

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
BIOLOĢIJAS FAKULTĀTE
AUGU FIZIOLOĢIJAS KATEDRA

KRASTMALAS SKĀBENES (RUMEX
HYDROLAPATHUM) FIZIOLOĢISKĀ REAKCIJA UZ
PAAUGSTINĀTU SMAGĀ METĀLA MN
KONCENTRĀCIJU SUBSTRĀTĀ ATKARĪBĀ NO
APSTRĀDES VEIDA

Bakalaura darbs

Autors: Edmunds Krops

Stud. apl. Nr. ek16081

Darba vadītājs: Dr. biol. Ģederts Ieviņš

RĪGA 2019

Kopsavilkums

Darbā ir apkopota informācija par smagā metāla Mn nozīmi augos, kā arī tā negatīvo ietekmi uz augiem, ja tā daudzums sasniedz pārmērību. Darbā novērtēti krastmalas skābenēm (*Rumex hydrolapathum*) raksturīgie mitrāju apstākļi un to saistība ar lielu smago metālu pieejamību augiem. Novērtētas krastmalas skābenes spējas reprezentēt mitrāju augu sabiedrību. Darbā eksperimentāli pārbaudīja pētāmā auga spējas pielāgoties smago metālu pievades daudzumam, novērtējot atšķirības starp smago metālu pievades pakāpenisko un akūto formu. Lai nodrošinātu objektīvus rezultātus, kas reprezentētu augu fizioloģisko stāvokli Mn ietekmē, veica vairākas analīzes, nosakot augu morfoloģiskos rādītājus (lapu daudzums, auga daļu masa), ar fotosintēzi saistītie rādītāji (hlorofila fluorescences, hlorofila koncentrācija), antioksidatīvo enzīmu aktivitāte.

Darba rezultāti apliecināja, ka pētāmais augs ir izturīgs pret Mn. Konstatētas būtiskas atšķirības starp akūto un pakāpenisko metāla pievades veidu. Akūtās pievades gadījumā augi bija sliktākā fizioloģiskajā stāvoklī, kas apliecina pakāpeniskas pielāgošanās nozīmi augu smago metālu izturībā.

Darbs iztrādāts Latvijas Universitātes Bioloģijas fakultātes Augu fizioloģijas katedrā laika posmā no 2018. gada decembra līdz 2019. gada maijam.

Atslēgvārdi: smagie metāli, fitoremediācija, pakāpeniskās un akūtās pievades veids.

Summary

This work contains information about the significance of the heavy metal Mn, as well as its negative effects on plant life in cases of overabundance. The work evaluates wetland conditions characteristic of water docks (*Rumex hydrolapathum*) and their relation to the high heavy metal availability to plant life. An evaluation of the ability of water docks to represent wetland plant communities. The work evaluates the ability of the water dock to adapt to heavy metal input volumes. The study evaluated differences between gradual and acute addition of heavy metals. To ensure the objectivity of the results that represent the physiological status of plants, analyses of multiple variables were completed: morphological indicators (number of leaves, plant weight), photosynthesis-related indicators (chlorophyll fluorescence, chlorophyll concentration), antioxidant enzyme activity.

The work results confirmed that the plant researched is capable of Mn accumulation. There were noted significant differences between plants with the gradual and acute addition methods. The plants subjected to acute addition were noted to be in worse physiological condition, which is indicative of the plants ability to adjust to an environment containing Mn.

The work was conducted in the University of Latvia Biology faculty Plant physiology department between December 2018 and May 2019.

Keywords: heavy metals, phytoremediation, gradual and acute addition methods.

Saturs

| | |
|--|----|
| Ievads | 6 |
| 1.Literatūras apskats..... | 7 |
| 1.1. Smago metālu vispārīgais raksturojums..... | 7 |
| 1.2. Minerālelementi augos | 8 |
| 1.3. Mangāna nozīme augos un pozitīvā ietekme | 9 |
| 1.4. Augu izturība pret mangānu..... | 10 |
| 1.5. Mangāna negatīvā ietekme uz augiem | 11 |
| 1.6. Minerālelementu nonākšana augā | 12 |
| 1.7. Krastmalas skābenes <i>Rumex hydrolapathum</i> dabā | 13 |
| 1.8. Pārmitro zālāju un ieplaku augšanas apstākļi augiem..... | 14 |
| 1.9. Augu aizsardzības reakcijas uz palielinātu smago metālu daudzumu vidē | 15 |
| 1.10. Hlorofils un tā īpašības..... | 17 |
| 1.11 Elektrolīti un to daudzums augos | 17 |
| 2. Metodes | 19 |
| 2.1. Augu izaudzēšana..... | 19 |
| 2.2. Eksperimenta sagatavošana, Mn pievienošana | 21 |
| 2.3. Augu lapu ievākšana | 22 |
| 2.4. Hlorofīla parametru analīzes | 23 |
| 2.5. Elektrolītu noplūdes analīzes | 24 |
| 2.5. Augu vasas parametru mērīšana..... | 25 |
| 2.6. Augu augsnes parametru novērtēšana | 25 |
| 2.7. Enzīmu analīzes | 26 |
| 3.Rezultāti | 27 |

| | |
|---------------------------|----|
| 4. Diskusija..... | 37 |
| 5. Secinājumi..... | 39 |
| 6. Pateicības..... | 40 |
| Literatūras saraksts..... | 41 |

Ievads

Pēdējo divu gadsimtu mijā cilvēku daudzums uz mūsu planētas ir palielinājies no nepilna miljarda līdz pat septiņiem ar pusi miljardiem (Roser 2017). Kas būtiski ir palielinājies cilvēces nepieciešamību pēc dažādiem resursiem: pārtika, ūdens, enerģija utt.. Lai spētu apmierināt milzīgo cilvēku populāciju tiek intensīvi iegūti resursi no zemes dzīlēm, tiek veikta dažādu mākslīgi radītu ķīmisko vielu pielietošana lauksaimniecības, kā arī ražošanas, transporta, enerģijas pakalpojumi. Bet kā blakusprodukti paliek dažādi atkritumi. Iepriekšēji minētie procesi nozīmīgi ietekmē vielu apriti vidē un to rezultātā milzīgs daudzums dabīgi inertu un nepieejamu materiālu sāk aktīvi integrēties biosfērā, smagie metāli tajā skaitā. Salīdzinājumā ar smago metālu integrāciju vidē, kas noris dabīgi, cilvēku darbības atbrīvo 1,6 reizes vairāk hroma, 10 reizes vairāk niķeļa, 14 reizes vairāk vara, 19 reizes vairāk kadmija, 28 reizes vairāk arsēna, 83 reizes vairāk sudraba, 345 reizes vairāk svina (Kļaviņš 2012). Smagie metāli vidē spēj nokļūt ūdenī, augsnē, gaisā, tāpēc tie var nonākt dzīvajos organismos, tie arī nereti arī spēj pārvietoties ar barības ķēdes palīdzību. Lielākie dzīvnieki, kas atrodas barības ķēdes augšgalā uzkrāj savā ķermenī lielākās smago metālu masas, kas var ļoti negatīvi ietekmēt organismu veselību un pat izraisīt to nāvi (Melecis 2011). Diemžēl smagie metāli spēj uzturēties vidē ļoti ilgu laiku, taču vidi ir iespējams attīrīt no smagajiem metāliem izmantojot fitoremediācijas metodi. To nodrošina augi, kuriem piemīt izturība pret smago metālu piesārņojumu. Augot tie iesaista šos elementus, savā organismā, samazinot to daudzumu to apkārtējā vidē. Kvalitatīvā augu utilizācija pēc veiksmīgas uzkrāšanas spēj nodrošināt veiksmīgu vides attīrīšanu (Dushenkov 1995).

