu ķīmiskās analīzes.....	16
3.REZULTĀTI UN DISKUSIJA	18
4.SECINĀJUMI	30
5.PATEICĪBAS	31
6.LITERATŪRAS SARAKSTS	32

IEVADS

Evolūcijas gaitā daži augi ir attīstījuši spēju augt un attīstīties augsnēs ar pāaugstinātu kāda metāla saturu, un uzkrāt to savos audos. Tādus augus sauc par hiperakumulātoriem, un pēdējā laikā tika attīstītas dažādas tehnoloģijas, kā šo augu īpašības var izmantot, attīrot ar metāliem piesārņotas augsnes. Viena no tām ir fitoekstrakcija.

Daudzu hiperakumulātoru būtiskais trūkums ir tas, ka tie ir specializēti uzkrāt tikai kādu vienu metālu, bet, tā kā mūsdienās atkritumu poligonos un citās industriāli piesārņotās augsnēs ir vairāku dažādu metālu toksiskas koncentrācijas, labākais kandidāts, ko izmantot fitoekstrakcijas nolūkos būtu tāds augs, kurš spēj vienlaicīgi akumulēt vairākus dažādus metālus (Kos et al., 2003).

Tika veikti vairāki pētījumi ar *Sedum* ģints augiem, un secināts, ka daudziem no tiem ir labas vairāku metālu akumulācijas spējas, piemēram, *Sedum alfredii* ir Zn/Pb/Cd hiperakumulātors (Yang et al., 2004).

Šī darba mērķis bija pārbaudīt iespēju izmantot *Sedum maximum* augus smago metālu ietekmes un uzņemšanas pētījumos kontrolētos apstākļos un eksperimentāli noteikt biogēno metālu Cu, Zn, Mn un Na uzkrāšanos augos, kas audzēti metālu dažādu koncentrāciju ietekmē.

Darba uzdevumi bija: 1) iepazīties un analizēt pieejamo informāciju par fitoremediācijas tehnoloģiju un *Sedum* ģints augu hiperakumulācijas spējām; 2) novērot *Sedum maximum* fizioloģisku atbildi uz dažādu metālu klātbūtni augsnē; 3) noteikt no augsnes uzņemto metālu daudzumu pētāmajos augos.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Smagie metāli vidē

Par smago metālu sauc jebkādu metālu, kuram ir salīdzinoši liels blīvums un kurš var būt toksisks pat mazajās koncentrācijās (Tchounwou et al. 2012). Tomēr daudzi no tiem ir dzīvajiem organismiem nepieciešami elementi, tie piedalās dažādās metaboliskajās reakcijās, bet to pārpalikums var novest pie intoksikācijas. Smagie metāli ir bīstami tāpēc, ka tie mēdz bioakumulēties, tas nozīmē, ka to koncentrācija dzīvajos organismos palielinās, jo to metālu uzņemšana notiek ātrāk nekā detoksikācija vai izvade no organisma. Smagie metāli nokļūst vidē industriālo, mājsaimniecisko un citu darbību rezultātā, arī dabas parādības tādas kā vulkāniskā aktivitāte un erozija var būtiski piesārņot vidi ar tiem. Augsnē metāli var atrasties dažādās formās, piemēram, brīvie joni, šķīstošie sāļi, neorganiskie nešķīstošie savienojumi, silikāti (Blaylock & Huang 2000).

1.1.1. Biogēnie metāli Cu, Zn, Mn

Augi sastāv no dažādiem ķīmiskiem elementiem, katrs ar noteiktu funkciju organismā, un kuri tiek saukti arī par biogēniem elementiem. Varš, cinks un mangāns augos atrodas mazos daudzumos, tāpēc šos metālus mēdz saukt arī par mikroelementiem, tomēr arī tiem ir savas svarīgas lomas augu organismā. Viduvēji augos atrodas 1.4 mg vara, 10 mg cinka un 63 mg mangāna uz 100 g sausās masas (Bowen 1966). Atkarībā no elementa funkcijas, dažādās augu daļās, augos un orgānos atrodas atšķirīgas attiecīgā elementa koncentrācijas.

Mangāns (Mn) ir svarīgs mikroelements, kurš spēj brīvi pārvietoties pa auga ksilēmu transpirācijas plūsmā un lielākās koncentrācijās uzkrājas auga lapās un sēklās. Tas piedalās tādos augu fizioloģiskajos procesos kā slāpekļa asimilācijā (tas piedalās nitrātu redukcijā), fotosintēzē (ir iesaistīts elektronu transportā fotosistēmā II), sēklu dīgšanā, saknes šūnu augšanas procesā un tā klātbūtne ir nepieciešama rezistencei pret dažiem sakņu patogēniem (Campbell 1988). Šajos fizioloģiskajos procesos mangāns piedalās, aktivējot atbilstošos enzīmus, un dažreiz mangāna jonu trūkuma gadījumā tas var tikt aizvietots ar citu metālu joniem, piemēram, mangāna un magnija joni ir savstarpēji aizvietojami fosforilācijas, dekarboksilācijas un hidrolīzes reakcijās (Burnell 1988).

Mangāna trūkuma vai pārpalikuma gadījumā simptomus bieži var redzēt uz auga lapām vai augļiem. Ja augs neuzņem pietiekami daudz mangāna no augsnes, var sākties lapu hloroze –

tās paliek dzeltenas, dzīslām paliekot zaļām (McHargue 1922), jo, tā kā mangāns tiek transportēts pa ksilēmas audiem kopā ar ūdeni, tam ir ierobežotas transporta iespējas lapas iekšpusē, un šūnas, kuras atrodas tālāk no dzīslām, visātrāk reaģē uz mangāna trūkumu. Dažreiz uz lapām veidojās brūni plankumi, lapu augšana tiek bremsēta vai apstādināta, notiek priekšlaicīga lapu novecošanās. Stumbrā mangāna trūkuma gadījumā ir mazāk ksilēmas audu.

Cinks (Zn) ir nepieciešams formelements daudzos augu proteīnos, tomēr var būt toksisks, ja tā ir pārāk daudz. No augsnes augi uzņem to jonu formā Zn^{2+} , kur tas no saknēm pārvietojas uz stumbru pa ksilēmas audiem, un to uzņemšanu var inhibēt dzelzs vai mangāns (Broadley et al. 2007). Cinks piedalās proteīnu un aminoskābju metaboliskajās reakcijās, tas ir būtisks triptofāna sintēzē. Tā trūkums var kavēt sakņu attīstību, izraisīt lapu hlorozi, ka arī ietekmēt ar augsni saistītos procesus, jo ir pierādīts, ka normāls cinka daudzums ir nepieciešams augsni daudzuma regulēšanai (Skoog 1940). Cinka trūkums visvairāk ietekmē jaunus augus, un ir novērojami tādi simptomi kā epinastija (augu daļu noliekšanās), lapas var sakrototies un neizgaugt, augu stumbra posmi ir īsi, lapas savietojās rozetē.

Varš (Cu) augos visvairāk atrodas lapās, augļos un sēklās. Aptuveni 70% no vara daudzuma augos atrodas hloroplastos, varš veicina hlorofila veidošanos un kavē tā sadalīšanos tumsā. Vara joni darbojas kā kofaktori daudziem enzīmem, tie piedalās elektronu transportā, ir nepieciešami mitohondriālajai elpošanai un šūnapvalka metabolismam, lielākā daļa no vara funkcijām ir saistīta ar tā iesaistīšanos reducēšanās-oksidēšanās reakcijās (Yruela 2009). Ja augs neuzņem pietiekami daudz vara, šie procesi var tikt apstādināti, augšējās auga lapas paliek dzeltenas un sausas, pazūd turgors (Schubert 1982).

1.1.2. Smago metālu izturība augiem

Augu izturība pret smagajiem metāliem ir spēja augt un attīstīties šo metālu paaugstinātu koncentrāciju klātbūtnē. Ja smago metālu koncentrācija vidē pieaug, tad augos ieslēdzās dažādi adaptācijas mehānismi, kurus var iedalīt divās kategorijās – 1) smago metālu atturēšana vai ierobežošana no iekļūšanas šūnā, kā rezultātā šūnas tiek pasargātas no metālu toksiskas iedarbības, un 2) iekššūnas aizsardzības mehānismu ieslēgšana (Титов и др. 2011).

Svarīga nozīme smago metālu jonu plūsmas ierobežošanā ir šūnapvalkam. Tas immobilizē smago metālu jonus, neļaujot tiem iekļūt citoplazmā. Tādejādi joni vai nu uzkrājas starpsūnu telpā, vai arī tie tiek piesaistīti pie kādiem specifiskām šūnapvalka vietām, piemēram, šūnapvalka pektīni augu saknēs spēj apturēt vairāku smago metālu iekļūšanu citoplazmā. Tomēr

šūnapvalka spējas apturēt smago metālu jonus ir ierobežotas, jo lielās koncentrācijās notiek piesātināšanās ar joniem, un šūnapvalks vairs nespēj izpildīt aizsargfunkciju. Smago metālu plūsmu kavē arī plazmalemma, jo tā neļauj tiem iekļūt tālāk protoplastā. Plazmalemma nodrošina jonu bilances uzturēšanu starp iekššūnas vidi un ārējo vidi, tāpēc tā arī spēj reaģēt uz jonu koncentrācijas izmaiņām (Hall 2002).

Vēl viens izplatīts izturības mehānisms ir helātu izveidošana. Helāti ir kompleksie savienojumi, kuros organiskās vielas tiek savienotas ar metālu joniem. Metālu joni var veidot helātus ar dažādām organiskām skābēm, aminoskābēm (bieži histidīns) u.c. Dažas organiskās skābes, kuras spēj piesaistīt smago metālu jonus, transportē tos tālāk uz vakuolu, kur notiek to kompartmentācija (tie pāriet neaktīvajā formā) un detoksifikācija, kas samazina šo metālu koncentrāciju citoplazmā (Cobbett 2000).

Audu un orgānu līmenī arī ir izveidoti aizsardzības mehānismi, piemēram, sakņu endoderma pasargā virszemes auga orgānus no smago metālu koncentrācijas pieauguma. Tie joni, kuri tomēr nokļūst līdz lapām, uzkrājas pārsvarā epidermas šūnās, un svarīgākie lapas slāņi tiek pasargāti no toksiskas metālu iedarbības, bet, ja tomēr lapās tiek uzkrāts pārāk liels smago metālu daudzums, lapas var tikt nomestas, kas arī ir aizsargmehānisms.

1.1.3. Smago metālu uzkrāšana augos un fitoremediācija

Augus var sadalīt trijās grupās pēc to spējas uzkrāt smagos metālus – akumulatori, indikatori un izslēdzēji (Baker 1981). Akumulatori uzkrāj smagos metālus galvenokārt tajos augu organos, kuri atrodas virs zemes, neatkarīgi no smago metālu koncentrācijas augsnē. Smago metālu koncentrācija, ko uzkrāj indikatori, atspoguļo smago metālu koncentrāciju augsnē. Savukārt, izslēdzēji ir tie augi, kuri smagos metālus uzkrāj galvenokārt saknēs, smago metālu nokļūšana dzinumos un citos orgānos ir ierobežota pat to lielās augsnes koncentrācijās. Lielākā daļa no visām augu sugām ir izslēdzēji, un sakņu spēja apturēt smago metālu jonus ir svarīga adaptācija, lai pasargātu augus no intoksikācijas ar smagajiem metāliem.