Krastmalas skābene *Rumex hydrolapathum* ir tipisks Latvijas floras mitru vietu augs, kas teorētiski spējīgs uzkrāt smagos metālus (Istenič 2012).

Darba mērķis: Pārbaudīt krastmalas skābenes fizioloģisko reakciju uz smagā metāla Mn palielinātu koncentrāciju substrātā atkarībā no apstrādes veida.

Darba uzdevumi: 1) iekārtot veģetācijas eksperimentu kontrolētos apstākļos; 2) veikt fizioloģiskā stāvokļa nedestruktīvu analīzi; 3) veikt morfoloģiskos un bioķīmiskos mērījumus.

1.Literatūras apskats

1.1. Smago metālu vispārīgais raksturojums

Smagie metāli ir elementi, kas pieder pie ķīmisko elementu metālu grupas un kuru blīvums ir lielāks par pieciem gramiem uz kubikcentimetru. Smago metālu grupa apvieno ļoti lielu elementu daudzumu (Satkliš 1965). Šo elementu iedarbība uz dzīvajiem organismiem ir ļoti dažāda. Daļā no smagajiem metāliem ir nepieciešama sastāvdaļa pilnvērtīgu dzīvībai nepieciešamu struktūru izveidošanai, piemēram, dzelzs, mangāns, molibdēns, varš ir nepieciešami augiem to pilnvērtīgai attīstībai (Alloway 2012).

Daudzu smago metālu pilnīga izolācija no dzīvajiem organismiem ir neiespējama. Smagie metāli kā dzīvsudrabs, kadmijs, svins ļoti bieži ir atrodamī brīvi dzīvojošos dzīvajos organismos, taču šiem elementiem nav negatīvas ietekmes (Sidlecka 1995). Tie nevar nodarīt kaitējumu dzīvajam organismam, kamēr smagā metāla uzkrātais daudzums ir ļoti mazs (Jaishankar 2014).

Svarīgākais faktors, kas nosaka smagā metāla ietekmi uz dzīvo organismu ir tā pievadītais daudzums. Smagie metāli sasniedzot pietiekošu koncentrāciju organismā var viegli iesaistīties dažādās ķīmiskās reakcijās, izkonkurēt organismam nozīmīgos jonus un izveidot nefunkcionējošu enzīmus. Šis aizvietošanas process norisinās tāpēc, ka no ķīmiskā viedokļa dažādi metāli ir ārkārtīgi līdzīgi un spēj vienādi iesaistīties vienās un tajās pašās ķīmiskajās reakcijās (Kļaviņš 2012). Smagie metāli nonākot organisma šūnās spēj nelabvēlīgi ietekmēt jonu dinamiku starp šūnu un tās ārējo vidi: 1) šūnā piesaistot nevajadzīgo elementu jonus; 2) piesaistīt nepieciešamos jonus pārlietu lielā daudzumā; 3) pilnībā nobloķēt vai arī palēnināt dzīvībai svarīgo elementu uzņemšanu. Taču ir arī fiksēti gadījumi, kad smagiem metāli mazliet palielinātās devās spēj izraisīt ātrāku un efektīvāku organisma attīstību, bet tas ir raksturīgs pret smagajiem metāliem izturīgiem augiem, kas ir pielāgojušies šādiem apstākļiem (Sidlecka 1995).

Ir pierādīts, ka daļa no smagajiem metāliem (svins, kadmijs, niķelis) spēj mijiedarboties ar šūnas DNS un veikt dažādas izmaiņas tajā (Hengstler 2003). Šie metāli spēj izmainīt DNS dubultspirāles telpisko struktūru kā arī izmainīt nukleotīdu secību. Rezultātā var veidoties dažādas mutācijas. Šie trīs elementi ir atzīti par kancerogēniem (Oliveira 2007.)

1.2. Minerālelementi augos

Pasaulē ir sastopami simtu deviņpadsmit dažādi ķīmiskie elementi aptuveni ceturtdaļā no tiem dabīgos apstākļos ir sastopami augos (Öpik 2005). Šie elementi augā iesaistās metaboliskajās reakcijā vai arī kalpo kā izejmateriāli struktūru veidošanai.

Pēc augu nepieciešamā daudzuma elementus iedala divās kategorijās:

- Makroelementi, kas ir galvenie augu struktūru veidojošie materiāli: ogleklis, ūdeņradis, skābeklis, slāpekļis, fosfors, sērs, kālijs, kalcijs, magnijs, silīcijs. Optimālais makroelementu daudzums augsnē augu attīstībai ir no 0,1% līdz pat 2% no augsnes sausnas masas. Ogleklis, ūdeņradis, skābeklis var sasniegt arī 45% no visas augsnes sausnas masas, pozitīvi ietekmējot auga attīstību (Sharma 2006).
- Mikroelementi jeb elementi, kas augam ir nepieciešami mazos daudzumos. To galvenā nozīme ir iesaistīties augu fizioloģiskajās reakcijās. Galvenie mikroelementi ir hlors, dzelzs, bors, mangāns, nātrijs, cinks, varš, niķelis, molibdēns. Optimālais šo elementu daudzums augsnē svārstās no 0,0001% līdz 0,1% augsnes vidējās sausnas masas (Tiaz 2006).

Pēc auga spējām aizvietot elementus to neiegūšanas situācijā auga minerālās barošanas elementus iedala:

- Neaizvietojamie elementi – to iztrūkuma gadījumā augam parādās vizuāli pamanāmi defekti. Ilglaicīgu šo elementu trūkuma rezultātā augs var aiziet bojā vai arī pie šo elementu trūkumā tas nespēj realizēt kādu no savas attīstības stadijām. Piemēram, ziedēšana. Šīs grupas elementi ir ogleklis, ūdeņradis, skābeklis, slāpekļis, fosfors, kālijs, kalcijs, magnijs, dzelzs, mangāns, varš, cinks, molibdēns, bors, hlors (Ieviņš 2016).

Aizvietojamie elementi spēj ietekmēt auga attīstības procesus. To esamība augus ietekmē labvēlīgi. Augs ātrāk attīstās, veido spēcīgākas organisma struktūras. Taču šo elementu iztrūkums nerada auga organismā īpašas problēmas, kā kavēta attīstība, auga aiziešana bojā. Grupā esošie elementi ir nātrijs, silīcijs, kobalts, alumīnijs, niķelis, litījs, selēns (Ieviņš 2016).