Fitoremediācija ir vides attīrīšanas tehnoloģija, kurā tiek izmantoti augi, kuriem ir paaugstināta spēja uzņemt smagos metālus no augsnes vai ūdens vides. Ir trīs fitoremediācijas veidi. Fitoekstrakcija ir augu izmantošana, lai samazinātu toksisko metālu daudzumu augsnē, un tiek izmantoti tādi augi, kuri metālus uzkrāj virszemes orgānos, lai varētu tos vairākkārt nopļaut, izvairoties no metāliem. Nepieciešamības gadījumā metālus ir iespējams arī atgūt ar ekstrakcijas

procedūrām. Vislabākie augi šīm nolūkam ir tie, kuri spēj savos audos sakrāt 2–5% no sausās masas (Brown 1995). Tātad, augiem kuri tiek izmantoti fitoekstrakcijas nolūkos, jāpiemīt sekojošām īpašībām – tiem jāuzkrāj smagie metāli galvenokārt virszemes orgānos, tiem ir jābūt izturīgiem pret uzkrāto metālu, tiem ātri jāaug un jābūt lielai biomasai un ātri jāataug pēc nopļaušanas (Gupta et al. 2011). Vēl viens fitoremediācijas veids ir rizofiltrācija – augu sakņu izmantošana, lai attīrītu ar metāliem piesārņotus ūdeņus. Efektīvākie ir tādi augi, kuriem ir attīstīta sakņu sistēma, kura aizņem lielas platības un tie spēj ātri reģenerēt. Piesārņotās augsnes bieži ir nabadzīga veģetācija, un tā rezultātā var notikt augsnes erozija un smago metālu izplatīšanās tālāk vidē. Fitostabilizācija ir augu izmantošana, lai samazinātu smago metālu pieejamību vidē, tādējādi ierobežojot šo metālu nokļūšanu tālāk barības ķēdē (Salt et al. 1995). Pat, ja šie augi uzņem maz vai vispār neuzņem smagos metālus, tie ir derīgi fitostabilizācijas nolūkos, ja ir izturīgi pret šiem metāliem un spēj augt attiecīgos apstākļos.

Fitoremediācijai piemīt vairākas priekšrocības – tā tiek izmantota *in situ*, tā ir zaļā tehnoloģija, un to var izmantot, attīrot augsni no vairākiem dažādiem metāliem. Attīrot augsni ar fitoremediācijas metodēm, augsne nav nekur jātransportē, un pēc attīrīšanas tā paliek turpmāk izmantojama, un tas ir arī viens no iemesliem, kāpēc šī metode ir salīdzinoši lēta. Kā bija minēts augstāk, viens no fitoremediācijas veidiem paredz smago metālu apturēšanu no izplatīšanas vidē, kas būtiski atvieglo turpmāko attīrīšanu un samazina piesārņojumu. Liels labums ir arī tas, ka augos uzkrātos metālus var viegli atgūt un izmantot vēlreiz, kas samazina metālu daudzumu, kas tiek aizvesti uz atkritumu poligoniem. Kā papildus priekšrocību var pieminēt arī to, ka ar fitoremediācijas tehniku attīrījamie laukumi izskatās estētiski pievilcīgāki (McIntyre 2003).

Tomēr fitoremediācijai ir arī daži ierobežojumi. Jāpiemin, ka no visām attīrīšanas tehnoloģijām šī ir vislētākā, jo dažreiz ir nepieciešamas vairākas sezonas, lai pilnīgi attīrītu kādu platību, tāpēc to nevar izmantot, ja piesārņojums apdraud apkārtējo vidi, cilvēku veselību, un no tā ir steidzami jāizvairās. Augiem hiperakumulātoriem bieži piemīt īpašība labi uzkrāt tikai kādu vienu metālu, tāpēc augsnēs, kuras ir piesārņotas ar vairākiem smagiem metāliem, fitoremediācijas metode nav ļoti efektīva, vai atkal prasa vairāk laika. Klimats un temperatūra arī var ietekmēt augu spēju uzkrāt metālus un augt – aukstākās temperatūrās augiem bieži ir mazāka biomasas, augi var būt jutīgi pret slimībām un kaitēkļiem, bet ar ģenētiskām modifikācijām ir iespējams risināt šīs problēmas, tāpēc fitoremediācijas metode var tikt piemērota daudzos gadījumos, un, pareizi izvēloties augu sugu, var efektīvi attīrīt augsni no smagajiem metāliem (Vara Prasad & de Oliveira Freitas 2003).

1.2. *Sedum* ģints sugas kā metālu hiperakumulatori

Sedum ir plaši izplatīta augu ģints, kas pieder pie biezlappju dzimtas (Crassulaceae), ar sukulentām lapām. Latvijā ir sastopamas 5 šīs ģints sugas – lielais laimiņš (*Sedum maximum*), parastā čīkstene (*Sedum telephium*), kodīgais laimiņš (*Sedum acre*), maigais laimiņš (*Sedum sexangulare*) un baltais laimiņš (*Sedum album*) (Latvijas daba 2018). Tā kā augi ir sukulenti un spēj augt sausās vietās (kāpās, mežmalās, dzelzsceļmalās), tie potenciāli varētu būt augi, kas spēj uzkrāt smagos metālus.

Dažas augu sugas, kuras tiek sauktas arī par hiperakumulatoriem, spēj uzņemt un uzkrāt 10–100 reižu lielākas smago metālu koncentrācijas, nekā lielākā daļa augu (Brooks et al. 1977), kā rezultātā attīstījusies augsnes attīrīšanas tehnoloģija, ko sauc par fitoekstrakciju (Chaney 1983). Tika veikti vairāki pētījumi ar *Sedum* ģints augiem, no raktuvju rajoniem, lai noskaidrotu, kā tie reaģē uz smago metālu esamību augsnē, vai tie spēj augt un attīstīties, uzkrājot metālus un vai tie varētu būt izmantojami fitoekstrakcijas nolūkos.

Lielākajā daļā no vietām, kas piesārņotas ar smagiem metāliem, ir atrodamas vairāku smago metālu toksiskas koncentrācijas (īpaši atkritumu poligoni, kuri ir piesārņoti ar tādiem metāliem kā Cd, Cr, Cu, Mg, Ni, Pb, Zn). Tāpēc daudzas no hiperakumulatoru augu sugām nebūs efektīvas, attīrot piesārņojumu tādās vietās, jo tie bieži ir specializēti uz viena metāla uzkrāšanu (Hassan & Aarts 2011). Tādēļ tiek meklētas tādas augu sugas, kuras pietiekami efektīvi spēj vienlaicīgi uzņemt vairākus dažādus metālus no piesārņotām augsnēm.

Labas akumulācijas spējas uzrādīja tādas divas *Sedum* ģints sugas kā *Sedum alfredii* un *Sedum plumbizincicola* no DA Āzijas (Yang et al. 2014). Tā kā tie ir sukulenti augi, tos var izmantot fitoekstrakcijas nolūkos sausajā klimatā. *S. alfredii* uzrādīja augstas cinka un kadmija hiperakkumulācijas spējas, kas ir būtiski arī tāpēc, ka ļoti maz augu tiek pieskaitīti pie Cd hiperakkumulatoriem, līdz šim tās bija tikai divas augu sugas – *Thlaspi caerulescens* (Zhao et al. 2003) un *Arabidopsis halleri* (Brooks 1998). Ir pierādīts arī, ka *S. alfredii* metālu uzņemšanas kapacitāte pāaugstinās Cd klātbūtnē – tiek efektīvāk uzņemts Zn un Fe, tāpēc šī suga ir Cd/Zn koakumulators. Tā spēj uzņemt arī Pb. Izmantoja dažādas metodes, lai pārbaudītu *S. alfredii* spēju akumulēt Cd un Zn. Augsnēs, kuras ir piesārņotas ar smagiem metāliem, bieži trūkst augiem nepieciešamo barības elementu, tādu kā N, K, P, tāpēc tika pārbaudīts, vai, mēslojot ar šiem elementiem augsni, tiks veicināta smago metālu uzņemšana *S. alfredii*. Tika secināts, ka audzēšanas apstākļi un citas vielas augsnē var pozitīvi vai negatīvi ietekmēt uzņemto metālu daudzumu, piemēram, mēslojot augus ar fosforu, tika palielināta Zn uzņemšana, bet samazināta

Cd uzņemšana, bet kopējā tendence bija tāda, ka NKP mēslojumi pozitīvi ietekmēja uzņemto metālu daudzumu (Gupta et al. 2011). Augi tika vairākkārt nogriezti gada laikā, un virszemes orgānos tika noteikts uzņemto metālu daudzums, un ievērota sezonāla atkarība – ziemā biomasa un uzņemto metālu daudzums bija stipri mazāks nekā vasarā. *S.plumbizincicola* spēj diezgan efektīvi akumulēt Pb, Zn un Cd (Merlot et al., 2018), un tā sugas nosaukums "*plumbizincicola*" arī nāk no svina un cinka latīniskajiem nosaukumiem, jo pirmoreiz tas tika atklāts Pb un Zn metālu raktuvju tuvumā.

Tika veikti pētījumi arī ar citām *Sedum* ģints sugām, tādām kā *Sedum mexicanum*, *Sedum rubrotincum*, *Sedum sediforme*, *Ssedum spectabile* u.c. Daudzas no tām parādīja spēju uzņemt tādus metālus kā Cd, Cu, Ni, Pb un Zn, un uzkrāt dzinumos, bet šo augu metālu koncentrācijas - biomasas attiecības bija mazas, salīdzinot ar divām iepriekšminētajām *Sedum* sugām un dažiem citiem sukulentiem, tāpēc to fitoremediācijas potenciāls vēl ir apstrīdams (Zhang et al. 2015)

1.3. Ar fotosintēzi saistītie parametri augu fizioloģiskā stāvokļa raksturošanai

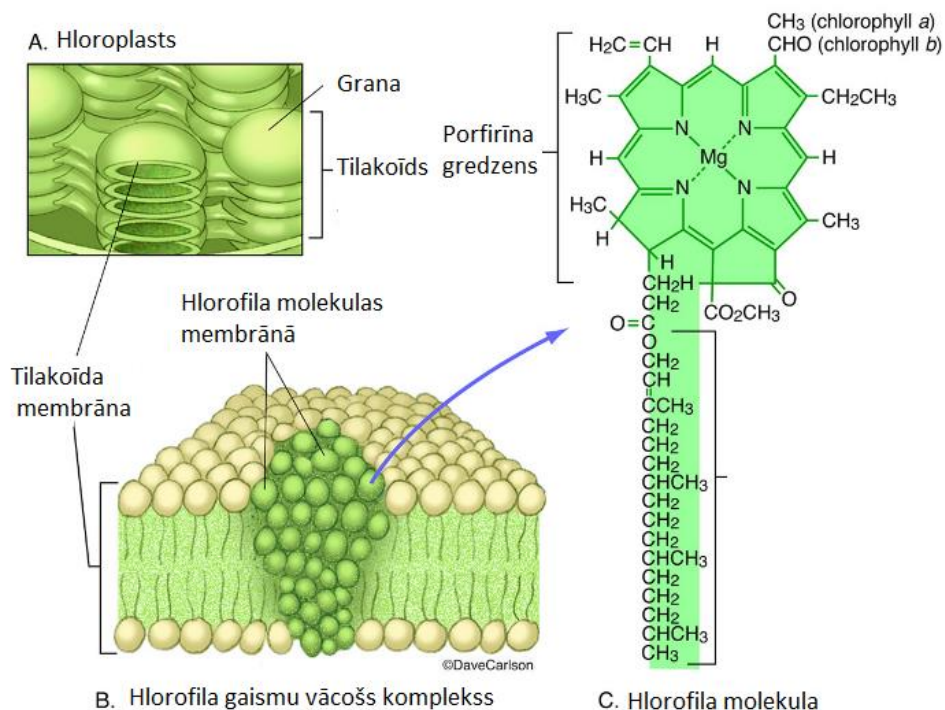
Fotosintēze ir augos notiekošs process, kurš nodrošina to dzīvotspēju. Fotosintēzes laikā augi izmanto gaismas enerģiju un neorganiskās vielas, lai pārvērstu to ķīmisko saišu enerģijā, šo procesu nodrošina galvenokārt hlorofils *a*. Fotosintēzes process ir jutīgs pret dažādām izmaiņām augu fizioloģijā, jo, piemēram, hlorofila daudzums mēdz mainīties stresa ietekmē, tāpēc fotosintēzes ietekmētos procesus var izmantot, lai raksturot augu fizioloģisko stāvokli (Haboudane et al. 2002).

1.3.1. Hlorofila koncentrācija

Hlorofils ir zaļais augu pigments, kurš atrodas hloroplastos, kur arī notiek fotosintēzes process. Hlorofila molekula sastāv no četriem pirola gredzeniem (1.att), kuri kopā veido porfirīnstuktūru, kuras vidū atrodas Mg atoms (Maclachlan & Zalik 1963). Gaismas uztveršana un ATP sintēze notiek tilakoīdu membrānās. Izšķir vairākus hlorofila veidus, bet svarīgākais augstākajiem augiem ir hlorofils *a*, kuram trešajā porfirīna gredzena pozīcijā atrodas metilgrupa. Tas absorbē gaismu zilajā un sarkanajā spektra daļā.

Hlorofila koncentrācija augos ir viegli izmērama, arī ar neinvazīvajām metodēm (optiskās metodes), un tas kalpo par rādītāju fotosintētiskai kapacitātei (Palta 1990), un mainās atkarībā no dažādiem faktoriem, piemēram, temperatūra un sezonālitate (Daas et al. 2008), gaisa

piesārņojums. Lapu attīstības gaitā hlorofila saturs tajās arī mainās – izaugušajās lapās ir vairāk hlorofila nekā jaunajās, bet novecojušajās lapās vairāk ir citu krāsu pigmentu (Silla et al. 2010).



1.attēls. Hlorofila molekulāra struktūra. (<https://www.carlsonstockart.com/photo/chlorophyll-complex-structure-molecular-structure/>)

Figure 1. The molecular structure of chlorophyll.

Smago metālu pieejamība augsnē arī ietekmē hlorofila saturu lapās. Tie var inhibēt kādu fotosintētisko enzīmu, vai tieši izraisīt kāda nepieciešama minerāla trūkumu (van Assche & Clijsters 1990). Pētījumā ar dārza pupiņām (*Phaseolus vulgaris*) tika pārbaudīts, kā mainijās hlorofila daudzums tādu metālu ietekmē, kā Pb, Cu, Hg un Cd. Visu šo metālu augstas koncentrācijas augsnē izraisīja būtiskas hlorofila daudzuma samazināšanos pupiņu lapās, bet palielinājās hlorofila *a/b* attiecības (Zengin & Munzuroglu 2005). Analogiskos pētījumos ar graudzālēm (Ewais 1997), kurām ir augsta tolerance pret smagiem metāliem, arī samazinājās hlorofila daudzums lapās.

1.3.2. Hlorofila *a* fluorescence

Fluorescence ir starojums, kas rodas gaismas absorbcijas rezultātā. Kad gaismas kvants nonāk uz hlorofila molekulas, daļu no šī kvanta enerģijas absorbē viens hlorofila molekulas elektrons, kā rezultātā tas pāriet uz augstāko enerģētisko līmeni un hlorofila molekula tiek

ierosināta, un šajā stāvoklī tā atrodas ap 10s, un pēc tām atgriežas stabilā stāvoklī. Šīs atgriešanās rezultātā arī tiek saražota enerģija, daļa no kuras aiziet fotosintēzē, daļa tiek izdalīta siltumā un daļa tiek pārvērsta fluorescencē (Krause & Weis 1984). Augstākajos augos fotosintēze ir efektīvāka, kad hlorofils *a* absorbē gaismu, hlorofila *b* un pārējo pigmentu loma nav tik ļoti nozīmīga. Šie trīs procesi nenotiek neatkarīgi, piemēram, ja vairāk enerģijas tiek patērētas fluorescencē, tas nozīmē, ka uz pārējiem diviem procesiem tērējās mazāk enerģijas, tāpēc pēc hlorofila fluorescences var secināt par fotoķīmisko procesu efektivitāti (Murchie & Lawson 2013). Tika pierādīts, ka fluorescences intensitāte ir apgriezti proporcionāla CO₂ asimilācijas ātrumam (Kautsky & Hirsch 1931). Fluorescences gaismas viļņa garums ir vienmēr lielāks nekā absorbētai gaismai, un hlorofilam tā ir spektra sarkanajā diapazonā.

Hlorofila fluorescenci ir diezgan viegli izmērīt, un mērījuma gaitā tiek noteikti vairāki parametri, pēc kuriem arī var spriest par fotoķīmisko procesu intensitāti. Tas, vai no gaismas saņemtā enerģija tiks izmantota fotosintēzē, nosaka reakcijas centra (RC) stāvoklis. Fotosistēmā II reakcijas centrā ir tādu metālu atomi, kā Mn, Ca un Cl. Sākotnējo, fona fluorescences līmeni F₀ mēra, kad visi reakcijas centri ir iedarbināti un gatavi pieņemt elektronu no P680 (fotosistēmas II donors, kas sastāv no divām hlorofila *a* molekulām). Bet ja tiek spīdināta spoža gaisma un visas molekulas ir reducētas, visi RC ir noslēgti, tad saņemtā enerģija realizējas lielākoties fluorescencē, un tā ir F_m vērtība. F_v – variablā fluorescences ir F_m un F₀ starpība, un attiecība F_v/F_m tiek plaši izmantota kā funkcionālo fotosintētisko procesu rādītājs (Лысенко и др. 2013), jo šis rādītājs ir jutīgs pret fotosintēzes gaismas fāzes inhibēšanu, kas savukārt mainās augos stresa apstākļos.

2.MATERIĀLI UN METODEDES

2.1. Augu materiāls

Eksperimentā izmantoja 30 *Sedum maximum* augus, kurus veģetatīvi pavairoja no Ēlandes salas (Zviedrija) piekrastē ievākta auga dzinuma (2.att.). Eksperimenta uzsākšanas brīdī, kad tika veikta apstrāde ar metālu sāļiem, katram augam bija attīstījušies divi vai trīs lapu pāri.

S. maximum ir Eirāzijā plaši izplatīta suga, Latvijā izplatīta reti pa visu teritoriju. Tie ir samērā vidēji pēc izmēra augi (~30cm) ar sukulentām lapām un resnu, kīļveida sakni, aug sausās vietās, priežu mežos, uz dolomītiem (Latvijas Daba 2018).



2. attēls. Ievāktais *Sedum maximum* indivīds dabiskajā augtenē jūras ietekmētajā biotopā uz sanesumiem Ēlandes salas piekrastē (Zviedrija).

Figure 2. *Sedum maximum* harvested in a natural habitat influenced by sea at the coast of Öland Island(Sweden).

2.2. Audzēšanas apstākļi un apstrāde

Visus augus stādīja 1.2 L plastmasas konteineros kvarca smilts/melnzemes (Biolan) maisījumā (1:1), pa vienam augam uz konteineru. Tabulā 1. redzams, kuri no augiem bija apstrādāti ar kādiem sāļiem, un to koncentrācijas. Variantos ar mazajām koncentrācijām (varianti B,D,F,H) ieleja visu vielas daudzumu vienā reizē, šķīdinot to 250 – 300 mL dejonizēta ūdens(katram konteineram), variantos ar lielajām koncentrācijām pirmajā reizē ieleja pusi no vielas daudzuma, atlikušo daļu pēc nedēļas. Vēl pēc nedēļas uzsāka mērījumus, augus audzēja

sešas nedēļas, ceturtajā nedēļā augiem uzleja pa 250 mL barības šķīdumu (zaļais Kristalon, 150 g L⁻¹, 50 mL uz 7 L⁻¹).

Var. Nr.	Metāls	Viela	Mol. konc.	Metāls g L ⁻¹	Viela g L ⁻¹	Augu skaits
A	Kontrole	–	0	0	0	3
B	Cu	CuSO ₄ 5H ₂ O	1.6 mM	0.1	0.39	3
C	Cu	CuSO ₄ 5H ₂ O	16 mM	1.0	3.9	3
D	Zn	ZnSO ₄ 7H ₂ O	3 mM	0.2	0.88	3
E	Zn	ZnSO ₄ 7H ₂ O	15 mM	1.0	4.4	3
F	Mn	MnSO ₄ H ₂ O	3.6 mM	0.2	0.6	3
G	Mn	MnSO ₄ H ₂ O	18 mM	1.0	3.1	3
H	Na	Na ₂ SO ₄ 10H ₂ O	25 mM	1.15	8.06	3
I	Na	Na ₂ SO ₄ 10H ₂ O	50 mM	2.3	16.11	3
J	Na	Na ₂ SO ₄ 10H ₂ O	100 mM	4.6	32.22	3

Tab.1. *Sedum maximum* dažādu variantu audzēšanas apstākļi

Table 1. *Sedum maximum* growing conditions

2.3. Hlorofila un hlorofila *a* fluorescences analīzes

Katru nedēļu piecu nedēļu garumā veica hlorofila un hlorofila *a* fluorescences analīzes.

Hlorofila mērījumus veica ar OPTI-SCIENCES CCM-300 ierīci (Gittelson et al., 1999). Ieliekot analizējamā auga lapu starp ierīces detektoriem, tiek noteikts hlorofila daudzums, Mērījumus veica katra auga divām lapām, izvēloties pēc iespējas lielākās un zaļākās lapas, detektorus ievietoja starp lapas malu un vidu, netrāpot uz lielajām dzīslām.

Tām pašām lapām mērīja arī hlorofila *a* fluorescenci, ar Handy Pea ierīci. Sākumā uz katras analizējamās lapas uzlika speciālu klipši, arī netrāpot uz lapu dzīslām. Klipša vienā pusē atrodas slēdža plāksne, kura jānoslēdz pēc klipša uzlikšanas, un kurai jāatrodas lapas augšpusē. Plāksne novērš gaismas iekļūšanu uz analīzējamā lapas laukuma, un notiek tumsas adaptācija, tāpēc pirms mērījumu uzsākšanas jāgaida vismaz 15 minūtes (Maxwell & Johnson 2000). Pēc tam, uzliekot uz klipša detektoru un atverot slēdzi, veica mērījumu.

Paralēli hlorofila un hlorofila *a* fluorescences mērījumiem katru nedēļu veica augsnes elektrovadītspējas mērījumus katram augam, ar WET-2 sensoru, ik pa četriem mērījumiem uz konteineru. To bija nepieciešams darīt, lai kontrolētu, vai eksperimenta procesā samazinās metālu

daudzums augsnē – redzot, vai elektrovadītspēja ar katru nedēļu paliek mazāka, var secināt, ka augi šos metālus no augsnes uzņem, bet to, cik daudz un kurās auga daļās tiek uzkrāts metāls, nosaka ar zemāk aprakstītajām metodēm.