1.3. Mangāna nozīme augos un pozitīvā ietekme

Mangāns ir viens no augiem nepieciešamajiem neaizstājamiem mikroelementiem, kaut gan tā nepieciešamais daudzums augiem ir neliels. Taču tā iztrūkums ierobežo auga attīstību. Vidēji uz kilogramu auga sausnes ir atrodami 50 miligrami mangāna (Garham 2012).

Mangāns ir nereutilizējams mikroelements. Tas nozīmē, ka augs to nespēj atkārtoti uzņemt no sava organisma vecajām struktūrām. Auga organismā mangāna trūkums ir redzams jaunajās lapās. Mangāna trūkuma pazīme ir nelieli dzelteni punkti uz jaunajām lapām jeb maza mēroga hloroze. Ja mangāns ir ļoti trūkstošs ilgā laika periodā, tad var norisināties jauno lapu atmiršana jeb nekroze. Dzelzs un sēra trūkuma gadījumā simptomi ir līdzīgi, taču atšķirība ir tajā, ka šo elementu trūkuma gadījumā hloroze ir vērojama uz visām lapām. Mangāna deficītam augi ir pakļauti pazīmes paradās ziedēšanas vai arī straujās augšanas periodā pavasarī (Robbin 1988).



1. attēls. . Mangāna trūkuma simptomi uz auga lapas (O'Sullivan 1997).
Figure 1. Manganese deficiency symptoms on plant leaf.

Mangāns ir svarīgs fotosintēzes struktūru komponents. Mangāns ir atrodams hloroplastu tilakoīdu membrānā. Tas veido struktūru fotosistēmā II. Šis elements ir sastāvdaļa fotosistēmas II enzīmu kompleksā (Hakala 2005). Komplekss realizē fotolīzi, jeb ūdens molekulas sašķelšanu. Fotolīzes procesā, veidojās trīs nozīmīgi komponenti: skābekļa molekula O_2 , divi ūdeņraža joni H^+ un divi brīvie elektroni (McEvoy 2006). Izmantojot redzamās gaismas enerģiju iegūtie elektroni tilakoīdu iekšienē uzsūc ūdeņraža jonus no hloroplasta iekšējās vides, stromas. Tilakoīdos uzkrājoties ūdeņraža joniem veidojas potenciāls gradients, kura rezultātā ūdeņraža joni tiecas pamest tilakoīda iekšieni. Taču ūdeņraža joni spēj iziet no tilakoīda tikai caur proteīnu kanālu – ATF sintāzi. ATF sintāze izmanto izejošo ūdeņraža jonu plūstumu, kā enerģijas avotu ATF veidošanai no ADF un AMF (Yoshida 2001). Turpmāk izveidotās ATF molekulas tiek izmantotas Kalvina ciklā, lai veidotu glikozi (Scott 2008).

Mangāns spēj ieņemt dažādas oksidācijas pakāpes: +2, +3, +4, +5, +6. Tāpēc mangāns ir labs dažādus ķīmisko savienojumus piesaistošs elements. Šī unikālā īpašība padara mangānu par nozīmīgu sastāvdaļu dažādos augu enzīmos. Kopā ir aprakstīti trīsdesmit septiņi (Burnell 1988) augu enzīmi, kuros ietilpst šis smago metālu grupas elements (Hänsch 2009). Pateicoties savām saistīšanas spējām mangāns var veikt molekulu stabilizējošo funkciju. Mangāns ar oksidācijas pakāpi +2 spēj veikt ATF molekulas stabilizēšanu magnija trūkuma apstākļos (Walas 1958).

Optimāls mangāna daudzums augsnē arī labvēlīgi ietekmē augu izturību pret patogēniem. Ir veikti novērojumi, ka labība, kas attīstās augsnē ar pārāk mazu mangānu daudzumu ir biežāk pakļauta sēņu infekcijām. Taču labība, kas attīstās augsnē, kuras šī smagā metāla daudzums ir optimāls veidojas pilnībā vesela (Adriano 2001).

1.4. Augu izturība pret mangānu

Smagie metāli veido līdz vienam procentam no zemes garozas masas (Taylor 1964). Dabīgos apstākļos to pieejamais daudzums ir ļoti mazs, taču pietiekams, lai tiem izveidotos nozīme dzīvos organismos, tajā skaitā arī augos. Industriālās darbības rezultātā liels daudzums smago metālu ir nokļuvuši vidē dzīvajiem organismiem pieejamā formā. Galvenā nozare, kas palielina smago metālu pieejamību ir metalurģija (Martin 2012). Straujais smago metālu pieaugums negatīvi ietekmē dzīvos organismus. Tiek traucēta to attīstība vai pat izraisīta to nāve (Harrison 1996).

Augsnes neveselīgs pārsātinājums ar mangānu ir biežāks par mangāna trūkumu tajā. Tāpēc ka dzīvajiem organismiem mangāna vajadzību apmierināšanai ir vajadzīgs niecīgs tā daudzums. Bieži šis elements atrodas augiem nepieejamā formā (Haq 1972). Daudzas augu sugas viegli iztur mangāna injekcijas, kurās mangāns veido līdz 500 ppm, neparādot sevišķas atšķirības no kontroles grupām. Taču mangāna izturības robeža ir ļoti atkarīga no auga sugas. Daudzi graudaugi parāda bojājumu pazīmes pie mangāna injekcijas 200 ppm, kartupeļu laksti no 250 ppm, sojas pupiņas neparāda bojājumu simptomus pat pie 600 ppm mangāna injekcijām (Adriano 2001).. Augiem pie palielinātas smagā metāla koncentrācijas lakstu masa samazinās vidēji par 10% (McQuattie 2000).

1.5. Mangāna negatīvā ietekme uz augiem

Augu izturība pret mangānu ir ļoti variējoša. To ietekmē gan sugas piederība, gan no indivīda unikālās īpašības (Millaleo 2010). Mangāns negatīvi ietekmē augu attīstību ja daudzums augsnē sasniedz no 30 līdz 500 mg uz vienu augsnes sausnas kilogramu. Pie šī daudzuma mangāns izraisa oksidatīvo stresu. Mangāna pārbagātība veicina nekvalitatīvu vielmaiņu un brīvo radikāļu veidošanos (Srivastava 2010) Galvenie brīvie radikāļi ir hidroksilradikālis, ūdeņraža peroksīds, superoksīda anjona radikālis. Šīs vielas negatīvi ietekmē dzīvos organismus, jo tās ir agresīvās molekulas, kas spēj nodarīt bojājumus šūnas struktūrām (Sharma 2012). Pie pietiekoši liela brīvo radikāļu daudzuma uz augu lapām sāk veidoties tumši, sarkanvioleti plakumi. Pie ilglaicīgas brīvo radikāļu ietekmes iestājas lapu nekroze (Millaleo 2010).

Mangāna pārbagātības apstākļos augā ir vērojama augu lapu hloroze. Pakāpeniski pazūd auga lapu zaļā krāsa. Mangāns ar oksidācijas pakāpi +2 ir ķīmiski ļoti līdzīgs magnijam un dzelzim (Siedlecka 1995). Dzelzs un mangāns ir ļoti nozīmīgi elementi pilnvērtīgai hlorofila izveidei (Clarkson 1980). Kad mangāns augā ir lielās devās, tad ir vērojama tā kavējoša ietekme uz dzelzs un magnija uzņemšanu. Tāpēc tiek kavēta pilnvērtīga hlorofila veidošana (Rietre 2017).



2. attēls. Mangāna izraisīta auga lapas dzeltēšana un nekroze (O’Sullivan 1997).

Figure 2. Leaf damage caused by overdose of manganese.

Pārlietu liels smago metālu daudzums arī rada negatīvu ietekmi uz auga ūdens režīmu. Pakāpeniski samazinās ūdens daudzums augā. To rada traucētais metabolisms, kas neļauj normāli attīstīties augu struktūrām, un oksidatīvais stress, kas agresīvi mijiedarbojas ar auga organisma struktūrām. Rezultātā ciešs sakņu uzsūcošā virsma, spurgaliņas, augā esošie vadaudi un transpirācijas audi. Tā rezultātā nav iespējams tik intensīvs ūdens apmaiņas process, ūdens daudzums augā un transpirācijas ciklā samazinās (Barceló 1990).

1.6. Minerālelementu nonākšana augā

Augiem nepieciešamais barības vielu rezervuārs ir augsne. Daudzi attīstītie augi izmanto augsni ne tikai kā ūdens un minerālvielu iegūšanas vietu, bet arī kā stiprināšanās substrātu. Liela nozīme uz auga turpmāko attīstību ir augsnes ķīmiskajam sastāvam. No augsnes uzņemtie minerālelementi realizēt visus auga nepieciešamos fizioloģiskos procesus un veido tā organisma struktūras (Mengel 1996). Augsnes ķīmisko īpašības iespaido divu veidu procesi. 1) Atmosfēras procesi – nokrišņi, putekļu un citu mikro daļiņu ceļošana. 2) Vietējie minerālu un iežu procesi - pakāpeniska iežu dēdēšana, vulkāniskā aktivitāte, minerālūdens ceļošana (Raven 1999). Lielākā daļa smago metālu nonāk augsnē ar atmosfēras palīdzību mikro putekļi veidā. Šo putekļu galvenais avots ir metalurģijas rūpnīcas, transporta degvielas izmeši, pakāpeniska metālisko struktūru sadale (metāla jumti, spaiņi saskarsmē ar ūdeni) (Kļaviņš 2009).

Galvenais augu ūdens un minerālvielu uzņemšanas orgāns ir sakne. Dažām augu sugām tā ir ļoti specializēta. Sakne ir ļoti plastisks orgāns, kas spēj pielāgoties vides apstākļiem. Saknes attīstību ietekmē mitrums (Manschadi 2006) un barības vielu pieejamība. Galvenā zona saknē,

kas nodrošina visvairāk uzņem ūdeni un minerālelementus ir saknes uzsūkšanas zona. Saknes uzsūkšanas zonai ir milzīgs virsmas laukums, jo to veido liels daudzums mazu pavedienu jeb spurgaliņu (Tiaz 2006). Pat sadēdējuši minerālu sāļi augsnē var būt augiem nepieejamā formā (Binkley 1989). Taču saknes darbības rezultātā tos augs var padarīt pieejamus. Sakne veic jonu apmaiņu ar ārējo vidi, padarot apkārtējo vidi skābāku, tādējādi atbrīvojot daudzus augiem līdz šim nepieejamus elementus augsnē (Marschner 1983).

- Tiešā apmaiņa – augs ar augsnes fragmentu samainās ar joniem tiešas pieskaršanās rezultātā.
- Netieša apmaiņa – augs ar augsnes fragmentu samainās ar joniem izmantojot ūdeni kā starpnieku (Epstein 2005).

1.7. Krastmalas skābenes *Rumex hydrolapathum* dabā

Skābeņu ģints jeb *Rumex* spp. pārstāvji ir pielāgojušies dažādiem augšanas apstākļiem. Par ko liecina sugu plašā izplatība dažādos biotopos. Ģints sugas kā *Rumex thyrsiflorus* un *Rumex acetosa*, *Rumex acetosella* ir sastopamas ļoti sausos un barības vielām nabadzīgos biotopos. Taču šīs pašas ģints sugas *Rumex hydrolapathum*, *Rumex crispus*, *Rumex conglomeratus*, *Rumex palustris* ir atrodami biotopos, kur mitruma līmenis ir liels. Šo mitrum mīlošu sugu dzīvojamajās teritorijās norisinās regulāri un ilgstoši plūdi (Visser 1996). Ir atšķirības starp *Rumex* ģints augu augšanas apstākļiem, taču lielākā daļa no augiem ir sastopami, skābos, mitros, ar barības vielām nabadzīgos apstākļos (Assche 2002).

Krastmalas skābene jeb *Rumex hydrolapathum* ir visā Eiropā plaši sastopams augs. Taču kontinenta rietumu daļa tā izplatība ir retāka kā austrumos. Šī suga apdzīvo pārmitrus, periodiski aplūstošus apstākļus. Augs ir sastopams dažādu dabīgu un mākslīgu ūdenstipjū palu zonā kā arī dažādos reljefa padziļinājumos (Sager 2006). Reljefa padziļinājumos uzkrājas un lietus ūdeņi, saglabājot mitrumu ilglaicīgi. Krastmalas skābene *Rumex hydrolapathum* arī ir sastopams izteikti mitrās piejūras teritorijas. Dažos gadījumos augs arī pilnvērtīgi attīstās seklos ūdeņos, piemēra – seklās lagūnās (Priedītis 2014). Atšķirībā ar pārējām *Rumex* ģints sugām krastmalas skābene *Rumex hydrolapathum* ir sevišķi izturīga pret pārlietu lielo mitrumu un periodiskiem plūdiem par ko liecina, eksperimentāli pierādītā, straujā sakņu attīstība appludinātā stāvoklī (Visser 1996).

1.8. Pārmitro zālāju un ieplaku augšanas apstākļi augiem

Mitrāju teritorijām ir raksturīgi unikāli apstākļi, kas ir iemesls tur augošo augu unikālajiem pielāgojumiem. Viens no augu izaicinājumiem, lai izdzīvotu mitrājos, ir nepieciešamība izdzīvot vidē ar mazu skābekļa daudzumu. Periodiski mitrā teritorijā augsnes ventilācija, bagātināšanās ar skābekli ir līdz pat tūkstošs reizēm sliktāka kā vidēja mitruma teritorijās. Izteikta augsnes hipoksija jeb skābekļa trūkums ir vērojams applūšanas laikā (Alhdad 2015). Pie regulāras augsnes noplūšanas dzīvnieku aktivitāte tajā samazinās, kā rezultātā neveidojas pazemes dzīvnieku tuneļi. Dzīvnieku un augsnes irdināšana ir nepieciešama augsnes ventilēšanai. Regulās augsnes mitrināšanās un izžūšanas cikls izraisa augsnes sablīvēšanos. Augsnes sablīvēšanās apgrūtinātu skābekļa nokļūšanu augsnē, tā apgrūtināti irdinās, potenciālie racējdzīvnieki no tās izvairās. Tāpēc skābekļa trūkums ir novērojams pat mitrāju izžūšanas laikā (Nikodemus 2009).