2.4. Augu ķīmiskās analīzes

Eksperimenta beigās veica augu ķīmiskās analīzes, lai noskaidrotu, cik daudz un kurās auga daļās tika uzkrāti pētamie smagie metāli. Lai to izdarītu, katru augu sadalīja 4 daļās – saknes, stumbrs, vecās lapas (jeb tās, kuras bija attīstījušas jau pirms apstrādes ar metālu jonu substrātu) un jaunās lapas, lai redzētu, kā metāls tiek uzkrāts jau esošās lapās, un kā tiek attīstītas jaunās lapas ar metālu augsnē. Augu daļas nosvēra, tad tās žāvēja četras diennaktis žāvēšanas skapī 60 °C temperatūrā, un augiem noteica sauso masu. Strādājot ar augiem, kuri tika pakļauti Cu, Zn un Mn iedarbībai (varianti no B līdz G) un kontroli (A), veica sekojošas darbības. Katra varianta augu daļas salika kopā un samala; to bija pieļaujams darīt, jo augiem varianta ietvaros bija savstarpēji salīdzināmas atsevišķo daļu sausas masas, tāpēc salikot tās kopā, ieguva vidējo no visiem. Vienu augu variantā vienu paraugu ar krasi atšķirīgām vērtībām bija jānoņem. No katra samaltā parauga iesvēra 1 g pulvera, iegūstot katram variantam pa vienam paraugam no saknēm, stumbriem, vecām lapām un jaunām lapām. Katru paraugu iesvēra kvarca bloidiņā, kuras pēc tam karsēja 250–300 °C temperatūrā, aptuveni 20 min, tad 1–5 min paraugus karsēja uz spēcīgāka karsētāja 350–400 °C, lai daļiņas pilnīgi pārlogtos. Pēc šī soļa katru paraugu pilnīgi mineralizēja, laižot caur to slāpekļskābes (HNO₃) tvaikus, jo tas ir daudz spēcīgāks oksidētājs par skābekli. Tad pelnus aplēja ar vāju sālsskābes HCl šķīdumu, kurā arī tika izšķīdināti iegūtie sausie sāļi, šķīdumus pārnesa kolbās caur filtrpapīru, un vēl pāris reizes aplēja ar HCl šķīdumu, un tad katru paraugu uzpildīja līdz 25 mL lielam tilpumam ar destilēto ūdeni, un šiem šķīdumiem arī veica spektroskopiskās analīzes.

Lai katrā šķīdumā noteiktu Zn, Cu un Mn daudzumus, izmantoja atomu absorbcijas spektrofotometrisko metodi, strādājot ar atomu absorbcijas spektrofotometru Perkin Elmer 403 acetilēna-gaisa liesmā. Spektrofotometra darbības princips balstās uz gaismas plūsmas uzsūkšanu – metāla atomi, kas atrodas analizējamajā šķīdumā liesmas ietekmē tiek pacelti augstākajā enerģētiskajā līmenī, kā rezultātā tiek izraisīta gaismas plūsmas absorbcija, ko arī mēra spektrofotometrs. Lai ierīce varētu izrēķināt metāla koncentrāciju analīzējamajā šķīdumā, tajā liek arī standartšķīdumu.

Deviņiem pārējiem augiem (variācijas no H līdz J), kā arī kontrolei, noteica nātrija un kālija koncentrācijas ar LAQUAtwin jonu sensitīvajiem sensoriem. Mērījumus veica katra varianta individuālajiem augiem atsevišķi. Augu materiālu sasmalcināja ar rokām vai šķērēm, paraugu randomizēja – sīkās daļiņas samaisīja, un iesvēra 0.2 g materiāla. Paraugu ievietoja porcelāna tīģelī, pievienoja ~0.5 g kvarca smilšu, un tad paraugs saberza līdz viendabīgai struktūrai. Tīģelī ielēja 10 mL dejonizēta ūdens, un vienu minūti paraugu maisīja ar piestiņu. Pēc tam paraugu nofiltrēja caur kaprona audumu un filtrātu tālāk izmantoja jonu analīzei. Izmantoti trīs sensorus – nātrija jonu sensoru (LAQUAtwin B-722), kālija jonu sensoru (LAQUAtwin B-731) un elektrovadītspējas sensoru (LAQUAtwin B-771). Uz katra sensora uzpilināja 0.4 ml filtrāta, sagaidīja, kamēr rezultāts stabilizēsies, un tad to fiksēja. Katru mērījumu atkārtoja trīs reizes, pēc katra mērījuma noskalojot sensorus ar dejonizētu ūdeni. Pēc katra parauga ar dejonizētu ūdeni noskaloja arī traukus un kaprona audumu.

3.REZULTĀTI UN DISKUSIJA

Visa eksperimenta laikā augi auga un attīstījās, 3.attēlā redzami augi fotografēti eksperimenta otrajā nedēļā, var redzēt nelielas atšķirības izmērā un krāsā. Savukārt eksperimenta beigās uzņemtajā attēlā(4.att.), labāk redzams metālu sāļu efekts, piemēram, var redzēt, ka ar Na apstrādātie augi gandrīz neizauga, ka arī, ka auga izmērs lielu metāla koncentrāciju apstrādes variantos bija mazāks nekā attiecīgā auga izmērs mazākā metāla koncentrācijā (B un C, D un E). Bija novērojamas arī pazīmes, kas liecina par metālu toksiskumu– ar Na apstrādātie augi bija bālāki, ar Mn apstrādātiem augiem uz lapām bija tipiski plankumi(5.att.)



3. attēls. Tipisko augu morfoloģija 16. III. No kreisās: kontrole, Cu 0.1, Cu 1.0, Zn 0.2, Zn 1.0, Mn 0.2, Mn 1.0, Na 1.15, Na 2.3, Na 4.6 (metāla koncentrācija g L^{-1} sulfāta sāļu veidā).

Figure 3. Typical morphology of the plants 16.III. (From the left: control, Cu 0.1, Cu 1.0, Zn 0.2, Zn 1.0, Mn 0.2, Mn 1.0, Na 1.15, Na 2.3, Na 4.6(concentration in g L^{-1} sulphate salts).



4. attēls. Tipisko augu morfoloģija 3. IV. No kreisās: kontrole, Cu 0.1, Cu 1.0, Zn 0.2, Zn 1.0, Mn 0.2, Mn 1.0, Na 1.15, Na 2.3, Na 4.6 (metāla koncentrācija g L^{-1} sulfāta sāļu veidā).

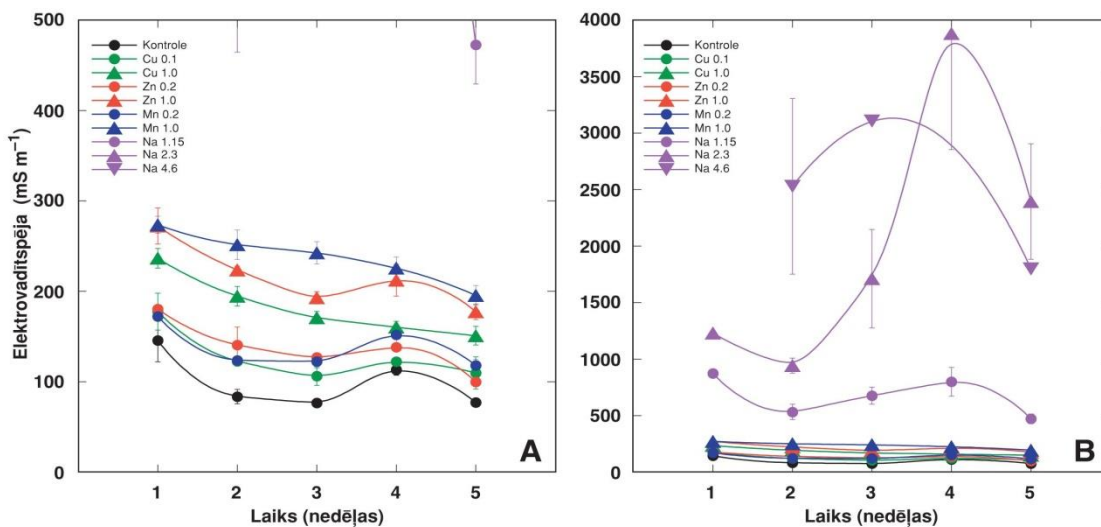
Figure 4. Typical morphology of the plants 3.IV. (From the left: control, Cu 0.1, Cu 1.0, Zn 0.2, Zn 1.0, Mn 0.2, Mn 1.0, Na 1.15, Na 2.3, Na 4.6(concentration in g L^{-1} sulphate salts).



5. attēls. Mn (1 g L^{-1}) izraisītā toksiskuma pazīmes uz augu lapām un dzinumu galotnēm.

Figure 5. Mn (1 g L^{-1}) signs of toxicity on the leaves and the apex of the shoot.

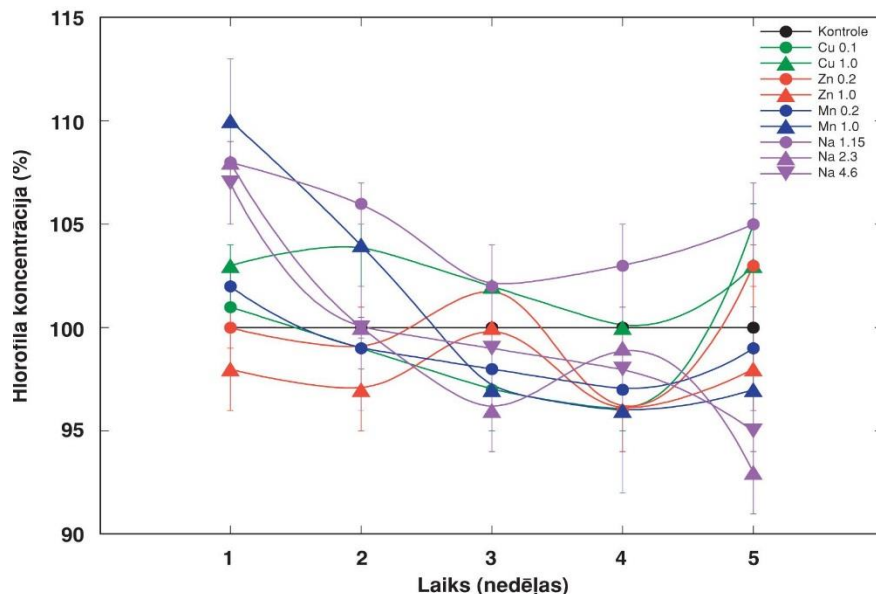
Katru nedēļu veicot augsnes elektrovadītspējas mērījumus tika novērots, ka augsnes elektrovadītspēja variantiem no A līdz G pakāpeniski samazinājās (6.att.A), kas nozīmē to, ka metālu daudzums augsnē samazinājās, un tāpēc var secināt, ka augi tos ir uzņēmuši savos audos. Neliels elektrovadītspējas kāpums 4.nedēļā skaidrojams ar Kristalon barības vielas pievienošanu (tas ir NKP maisījums, un kālijs tajā arī paaugstināja elektrovadītspēju). Elektrovadītspējas kāpums redzams arī 4.nedēļā (6. att. B), bet kopumā rezultāti nav labi interpretējami, jo ekstrēmā augsnes sāļuma dēļ bieži vien neizdevās veikt četrus atkārtojumus ar mērierīci.



6. attēls. Augsnes elektrovadītspējas izmaiņas augu kultivēšanas laikā. A) kontrole un apstrādes varianti ar Cu, Zn, Mn; B) apstrādes varianti ar Na.

Figure 6. Changes in electrical conductivity of the soil during the cultivation. A) control and variances with Cu, Zn, Mn; B) variances with Na.