Samazināts skābekļa daudzums augsnē izraisa izmaiņas augsnes jonu oksidācijas pakāpēs. Daudzi līdz šim augiem nepieejami joni kļūst pieejami. Kā, piemēram, Fe^{+3} un Mn^{+3} ieņem Fe^{+2} un Mn^{+2} formu. Šīs oksidācijas pakāpes pārvērtības ietekmē ļoti lielu daudzumu augsnē esošo jonu (Sparks 2003). Liela daļa izmainītajiem atomiem pieder pie smago metālu grupas, tāpēc šādos apstākļos ir palielina iespēja augiem uzņemt kritisku devu smago metālu (Kashem 2001). Liela smago metālu pieejamība var izraisīt augu bojā eju. Īpaši pakļauti šim riskam to teritoriju augi, kuru augsnes parametri ir ar skābu pH. Augsnē ar skābu pH ir liels augiem pieejamo jonu daudzums (Visser 1996).

Ūdens erozijas ietekmē liels daudzums minerālā materiāla nonāk no augstāka reljefa teritorijām uz zemākām. Lietus, strautu ūdens plūsma pārvieto daudzus minerālelementus un mālu daļiņas no stāvām teritorijām un līdzenumiem uz ieplakām, kurām atrodas mitrāji. Šīs ietekmes iespaidā mitrājos palielinās māla daļiņu skaits un minerālelementu daudzums. Tāpēc mitrāji ir potenciāli pakļauti smago metālu pārbagātībai (Mitchell 1972).

Regulāri mitrās teritorijās augsne oarasti sastāv no ļoti sīkām daļiņām. Augsni klasificē kā māla, smilšmāla vai arī, retākos gadījumos, mālsmilti. Šajos augsnes veidos daļiņas veido izteiksmīgu sablīvējumu un ierobežo ūdens kustību zemes dzīlēs. Tā rezultātā veidojas ar ūdeni bagātais virszemes slānis, kas izveido mitrāju (Nikodemus 2009). Mazajām māla daļiņām spēj adsorbēt uz savas virsmas dažādus augsnes jonus. Daudzi no adsorbētajiem elementiem ir

smagie metāli. Šī tipa augsne veicina smago metālu un citu savienojumu uzkrāšanos teritorijā (Rivera-Becerril 2013).

Mitrājs ir uzskatāms par vienu teritorijas fragmentu, tajā ir sastopama reljefa heterogenitāte jeb teritorijas dažādība. Šai dažādībai ir liela nozīme, veidojot daudz un dažādus mikrobiotopus. Katram no mikrobiotopam ir raksturīgi unikāli apstākļi: mitruma līmenis, saules gaismas daudzums, pH, skābekļa daudzums, barības vielu daudzums, smago metālu pieejamo jonu daudzums (Vivian-Smith 1997). Ir iespējams novērot pakāpenisku vienu un to pašu īpatņu sugas īpatņu morfoloģiskās formas maiņu līdz ar to atrašanās vietas izmaiņu mitrājā. Zemāk esošām augu formām ir raksturīgs izteikti mazāks izmērs (Alhdad 2015).

1.9. Augu aizsardzības reakcijas uz palielinātu smago metālu daudzumu vidē

Daudzi no smagajiem metāliem ir augiem nepieciešamie mikroelementi, taču pārmērīgā daudzumā tie spēj izraisīt negatīvu ietekmi uz augu (Sharma 2006). Daudzas augu sugas ir pielāgojušās dažādiem augšanas apstākļiem, ar plašu pieejamo minerālelementu variāciju (Antonovičs 1971). Tāpēc dažādām sugām paradās metāla intoksikācijas pazīmes pie ļoti dažādām smago metālu un citu elementu devām. Katras sugas un tās indivīda jutība uz kādu no smagajiem metāliem unikāla, taču bojājumi, ko izraisa smagie metāli visai līdzīgi. Tāpat arī augu aizsardzības reakcijas pret smago metālu intoksikāciju. Daudzām sugām aizsardzības mehānismi ir ļoti līdzīgi (Santos 2017).

Viena no galvenajām problēmām, ko izraisa palielināts smago metālu daudzums auga organismā ir oksidatīvais stress (Fernando 2016). Oksidatīvais stress ir parādība, kad airobajās reakcijās veidojas nevajadzīgie produkti kā superoksīdi un arī brīvie radikāļi. Šie savienojumi spēj agresīvi mijiedarboties ar auga organismā esošām struktūrām. Var tikt iznīcināti dažādi augu proteīni, organoīdu membrānas un pat arī augiem nepieciešamie barības materiāli: ciete, saharoze, glikoze u.c. (Sies 1997).

Viens no labākajiem veidiem kā augs spēj pasargāt savu organismu no brīvajiem radikāļiem ir savās fizioloģiskajās reakcijās nodrošināt pietiekošu antioksidantu daudzumu. Pie antioksidantiem ir pieskaitāmi dzīvo organismu savienojumi, kas novērš brīvo radikāļu veidošanos vai arī tos neitralizē (Larson 1988). Daži no augos esošajiem flavonoīdiem spēj nodrošināt antioksidantu funkciju. Šie savienojumi ir ļoti daudzsoļi, jo tie spēj veidot lielas

rezerves augu esošajās vakuolās un vajadzības gadījumā nodrošināt aizsardzību no brīvo radikāļu ietekmes (Agati 2012).

Liela nozīme brīvo radikāļu neitralizēšanai ir dažādiem augu enzīmiem. Daudzi enzīmi nodrošina antioksidanto darbību (Verma 2002). Enzīmu grupa: superoksīda dismutāze, kas nodrošina ūdeņraža peroksīda un superoksīda pārvēršanos par nekaitīgiem savienojumiem kā skābeklis un ūdens (Bowler 1994). Superoksīda dismutāze sastopama visos dzīvajos organismos. Šie enzīmi ir sastopami gan prokariotus, gan eikariotus. Šo enzīmu nozīme oksidatīvā stresa novēršanai ir sevišķi svarīga. Pie palielināta oksidatīvā stresa, smago metālu ietekmē, augu organismā palielinās superoksīda dismutāzes gēnu ekspresija (Alsher 2002). Viens no galvenajiem faktoriem, kas spēj izraisīt gēnu ekspresijas palielināšanos, ir brīvo radikāļu molekulas, kas mijiedarbojoties ar šūnas fizioloģiskajiem procesiem spēj strādāt kā signāl molekulas un izmainīt šūnas iekšējo procesu gaitu (Slesak 2007).