Attēlā 7. ir redzama relatīvā hlorofila koncentrācijas maiņa laika gaitā attiecībā pret kontroli. Pirmajā mērījumu nedēļā visiem apstrādes variantiem, izņemot Zn, bija novērojama vislielākā hlorofila koncentrācija, otrajā nedēļā šie rādītāji nokritās. Straujākais kritums, ka arī vismazākā relatīvā koncentrācija eksperimenta piektajā nedēļā bija diviem variantiem, kuri bija



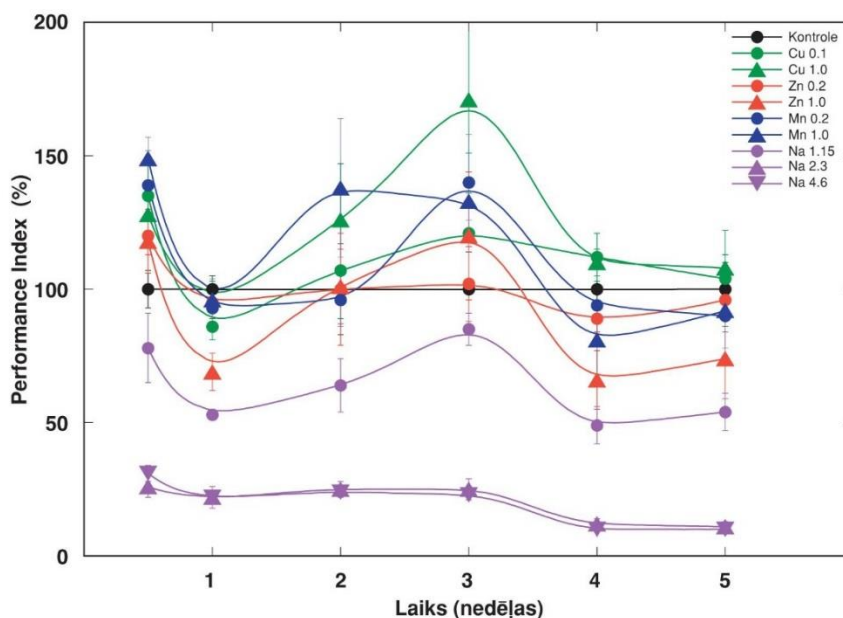
7. attēls. Lapu hlorofila koncentrācijas relatīvās izmaiņas kultivēšanas laikā atkarībā no apstrādes.

Figure 7. Relative changes in the concentration of chlorophyll in leaves.

apstrādāti ar lielajām Na koncentrācijām – 2.3 g un 4.6 L⁻¹. Augu reakcija uz nātriju bija līdzīga kā uz sausumu – audi zaudēja ūdeni palielinātās sāļu koncentrācijas dēļ. Apstrādes variantam ar mazāku Na saturu (1.15) hlorofila koncentrācija tik strauji nemainījās. Apstrādes variantiem ar Zn bija novērojams hlorofila koncentrācijas kāpums trešajā nedēļā, kritums ceturtajā, un atkārtotais kāpums piektajā; variantam ar mazāko Zn koncentrāciju šis kāpums bija daudz straujāks, kas arī sakrīt ar teoriju, ka mazās cinka koncentrācijās pozitīvi ietekmē hlorofila koncentrāciju (Wang et al. 2009). Hlorofila koncentrācijas apstrādes variantiem ar varu un mangānu arī bija raksturīgs kritums trešajā un ceturtajā nedēļā, bet pēc tam atkal kāpums, kas varētu norādīt uz to, ka notika adaptācija. Attēlā arī redzams, ka eksperimenta beigās apstrādes variantiem ar mazāku metālu koncentrāciju bija lielāka hlorofila koncentrācija, nekā attiecīgā metāla apstrādes variantiem ar lielāku vielas daudzumu.

Hlorofila *a* fluorescences rādītāja *Performance Index* (PI) relatīvās izmaiņas procentos attiecībā pret kontroli redzamas 8. attēlā. PI parāda auga kopējo fotoķīmisko efektivitāti (Handy Pea Manual, 2006). Te arī novērojams mazs PI salīdzinot ar kontroli diviem Na apstrādes variantiem, kas ir ~25% no kontroles PI. Tas parāda, ka augi nespēj adaptēties šiem apstākļiem.

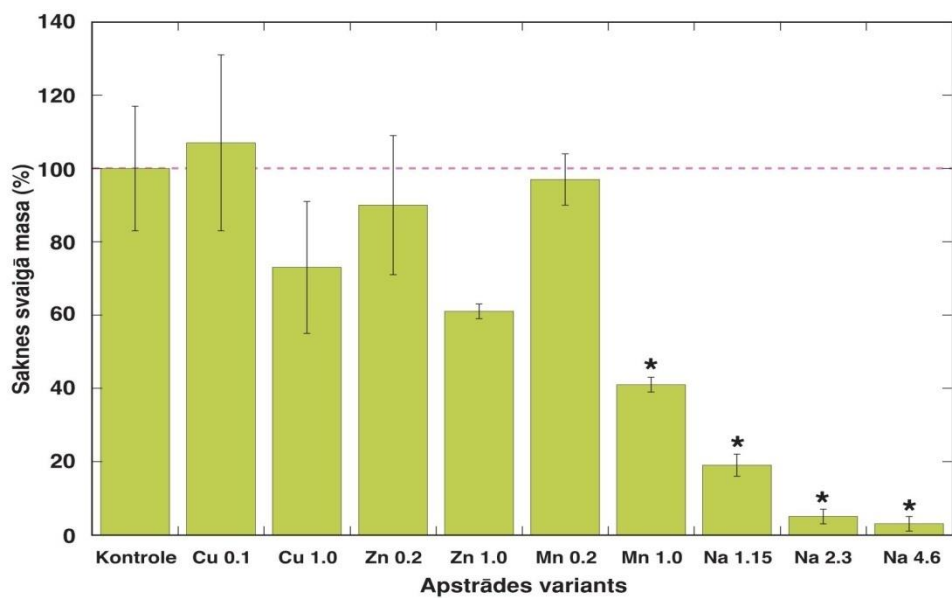
Tas skaidrojams ar to, ka nepietiekams ūdens daudzums negatīvi ietekmē PI vērtības (Živčák et al. 2008), un nātrijs traucē ūdens uzņemšanu. Trešajā nedēļā bija novērojams kāpums visiem apstrādes variantiem, taču pēc tam PI sāka samazināties un pietuvoties kontroles PI vērtībai. Tas, ka piektajā nedēļā gandrīz visi apstrādes varianti pietuvinājās kontroles fluorescences vērtībai, norāda uz to, ka augi ir adaptējušies un labi izturējuši attiecīgās metālu koncentrācijas augsnē.



8. attēls. Hlorofila *a* fluorescences parametra *Performance Index* relatīvās izmaiņas kultivēšanas laikā atkarībā no apstrādes.

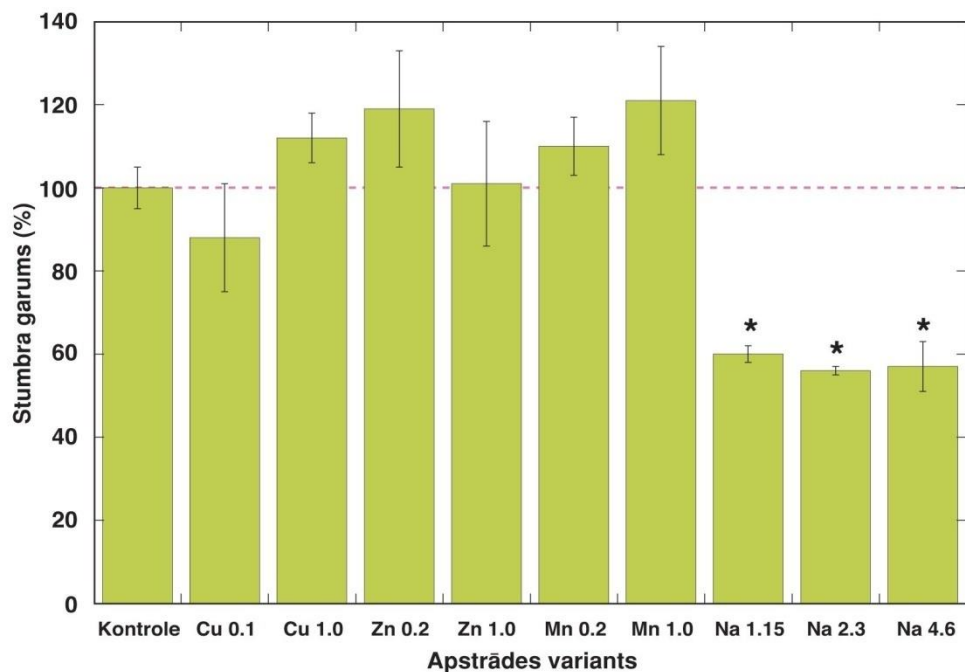
Figure 8. Relative changes in chlorophyll *a* fluorescence parameter *Performance Index*.

Augu sakņu svaigā masa atkarībā no apstrādes parādīta 9. attēlā. Var redzēt, ka visiem apstrādes variantiem bija masas, kas atšķirīgas no kontroles augiem, un izņemot vienu variantu ar Cu 0.1gL⁻¹, tās bija mazākas, tomēr statistiski būtiskas atšķirības bija tikai visiem apstrādes variantiem ar Na un vienam apstrādes variantam ar Mn lielo koncentrāciju. Zn un Cu lielajām koncentrācijām arī bija ievērojami mazāka sakņu masa (60% un 70% attiecīgi), tomēr, ņemot vērā to, ka uz katru variantu bija tikai trīs augi, šī atšķirība nebija statistiski būtiska. 10. attēlā redzams stumbra garums attiecībā pret kontroli, un te arī bija novērojams, ka apstrādes variantiem ar Na tas bija būtiski mazāks par kontroli. Pārējiem apstrādes variantiem bija nelielas atšķirības no kontroles, tomēr tie bija savstarpēji līdzīgi. Iemesls tam, ka Na klātbūtnē auga izmērs ir mazs, var būt tas, ka Na izraisa osmotisko stresu (Maathuis 2013).



9. attēls. Augu sakņu dzīvā masa atkarībā no apstrādes. Ar * apzīmēta statistiski būtiska atšķirība no kontroles.

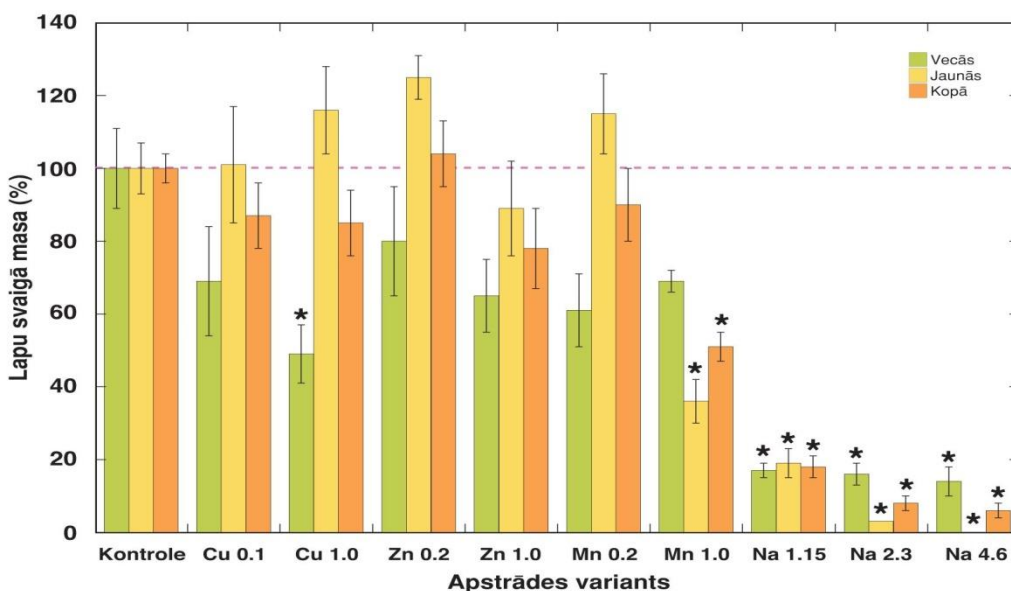
Figure 9. Fresh mass of plant roots. With * is indicated statistically significant difference from control.



10. attēls. Augu stumbra garums atkarībā no apstrādes. Ar * apzīmēta statistiski būtiska atšķirība no kontroles.

Figure 10. Fresh mass of plant stem. With * is indicated statistically significant difference from control.

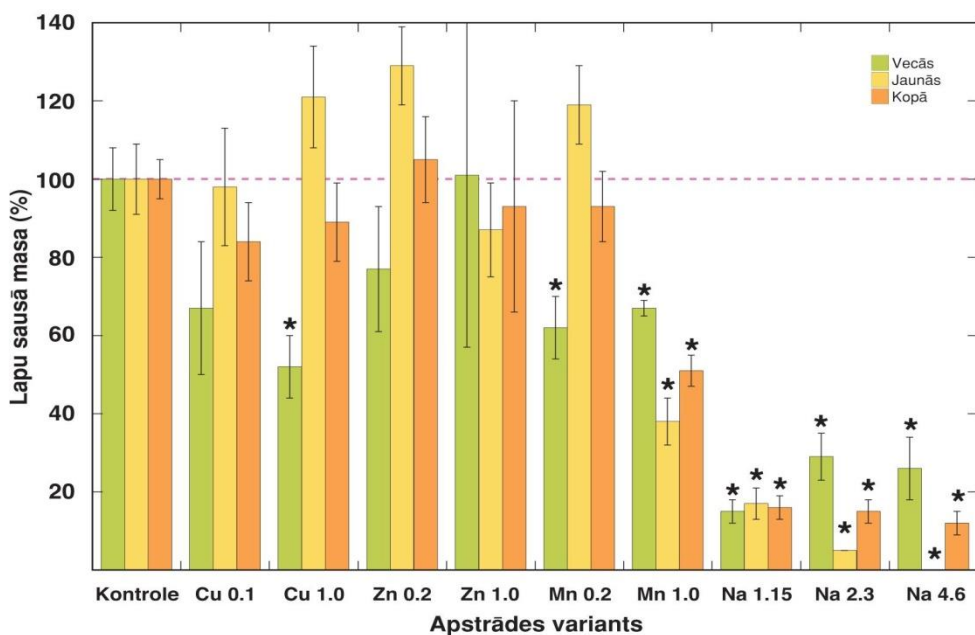
Augu lapu masā arī bija novērojamas līdzīgas atšķirības, kā saknēs un stumbros(11.att.). Apstrādes varianti ar Na uzrādīja vismazāko lapu masu, un apstrādes variantam ar Na 4.6gL^{-1} jaunās lapas vispār neizauga. Statistiski būtiska atšķirība no kontroles bija novērojama arī apstrādes variantam ar Mn 1.0gL^{-1} , salīdzinot ar kontroli attiecībā uz jauno lapu masu un kopējo lapu masu. Apstrādes varianti ar Cu 1.0, Zn 0.2 un Mn 0.2 uzrādīja lielāku jauno lapu masu, un mazāku veco lapu masu.



11. attēls. Augu lapu dzīvā masa atkarībā no apstrādes. Ar * apzīmēta statistiski būtiska atšķirība no kontroles.

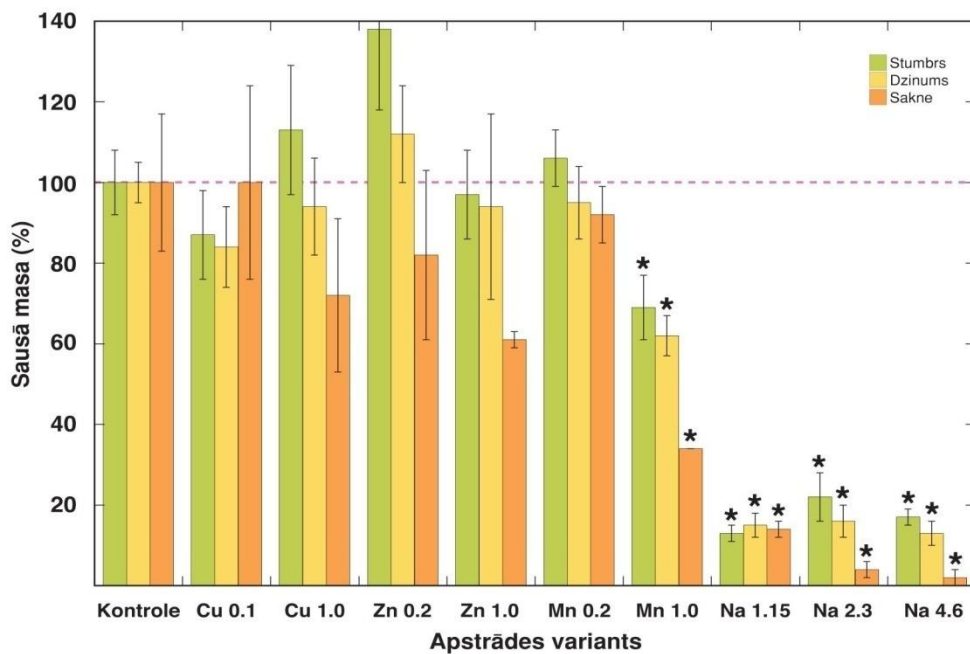
Figure 11. Fresh mass of plant leaves. With * is indicated statistically significant difference from control.

Salīdzinot augu daļu svaigās masas ar sausajām (12. un 13. attēls), var redzēt līdzīgus rezultātus – apstrādes variantiem ar Na augu daļas svēra ievērojami mazāk, nekā kontrolei, ka arī visas daļas apstrādes variantam ar Mn 1.0gL^{-1} statistiski būtiski atšķīrās no kontroles, Cu 1.0gL^{-1} veco lapu sausā masa arī bija būtiski mazāka par kontroli.



12. attēls. Augu lapu sausā masa atkarībā no apstrādes. Ar * apzīmēta statistiski būtiska atšķirība no kontroles.

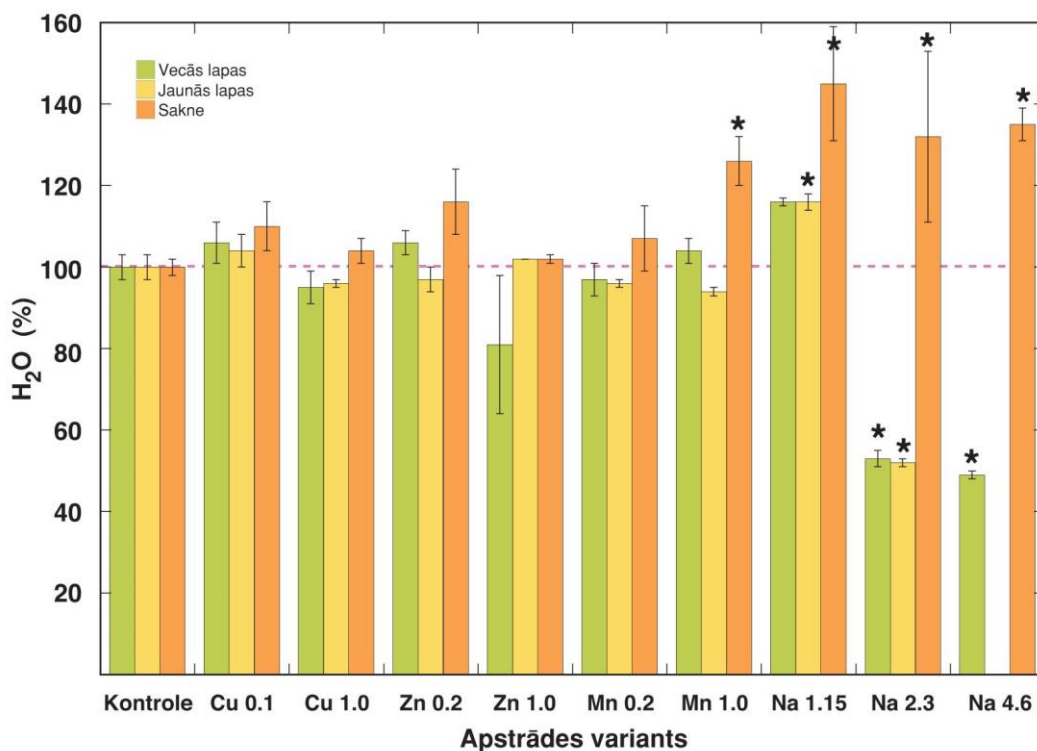
Figure 12. Dry mass of plant leaves. With * is indicated statistically significant difference from control.



13. attēls. Augu stumbra, dzinuma un saknes sausā masa atkarībā no apstrādes. Ar * apzīmēta statistiski būtiska atšķirība no kontroles.

Figure 13. Dry mass of plant stem and root. With * is indicated statistically significant difference from control.

Ūdens saturs eksperimenta beigās gandrīz visiem apstrādes variantiem bija līdzīgs ar kontroli(14.att.). Visiem apstrādes variantiem ar Na un Mn 1.0 gL⁻¹ bija lielāks ūdens saturs saknēs, nekā kontrolei; apstrādes variantiem ar Na 1.15gL⁻¹ ūdens saturs lapās bijā lielāks, bet pārējiem apstrādes variantiem ar Na ievērojami mazāks, nekā kontrolei.



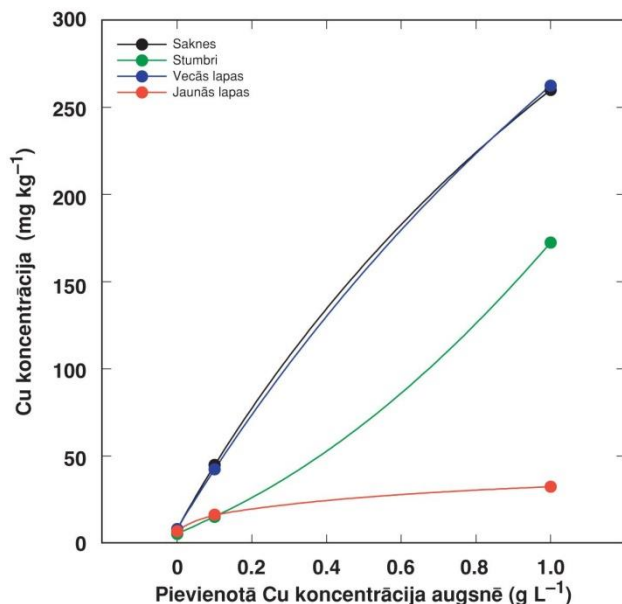
14. attēls. Ūdens saturs augu lapās un saknēs atkarībā no apstrādes. Ar * apzīmēta statistiski būtiska atšķirība no kontroles.

Figure 14. Water content in plant leaves and roots. With * is indicated statistically significant difference from control.

Šī pētījuma ietvaros *Sedum maximum* augi neuzrādīja lielas atšķirības attīstībā un fizioloģiskajos parametros, salīdzinot ar kontroli. Izņēmums bija apstrādes varianti ar Na, kas, kā jau bija minēts, var būt skaidrojams ar osmotiskā spiediena izmaiņām, ko izraisa Na joni. Tā kā fitoekstrakcijas metode paredz augu virszemes orgānu nopļaušanu un audzēšana vairāku sezonu garumā, būtu vērts pārbaudīt izmaiņas jaunajos dzinumos. Analogiskos pētījumos ar *Sedum ģints* augiem bija novērojams, ka pēc pirmās nopļaušanas augu biomasa samazinājās, salīdzinot ar kontroli, taču pēc trešās nopļaušanas reizes augu biomasa bija lielāka, nekā pēc otrās (Vasl et al., 2017). Augu biomasa ir svarīgs rādītājs hiperakumulatoru izmantošanai fitoremediācijā – jo lielāka ir biomasa, jo potenciāli vairāk augs spēs uzkrāt smagos metālus. Šis rādītājs mēdz

mainīties arī atkarībā no gadalaikiem, bet, tā kā pētījums tika veikts kontrolētos apstākļos piecu nedēļu garumā, tas nevarēja būt novērots.

Vara jonu uzkrāšanas rezultāti ir redzami 15.attēlā. Visvairāk vara (250mgkg^{-1}) uzkrājās augu saknēs un vecajās lapās apstrādes variantā ar lielāko Cu koncentrāciju 1.0gL^{-1} . Neliels daudzums tika uzkrāts arī stumbrā, bet jaunajās lapās, kuras attīstījās Cu klātbūtnē augsnē, varš netika daudz uzņemts, un liela atšķirība starp diviem apstrādes variantiem ar Cu nebija novērojama.