Daudzi augi ir spējīgi pasargāt savu organismu no oksidatīvā stresa, izmantojot simbiotiski saistītus organismus. Šis aizsardzības veids ir netiešs pret brīvajiem radikāļiem. Lielisks piemērs tam ir simbiotiskās sēnes, kas spēj sevī uzkrāt augsnē nonākušos smagos metālus, nobloķējot to iekļūšanu augos (Shutzendubel 2002).

Daudzi pret smagajiem metāliem toleranti augi spēj veikt izmaiņas saknes appoplastā. Pēc pietiekoši ilga laika apstākļos ar lielu smago metālu daudzumu, sabiezinās šūnapvalki saknes šūnās, bet eksoderma un endoderma izveido smagajiem metāliem grūti pārvaramu barjeru (Hall 2002). Šāda adaptācija ir efektīva augu izdzīvošanai, bet tā samazina auga spējas attīrīt augsni no smagajiem metāliem, tāpēc indivīdi ar šādu pielāgojumi ir nederīgi rizofiltrācijai. Taču tos var efektīvi izmantot kā kultūraugus ar smagajiem metāliem piesārņotās teritorijās (Gomes 2011).

Lielisks piemērs ir lapas, kas reizi laika periodā nomainās. Daudzas pilsētās esošās koku sugas ir spējīgas savā organisma uzņemt lielu smago metālu daudzumu, uzkrāt tos lapās un attīrīt savu organismu no smagajiem metāliem lapkriša laikā (Urterbrunner 2007). Arī smago metālu pārbagātības apstākļiem pielāgoti lakstaugi spēj izmantot struktūru maiņu, lai atbrīvotos no smagajiem metāliem. Galvenais iemesls kādēļ šo elementu uzkrāšanās norisinās tieši lapās – transpirācijas ietekmē caur vadaudiem (ksilēmU) norisinās ūdens un neorganisko vielu pārvietošanās uz lapām. Kad šie materiāli tajās nonāk, ūdens pamet lapu transpirācijas rezultātā,

taču smago metālu joni nespēj izdalīties caur atvārsnītēm vai lapas virsējo slāni, tāpēc smagie metāli paliek tur (Clemens 2002).

1.10. Hlorofils un tā īpašības

Hlorofils ir nozīmīgāka organiskā molekula fotosintēzes procesā. Šī molekula sastāv no vairākiem atomiem: oglekļa, ūdeņraža, skābekļa, slāpekļa un magnija. Ir divi galvenie hlorofila veidi: hlorofils a un hlorofils b. Hlorofils ir nozīmīga sastāvdaļa hloroplastos esošajos tilakoīdos. Hlorofils veido fotosistēmu 1 un fotosistēmu 2. Fotosistēmas uzņem vidē esošo gaismas enerģiju un realizē fotosintēzes procesu (Wttstein 1995). Hlorofilu kvalitāte un kvantitāte ir ļoti jutīga pret dažādiem stresa apstākļiem. Dažādi nevēlami apstākļi kā nepiemērota temperatūra, gaismas trūkums, oksidatīvais stress, minerālelementu trūkums spēj būtiski ietekmēt augā esošā hlorofila koncentrāciju un fluorescenci (Kooten 1990).

Hlorofila koncentrācijas lielā jutība pret smago metālu pārbagātību augsnē ir saistīta ar lieko smago metālu nevēlamu iejaukšanos augu metabolismā. Smago metālu atomi spēj izkonkurēt struktūrām nepieciešamos atomus, kā, piemēram, magnijs hlorofilā. No pārbagātās ar metāliem ietekmes spēj veidoties milzīgs daudzums brīvo radikāļu, kas spēj agresīvi mijiedarboties ar hlorofila molekulām (Gonzalez 1993). Tās pilnībā iznīcinot. Tāpēc smago metālu pārbagātība samazina hlorofila koncentrāciju augos (Carter 2001).

Lai nodrošinātu fotosintēzes procesu hlorofilam ir nepieciešams uzņemt ar enerģiju bagātos kvantus un iesaistīt viņus fotosistēmu darbībā (Blankenship 2014). Diemžēl, gaismas absorbcijas process nav simtprocentīgi efektīvs. Uzņemot enerģiju no ārējās vides hlorofils to ne tikai iesaista fotosintēzes procesā, bet arī izstaro to apkārtņē. Parādība, kad hlorofils izstaro enerģiju ir hlorofila fluorescence (Maxwell 2000). Kaut gan hlorofila fluorescencē aiziet niecīgi daudzumi enerģijas, aptuveni viens līdz divi procenti. Izstarotā enerģija ir infrasarkanajā spektrā. Taču to ir iespējams uztvert ar optiskajām metodēm. Pēc fluorescences pakāpes ir iespējams noteikt hlorofila kvalitāti. Jo vairāk enerģijas aiziet fluorescencē jo hlorofila molekula ir defektīvāka. (Jožikova 2018).

1.11 Elektrolīti un to daudzums augos

Elektrolīti ir elektrību spējīgas vadīt daļiņas. Daudzi no elektrolītiem ir nozīmīgi komponenti dzīvo organismu struktūrās. Pie elektrolītiem pieder dažādi joni: K^+ , C^{+2} , Cl^- , Mg^{+2} , Fe^{+2} un daudzi citi. Pie dažādiem nevēlamiem apstākļiem: liela karstuma, mehāniskiem

bojājumiem, oksidatīvā stresa, slimībām, traucēta metabolisma. Tiek sabojātas organismu šūnu iekšējās struktūras. Elektrolīti izkļūst vidē. Elektrolītu noplūdes daudzums var liecināt par bojājumu pakāpi dzīvajā organismā (Demidchik 2014).

2. Metodes

2.1. Augu izaudzēšana

Krastmalas skābenes - *Rumex hydrolapathum* sēklas ieguva no augiem Latvijā, Mērsraga teritorijā. Pēc iegūšanas sēklas divu nedēļu laikā izzāvēja pie istabas temperatūras. Lai nodrošinātu sēklu miera perioda pārtraukšanu, sēklas turēja diedzēšanas skapī pie temperatūras 4 °C divas nedēļas. Diedzēšanas skapis modelis MLR-352H. Pēc sēklu sagataves tās ievietoja specializētos plastmasas diedzēšanas konteineros, tajos bija ievietota 60 °C temperatūrā autoklāvēta “*Biolan*” augsne. Augsnes bija mitrināta ar sterilizētu, dejonizētu ūdeni. Diedzēšanas konteineros uz mitrajā augsnē tika viegli iespiestas sēklas. Diedzēšanas skapja apstākļi dīgšanai: fotoperiods 16 stundas, dienas temperatūra 20 °C, bet nakts 15 °C. Kopskaitā 18.09.2018. tika sagatavoti četri diedzēšanas konteineri ar 462 sēklām.

1. tabula
Diedzēšanai sagatavoto konteineru sēklu daudzums
Table 1
Seed amount in germination containers

| Diedzēšanas konteiners (NPK) | Sēklas sagatavotas diedzēšanai (gab) | Sēklu daudzums kopā (gab) |
|------------------------------|--------------------------------------|---------------------------|
| 1 | 108 | 462 |
| 2 | 117 | |
| 3 | 117 | |
| 4 | 120 | |

Pēc desmit dienām diedzēšanas minētajos apstākļos 11.10.2018. tika novērots liels daudzums izdīgušu sēklu. Diedzēšanas rezultāti bija uzskaitīti un apstrādāti ar programmas “*Microsoft Excel*” palīdzību.

2. tabula
Iegūtie dīdžēšanas rezultāti
Table 2
Results of germination

| Dīdžēšanas konteiners (NPK) | Sēklas sagatavotas dīdžēšanai (gab) | Sēklu daudzums kopā (gab) | Izdīgušo sēklu daudzums (gab) | Izdīgušo sēklu proporcija | Izdīgušo sēklu daudzums kopā (gab) | Izdīgušo sēklu vidējā proporcija |
|-----------------------------|-------------------------------------|---------------------------|-------------------------------|---------------------------|------------------------------------|----------------------------------|
| 1 | 108 | 462 | 92 | 85% | 399 | 86% |
| 2 | 117 | | 101 | 86% | | |
| 3 | 117 | | 97 | 83% | | |
| 4 | 120 | | 109 | 91% | | |

Pietiekošu attīstības stadiju sasnieguši jaunie augi tika izrakti no dīdžēšanas konteineriem. Veselīgākā izskata indivīdi: ar lielāko vasu, pietiekoši labi attīstītām lapām, bija atlasīti un iestādīti atsevišķos nelielos veģetācijas traukos. Ar mērķi nodrošināt augu aizsardzību no jaunajiem potenciāli bīstamajiem apstākļiem, augus ar jaunajiem veģetācijas traukiem ievietoja 48 litros lielos plastmasas konteineros, kuros uzturēja mitruma līmeni ar ūdens pulverizatora palīdzību.



3. attēls. Mazajos veģetācijas traukos pārstādītie augi.
Figure 3. In small vegetation containers planted plants.

Plastmasas konteinerus pārvietoja uz siltumnīcu. Augi atradās pilnīgi automatizētā siltumnīcā *HortiMax*. Apgaismojumu siltumnīcā nodrošināja lampas *Master Son-TPIA Green Power CG T 400W* un *Powerstar HQI-BT 400W/D PRO*. Siltumnīcas fotoperiods ilga 16 stundas temperatūra siltumnīcā dienā bija 23 °C bet naktī 15 °C. Vidējais mitrums siltumnīcā variēja no 60 līdz 70%. Ja bija fiksēta kāda auga augsnes pārklāšanās ar pelējuma sēni, tad veica augsnes virsējā slāņa irdināšanu. Pakāpeniski tika atvērti plastmasas konteineru vāki. Lēnām augi pielāgojās pie jaunajiem apstākļiem. Augiem sasniedzot pietiekoši lielu izmēru (augstums 5 centimetri) 09.11.2018. augus pārstādīja 1,2 litrus tilpuma veģetācijas traukā. Katrā no veģetācijas traukiem ievietoja “*Biolan*” augsni un mitrināja to ar dejonizētu ūdeni. Kopumā pārstādīja 72 augus. Tie tika atlasīti morfoloģiski: pēc vasas izmēra, lapu kvalitātes. Augus laistīja katru 2. līdz 3. dienu, pie katras laistīšanas tie tos pārvietoja pēc nejaušības, lai izslēgtu priekšrocības un nevēlamās pozīcijas iespēju pētāmajiem augiem.



4.attēls. Lielajos veģetācijas traukos pārstādīta augi.
Figure 4 In big vegetation containers planted plants.

2.2. Eksperimenta sagatavošana, Mn pievienošana

Līdz 20.11.2018. tika dots laiks augiem atgūties no pārstādīšanas stresa. Turpmākā eksperimenta gaitai atlasīja veselīgākos, labāk attīstījušos augus. Augi spontāni tika sadalīti sešās grupās: A, B, C, D, E, F kurām pievienoja dažādu daudzumu $MnSO_4$. Galvenā pievadīšanas forma bija izšķīdinot $MnSO_4$ atbilstošā dejonizēta ūdens tilpumā. Katru grupu laistīja ar plānā paredzēto $MnSO_4$ daudzumu. A grupas (kontroles grupa) augiem netika

pievadīts MnSO₄. B, C, D, E grupu augiem MnSO₄ bija pievienots pakāpeniski vairākās devās, taču F grupas augiem visa deva tika pievienota vienā reizē. Reizi divās nedēļās tika pievienots neliels mēslojuma “Kristalon” Green daudzums visiem augiem (5 ml mēslojuma uz 250 ml dejonizēta ūdens).

3.tabula
 Augu grupas un tām paredzētā smagā metāla Mn pievadīšana
Table 3
 Plant groups and plan of Mn adding

| Grupa | Plānotais pievadītais MnSO ₄ daudzums (g/l) | Plānotais pievadītais Mn daudzums (g/l) | Pievadīšanas forma |
|-------|--|---|--------------------|
| A | 0 | 0 | - |
| B | 0.44 | 0.1 | akūts |
| C | 1.1 | 0.25 | pakāpenisks |
| D | 2.2 | 0.5 | pakāpenisks |
| E | 4.4 | 1 | pakāpenisks |
| F | 4.4 | 1 | akūts |

2.3. Augu lapu ievākšana

Balstoties uz smago metālu pievadīšanas plānu norisinājās arī augu garākās lapas ievākšana turpmākajām analīzēm. Pēc lapas ievākšanas to sagriezta uz pusēm dzīslas vietā, nosvēra, kompakti saliec un ielikta aploksnē, kuru ievietoja saldētavā. Sasaldēto lapu izmantoja turpmākajām enzīmu analīzēm. Uz katras aploksnes tika uzrakstīts kods: auga grupa un indivīda numurs grupā.

4. tabula
 Augu apstrādes un lapu ievākšanas plāns
Table 4
 Plant processing and leaf gathering plan

| Ekspierimenta diena | Grupa kurai tika ievākta lapa | Grupa, kurai tika pievadīts MnSO ₄ | Pievienotais MnSO ₄ daudzums uz augu (g) |
|---------------------|-------------------------------|---|---|
| 1 | A | B, C, D, E | 0.44 |
| 2 | A, B | C, D, E | 0.66 |
| 4 | A, B, C | D, E | 1.10 |
| 8 | A, B, C, D | E, F | 2.20 |
| 8 | A, B, C, D | F | 4.40 |
| 14 | A, B, C, D, E, F | - | - |
| 15 | A, B, C, D, E, F | - | - |
| 16 | A, B, C, D, E, F | - | - |
| 17 | A, B, C, D, E, F | - | - |
| 22 | A, B, C, D, E, F | - | - |