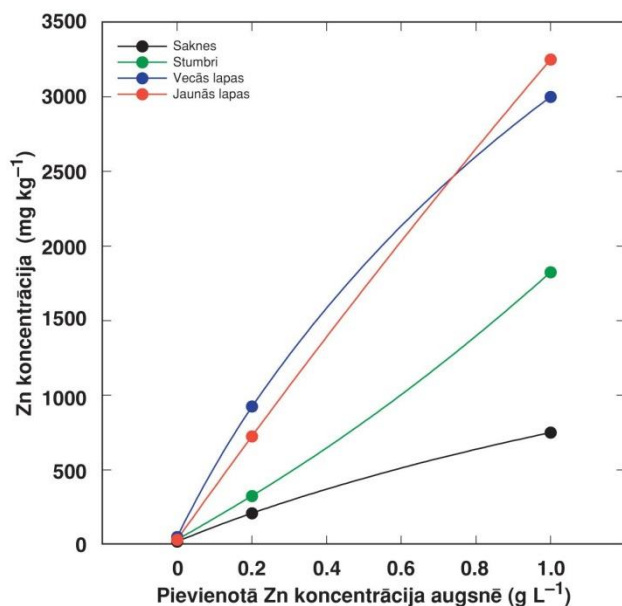
15. attēls. Cu jonu uzkrāšanās dažādās augu daļās atkarībā no pievienotās Cu koncentrācijas augsnē.

Figure 15. Accumulation of Cu ions in different parts of plant depending on added concentration of Cu in soil.

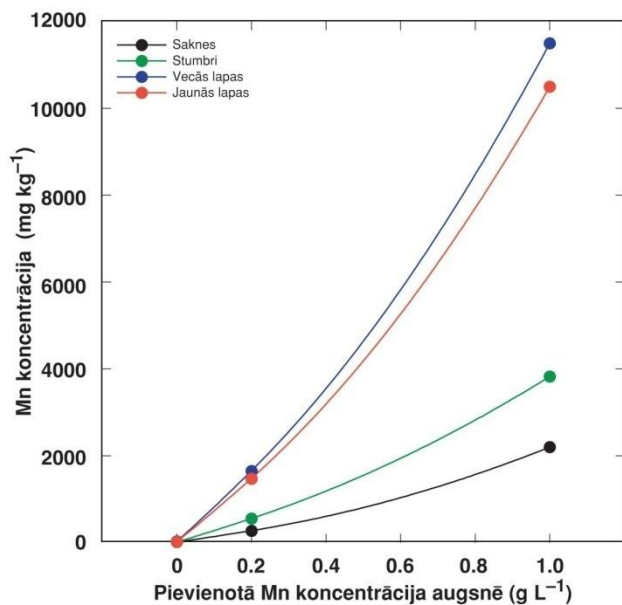
Lielāku daudzumu metāla uzņēma tie augi, kuri tika apstrādāti ar cinku. Visvairāk cinka tika uzkrāts lapās. Stumbrs un saknes arī uzņēma cinku, bet mazāk(16.att.).

Bet vislabākas akumulācijas spējas *Sedum maximum* uzrādīja attiecībā uz mangānu(17.att.). Tāpat kā apstrādes variantos ar cinku, visvairāk metāla uzkrājās lapās, pie tam tādos daudzumos, kuri pārsniedz 10gkg^{-1} , kas ļauj definēt *Sedum maximum* par mangāna hiperakumulātoru.

Tas, ka *Sedum maximum* uzkrāj cinku un mangānu lielākoties virszemes auga daļās ir svarīgi, jo tas potenciāli ļauj efektīvi izmantot nopļaušanas paņēmienus fitoekstrācijā, toties attīrot augsnes, kas piesārņotas ar varu, tas nebūs tik efektīvi.



16. attēls. Zn jonu uzkrāšanās dažādās augu daļās atkarībā no pievienotās Zn koncentrācijas augsnē.
Figure 16. Accumulation of Zn ions in different parts of plant depending on added concentration of Zn in soil.

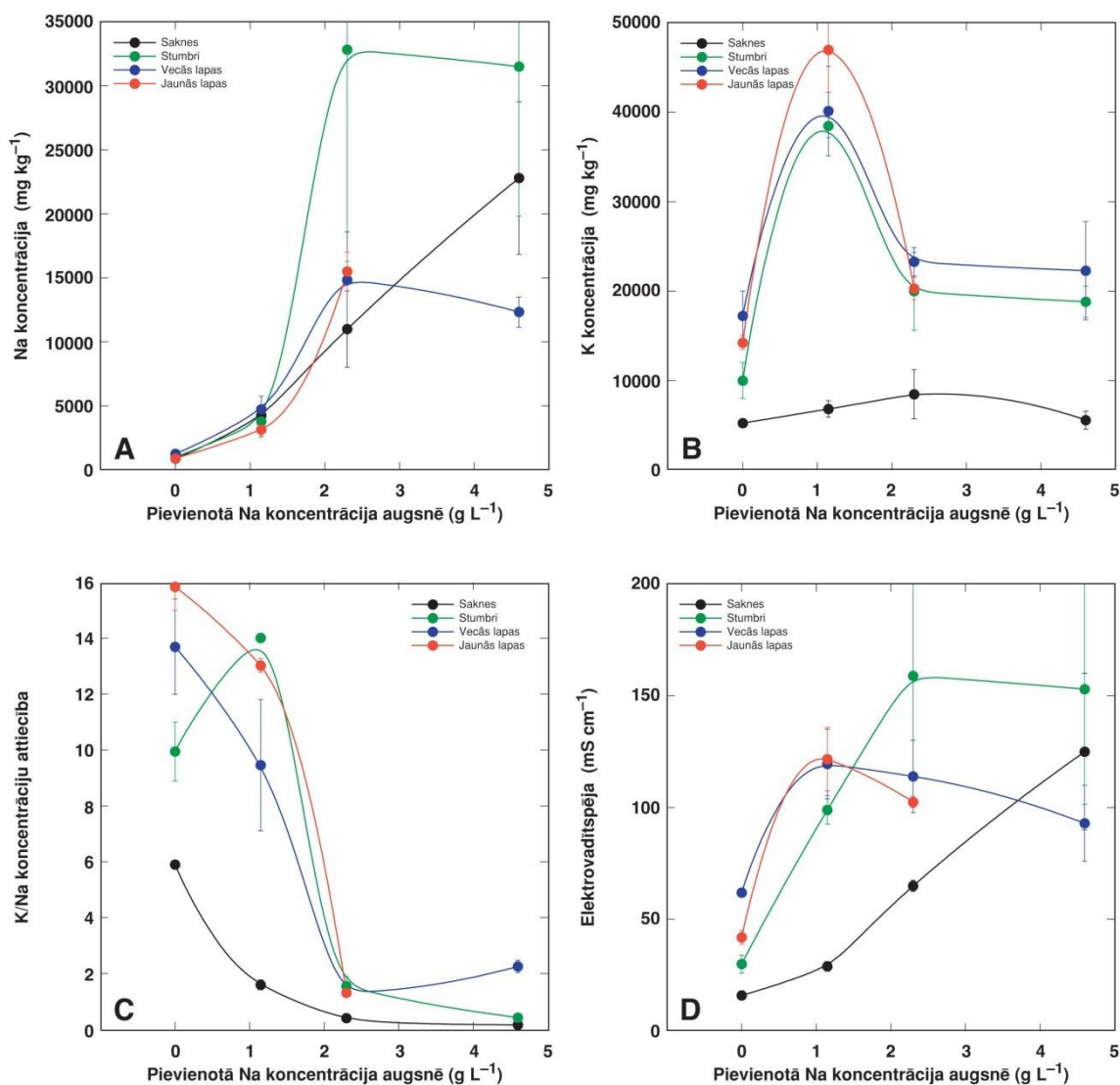


17. attēls. Mn jonu uzkrāšanās dažādās augu daļās atkarībā no pievienotās Mn koncentrācijas augsnē.
Figure 15. Accumulation of Mn ions in different parts of plant depending on added concentration of Mn in soil.

Līdzīgā pētījumā ar *Sedum alfredii*, kurš ir pierādīts kā Zn/Cd hiperakumulators, augi tika audzēti dažādu minerālvielu klātbūtnē, un 352mgkg^{-1} fosfora augsnē klātbūtne palielināja Zn uzkrāšanu līdz 10gkg^{-1} sausās masas, arī pēc otrās un trešās nopļaušanas reizes. Cinka pievienotā koncentrācija augsnē pētījumā bija 0.6 g L^{-1} (Huang et al. 2012). Intrapolējot šajā darbā iegūtos datus uz 0.6 g L^{-1} pievienotās cinka koncentrācijas, iegūst vidējo vērtību 1.5gkg^{-1} auga sausās masas, kas ir labs rezultāts, ņemot vērā to, ka nekādas īpašas minerālvielas augsnē netika pievienotas. Derīgi arī būtu pārbaudīt, kā vairāku metālu klātbūtne augsnē ietekmē to uzņemšanu, jo dažu metālu joni darbojas kā kofaktori citu metālu uzņemšanai, un praktiski augsnes ir piesārņotas ar vairākiem metāliem. Pētījumā par sukulentu augu akumulācijas spējām, augsnē tika pievienoti Zn 0.45 g L^{-1} , Mn 0.3 g L^{-1} , Cu 0.1 g L^{-1} , ka arī citi metāli kā Cd, Cr, Pb un Ni, un no *Sedum* sugas augiem tika izmantoti *S.mexicanum*, *S.stahlii*, *S.rubrotinctum*, *S.spectabile* un *S.sediforme*(Clark et al. 2015). Salīdzinot ar šajā darbā iegūtajiem rezultātiem, tādi augi kā *Sedum mexicanum* un *Sedum spectabile* uzrādīja nelielu potenciālu akumulēt Cu(attiecīgi 17 un 25mg kg^{-1}), kas ir aptuveni divreiz mazāk, nekā *Sedum maximum* tādā pašā Cu koncentrācijā. Attiecībā uz mangānu, *Sedum rubrotinctum* akumulēja 400mgkg^{-1} , kas arī ir ievērojami mazāk par šajā darbā iegūto akumulēto daudzumu ap 2.5gkg^{-1} attiecīgajā Mn koncentrācijā 0.3 g L^{-1} . Cinku 1gkg^{-1} spēja akumulēt *Sedum spectabile*, kas izmantotajā cinka koncentrācijā 0.45 g L^{-1} ir līdzīgs rezultāts kā šajā darbā.

Nātrijs arī tika uzkrāts ļoti efektīvi, bet absolūtās vērtībās tas nav ļoti labs rādītājs, jo augiem bija pārāk maza biomasa. Apstrādes variantam ar Na 1.15 gL^{-1} nātrijs tika aptuveni vienādi uzkrāts visās auga daļās, apstrādes variantos ar Na 2.3 un 4.6 gL^{-1} vairāk uzkrājās stumbrā, pie tam apstrādes variants ar lielāku Na koncentrāciju uzrādīja sliktākas akumulācijas spējas (18. att.A). Nātrija klātbūtne arī pozitīvi ietekmēja kālija uzkrāšanos lapās un stumbrā(18.att.B) apstrādes variantā ar Na 1.15 gL^{-1} , tomēr pārējiem apstrādes variantiem kālija daudzums bija līdzīgs kā kontrolei, un 18. C attēlā var redzēt, ka apstrādes variantiem ar Na 2.3 un Na 4.6 gL^{-1} kālija un nātrija koncentrācijas dažādās augu daļās bija līdzīgas, bet kontrolei un Na 1.15 gL^{-1} kālija koncentrācija bija daudz lielāka nekā Na koncentrācija. Ekstrakcijas šķīdumu elektrovadītspēja parādīta 18.att.D. Elektrovadītspēju ietekmēja visu metālu jonu klātbūtne auga audos, jo metālu bija vairāk, jo elektrovadītspēja bija lielāka. Apstrādes variantā ar Na 1.15 gL^{-1} salīdzinoši liela elektrovadītspēja lapās un stumbrā skaidrojama ar lielu kālija daudzumu, bet elektrovadītspēja apstrādes variantiem ar Na 2.3 un Na 4.6 gL^{-1} atbilst 18.att.A redzamajām

uzkrātajām Na koncentrācijām atbilstošiem variantiem, jo kālija daudzumi tiem bija ļoti līdzīgi(18.att.B).