2.4. Hlorofila parametru analīzes

Pēdējā eksperimenta dienā grupu A, E, F augiem veica papildus analīzes. Noteica hlorofila fluorescenci un hlorofila koncentrāciju, izmantojot nedestruktīvas metodes. Hlorofila daudzums bija izmērīts ar hlorofila mērītāju CCM-300. Hlorofila fluorescences mērījumi, izmantojot SPAD hlorofila mērītāju. Lai nodrošinātu veiksmīgus hlorofila fluorescences mērījumus uz augiem novietoja gaismu aizsedzošus klipšus. Aizsegšana ilga 20 minūtes. Tādā veidā pilnībā apturēja mērāmajos fragmentos visus fotosintēzes procesus. To veica, lai pēkšņās apgaismošanas un mērīšanas periodā būtu iespējams uzskaitīt visu fragmentā esošo hlorofila parametrus. Izmantojot fluorometru "Handy PEA" bija veikti mērījumi. Hlorofila fluorescences un daudzuma mērījumus veica visiem palikušajiem trīs grupu augiem, kopumā divpadsmit augi (četri augi no katras grupas). Katram no pētāmajiem augiem mērījumus veica tieši garākajām lapām. Veselīgumu noteica pēc lapas krāsas un redzamu bojājumu neesamības. Mērījumus veica katram indivīdam divām augšējām un divām apakšējām lapām.



6. attēls. Krastmalas skābeņu *Rumex hydrolapathum* sagatavošana pirms hlorofila fluorescences mērīšanas ar SPAD hlorofila mērītāju.

Figure 6 Great Water Dock *Rumex hydrolapathum* preparing to chlorophyll analysis

2.5. Elektrolītu noplūdes analīzes

Pēc hlorofila parametru mērījumiem norisinājās elektrolītu noplūdes testa analīzes. No katra auga divām augšējām un divām apakšējām lapām. Lapas atlasīja pēc morfoloģiskajām veselīguma pazīmēm. No lapām ieguva 0.5 cm² lielus lapu fragmentu diskus. Pēc noskalošanas dejonizētā ūdenī un paraugus turēja dejonizētā ūdenī, istabas temperatūrā. Augu materiālu disku mērcēšana norisinājās divdesmit divu stundu garumā. Pēc mērcēšanas analizēja augu materiāla disku šķidrumu. To veica ar B-771 mērītāju. Veica analīzi 300 mikrolītriem. Pēc pirmajiem mērījumiem ar paraugiem esošās mēģenes inkubēja astoņdesmit grādu karstā ūdens vannā. Inkubēšana norisinājās divas stundas. Pēc tās norisinājās atkārtotā elektrolītu noplūdes analīze. Abi elektrolītu mērījumi vienam paraugam tika proporcionāli salīdzināti procentos starp kopējo un sākotnējo elektrolītu noplūdi, dati tika apstrādāti un ievietoti tabulās izmantojot datorprogrammu “*Microsoft Excel*”.

2.5. Augu vasas parametru mērīšana

Šo eksperimentu veica divpadsmit augiem (četriem no A, E, F grupām) Augu lapas nogrieza, sadalīja dažādās grupās: lielās lapas, mazās lapas, jaunās lapas, vecās lapas. Katras grupas lapu daudzumu uzskaitīja un nosvēra. Atbilstoši katra indivīda lapu grupai, tās ievietoja papīra maisos uz kuriem pierakstīja svarīgākā informācija par saturu: lapu grupa, lapu daudzums, lapu svaigās masas svars. Pēc lapu sargrupēšanas tās ievietoja žāvēšanas skapī uz četrām dienām, 60 °C temperatūrā. Kad lapas zaudēja ūdeni, tās atkāroti svēra. Pēc tam noteica to sausnas masu un proporcija attiecībā pret svaigo stāvokli. Dati tika apstrādāti un ievietoti tabulās izmantojot datorprogrammu “*Microsoft Excel*”.

2.6. Augu augsnes parametru novērtēšana

Šo eksperimentu veica tikai divpadsmit augiem (četriem no A,E,F grupas). Pēc lapu ievākšanas procesa norisinājās katra auga veģetācijas trauka esošās augsnes elektrovadītspējas noteikšana. Tika izmantots WET-2 sensoru. Arī katrā veģetācijas trauka noteica augsnes pH. Noteikšana izmantojot pH metru. Katrā veģetācijas traukā augsnes elektrovadītspēja un pH noteica četrās dažādās vietās, pie katra veģetācijas trauka malas. Dati tika apstrādāti un ievietoti tabulās izmantojot datorprogrammu “*Microsoft Excel*”.

7. attēls. Augu veģetācijas trauka augsnes parametru noteikšana.

Figure 7. Plants soil parameter determination.

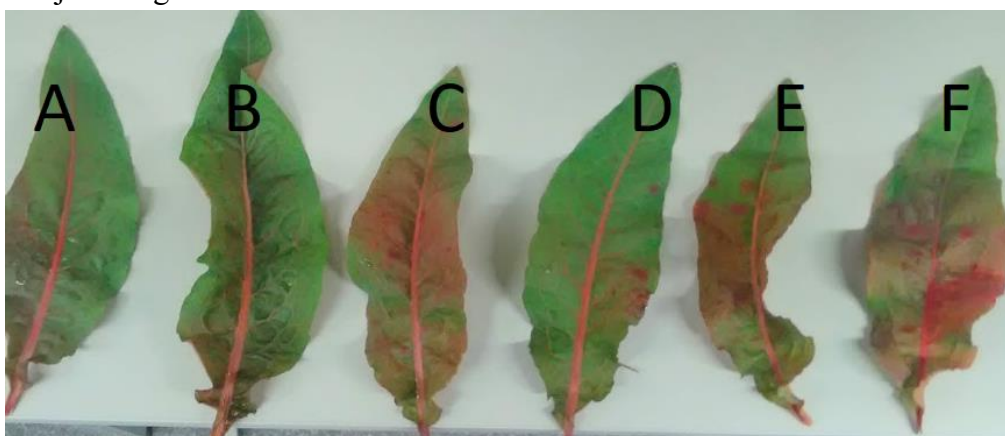


2.7. Enzīmu analīzes

Katrai ievāktajai un sasaldētajai lielākajai lapai veica peroksidāzes enzīma aktivitātes noteikšana. Lai no auga iegūtu peroksidāzes enzīmu izmantoja 0.5 gramus smagu saldētās lapas fragmentu. Fragmentu sasmalcināja izmantojot pestu. Pie katra lapas fragmenta pievienoja (25 mM Hepes + 1 mM EDTA) buferi un nelielu daudzumu polivinilpolipirrolidona, kā arī 0,6/100 ml tritona ekstrakcijas šķīduma. Paraugu centrifugēja piecpadsmit minūtes uz 15 000 apgriezieniem minūtē. Iegūtais supernatānu ielēja ķīvetē analizēja ar fotospektrometrijas palīdzību. Ķīvetes satura izmaiņas analizēja trīs minūšu garumā pie absorbcijas 410 nm. Kīvetē ievietoja 200 mikrolitru iegūtā augu lapu ekstrakta, 3 ml reakcijas maisījuma (275 pirokatehola + 20 mM Na fosfāta bufera /100 ml). Iegūtos datus analizēja ar datorprogrammu “*Microsoft Excel*”.