18. attēls. Na jonu (A), K jonu (B) uzkrāšanās, K/Na koncentrāciju attiecība (C) un aužu elektrovadītspēja (D) dažādās augu daļās atkarībā no pievienotās Na koncentrācijas augsnē.

Figure 18. Accumulation of Na ions(A), K ions(B), K/Na concentration ratio(C) and electric conductivity of tissues(D) in different parts of plant depending on added concentration of Cu in soil.

4. SECINĀJUMI

1. *Sedum maximum* sugas augi ir spējīgi adaptēties dažādu smago metālu klātbūtnei augsnē un turpināt attīstību.

2. *Sedum maximum* spēj efektīvi akumulēt tādus metālus kā Mn, Zn, Cu un Na, pie tam Zn un Mn visvairāk uzkrājas auga virszemes daļās.

3. *Sedum maximum* varētu izmantot fitoekstrakcijas nolūkos, attīrot augsnes, kas piesārņotas ar Mn, Zn un Cu. Nepieciešams veikt turpmākus pētījumus par šī sugas hiperakumulācijas spējām.

5.PATEICĪBAS

Vēlos izteikt pateicības darba vadītājam, profesoram Ģedertam Ieviņam un Latvijas Universitātes augu fizioloģijas katedrai par palīdzību un atbalstu darba veidošanā.

Izsaku paldies arī Andim Karlsonam un citiem LUBI Augu minerālās barošanās laboratorijas darbiniekiem par piedāvāto iespēju un palīdzību uzkrāto metālu daudzuma noteikšanā augos.

6.LITERATŪRAS SARAKSTS

- Anonymous, 08.04.18, <https://www.latvijasdaba.lv/meklet/sedum>
- Anonymous, 10.04.18, Role of Manganese in Plant Culture,
<https://www.pthorticulture.com/en/training-center/role-of-manganese-in-plant-culture/>
- Anonymous, 10.04.18, Importance of biogenic elements in a plant,
https://is.mendelu.cz/eknihovna/opory/zobraz_cast.pl?cast=71707
- Anonymous, 08.05.18, <https://www.latvijasdaba.lv/augi/sedum-maximum-l-hoffm/>
- Assche, F. V., & Clijsters, H. (1990). Effects of metals on enzyme activity in plants. *Plant, Cell & Environment*, 13(3), 195-206.
- Baker, A. J. (1981). Accumulators and excluders-strategies in the response of plants to heavy metals. *Journal of plant nutrition*, 3(1-4), 643-654.
- Bowen H. (1966). Of the trace elements. Biogenic Elements. (n.d.) The Great Soviet Encyclopedia, 3rd Edition. (1970-1979).
- Blaylock, M. J., & Huang, J. W. (2000). Phytoextraction of metals. *Phytoremediation of toxic metals: Using plants to clean up the environment*, 53-70.
- Broadley, M. R., White, P. J., Hammond, J. P., Zelko, I., & Lux, A. (2007). Zinc in plants. *New phytologist*, 173(4), 677-702.
- Brooks, R. R., J. Lee, R. Df Reeves, Tanguy Jaffré. (1977). Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants, *Journal of Geochemical Exploration* 7 (1977): 49-57.
- Brown, K. S. (1995). The green clean. *Bioscience*, 45(9), 579-582.
- Burnell, J. N. (1988). The biochemistry of manganese in plants. In *Manganese in soils and plants* (pp. 125-137). Springer, Dordrecht.
- Campbell, L. C., & Nable, R. O. (1988). Physiological functions of manganese in plants. In *Manganese in soils and plants* (pp. 139-154). Springer, Dordrecht.
- Chaney, R. L. (1983). Plant uptake of inorganic waste. Land treatment of hazardous wastes.
- Clark G.J., Doronila A.I., Kolev S.D., Sale P.W.G., Tang C.,Zhang C.(2015) Succulent species differ substantially in their tolerance and phytoextraction potential when grown in the presence of Cd, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, and Zn.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26201657> *Environ Sci Pollut Res Int.* 2015 Dec;22(23):18824-38
- Cobbett, C. S. (2000). Phytochelatins and their roles in heavy metal detoxification. *Plant physiology*, 123(3), 825-832.
- Daas, C., Montpied, P., Hanchi, B., & Dreyer, E. (2008). Responses of photosynthesis to high temperatures in oak saplings assessed by chlorophyll-a fluorescence: inter-specific diversity and temperature-induced plasticity. *Annals of Forest Science*, 65(3), 1.
- Ewais, E. A. (1997). Effects of cadmium, nickel and lead on growth, chlorophyll content and proteins of weeds. *Biologia Plantarum*, 39(3), 403-410.
- Hall, J. L. (2002). Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance. *Journal of experimental botany*, 53(366), 1-11.
- Haboudane, D., Miller, J. R., Tremblay, N., Zarco-Tejada, P. J., & Dextraze, L. (2002).

- Integrated narrow-band vegetation indices for prediction of crop chlorophyll content for application to precision agriculture. *Remote sensing of environment*, 81(2-3), 416-426.
- Hassan, Z., & Aarts, M. G. (2011). Opportunities and feasibilities for biotechnological improvement of Zn, Cd or Ni tolerance and accumulation in plants. *Environmental and Experimental Botany*, 72(1), 53-63.
- Huang, H., Li, T., Gupta, D. K., He, Z., Yang, X. E., Ni, B., & Li, M. (2012). Heavy metal phytoextraction by *Sedum alfredii* is affected by continual clipping and phosphorus fertilization amendment. *Journal of Environmental Sciences*, 24(3), 376-386.
- Instruments, H. (2006). Operations Manual, Setup, Installation & Maintenance: Handy PEA, Pocket PEA & PEA Plus Software, version 1.0. *England, King's Lynn, Norfolk*.
- Kautsky, H., & Hirsch, A. (1931). Wechselwirkung zwischen angeregten Farbstoff-Molekülen und Sauerstoff. *Berichte Der Dtsch. Chem. Gesellschaft*, 64, 2677-2683.
- Kos B., Greman, H., & Lestan, D. (2003). Phytoextraction of lead, zinc and cadmium from soil by selected plants. *Plant Soil and Environment*, 49(12), 548-553.
- Krause, G. H., & Weis, E. (1984). Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology. *Photosynthesis research*, 5(2), 139-157.
- Maathuis, F. J. (2013). Sodium in plants: perception, signalling, and regulation of sodium fluxes. *Journal of Experimental Botany*, 65(3), 849-858.
- Maclachlan, S., & Zalik, S. (1963). Plastid structure, chlorophyll concentration, and free amino acid composition of a chlorophyll mutant of barley. *Canadian Journal of Botany*, 41(7), 1053-1062.
- Maxwell, K., & Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of experimental botany*, 51(345), 659-668.
- McHargue, J. S. (1922). The role of manganese in plants I. *Journal of the American Chemical Society*, 44(7), 1592-1598
- McIntyre, T. (2003). Phytoremediation of heavy metals from soils. In *Phytoremediation* (pp. 97-123). Springer Berlin Heidelberg.
- Merlot, S., de la Torre, V. S. G., & Hanikenne, M. (2018). Physiology and molecular biology of trace element hyperaccumulation. In *Agromining: Farming for Metals* (pp. 93-116). Springer, Cham.
- Murchie, E. H., & Lawson, T. (2013). Chlorophyll fluorescence analysis: a guide to good practice and understanding some new applications. *Journal of experimental botany*, 64(13), 3983-3998.
- Palta, J. P. (1990). Leaf chlorophyll content. *Remote sensing reviews*, 5(1), 207-213.
- Salt, D. E., Blaylock, M., Kumar, N. P., Dushenkov, V., Ensley, B. D., Chet, I., & Raskin, I. (1995). Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Nature biotechnology*, 13(5), 468.
- Schubert, T. S. (1982). *Copper deficiency of plants*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services.
- Silla, F., González-Gil, A., González-Molina, M. E., Mediavilla, S., & Escudero, A. (2010). Estimation of chlorophyll in *Quercus* leaves using a portable chlorophyll meter: effects of species and leaf age. *Annals of forest science*, 67(1), 108.

- Skoog, F. (1940). Relationships between zinc and auxin in the growth of higher plants. *American Journal of Botany*, 939-951.
- Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutton, D. J. (2012). Heavy metal toxicity and the environment. In *Molecular, clinical and environmental toxicology* (pp. 133-164). Springer, Basel.
- Van Kooten, O., & Snel, J. F. (1990). The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynthesis research*, 25(3), 147-150.
- Vara Prasad, M. N., & de Oliveira Freitas, H. M. (2003). Metal hyperaccumulation in plants: biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electronic journal of biotechnology*, 6(3), 285-321.
- Vasl, A., Shalom, H., Kadas, G. J., & Blaustein, L. (2017). Sedum—Annual plant interactions on green roofs: Facilitation, competition and exclusion. *Ecological Engineering*, 108, 318-329.
- Wang, S. L., Liao, W. B., Yu, F. Q., Liao, B., & Shu, W. S. (2009). Hyperaccumulation of lead, zinc, and cadmium in plants growing on a lead/zinc outcrop in Yunnan Province, China. *Environmental geology*, 58(3), 471.
- Yruela, I. (2009). Copper in plants: acquisition, transport and interactions. *Functional Plant Biology*, 36(5), 409-430.
- Zengin, F. K., & Munzuroglu, O. (2005). Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 47(2), 157-164.
- Zhao, F. J., Lombi, E., & McGrath, S. P. (2003). Assessing the potential for zinc and cadmium phytoremediation with the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant and soil*, 249(1), 37-43.
- Živčák, M., Brestič, M., Olšovská, K., & Slamka, P. (2008). Performance index as a sensitive indicator of water stress in *Triticum aestivum* L. *Plant Soil Environ*, 54(4), 133-139.
- Лысенко, В. С., Вардуни, Т. В., Соьер, В. Г., & Краснов, В. П. (2013). Флуоресценция хлорофилла растений как показатель экологического стресса: теоретические основы применения метода. *Фундаментальные исследования*, (4-1).
- Титов, А. Ф., Таланова, В. В., & Казнина, Н. М. (2011). Физиологические основы устойчивости растений к тяжелым металлам

Bakalaura darbs „Lielais laimiņš (*Sedum maximum*) kā modeļsuga smago metālu ietekmes un uzņemšanas fizioloģijas pētījumos” izstrādāts LU Bioloģijas fakultātē.

Ar savu parakstu apliecinu, ka pētījums veikts patstāvīgi, izmantoti tikai tajā norādītie informācijas avoti un iesniegtā darba elektroniskā kopija atbilst izdrukai.

Autors: Irina Jožikova _____2018.

Rekomendēju darbu aizstāvēšanai

Vadītājs: prof. Ģederts Ieviņš _____2018.

Recenzents: vad.pētn. Māra Vīkmane _____2018.

Darbs iesniegts LU Bioloģijas fakultātē : _____2018.

Lietvede:

Darbs aizstāvēts bakalaura gala pārbaudījuma komisijas sēdē

04.06.18. prot. Nr. _____, vērtējums

Komisijas sekretārs: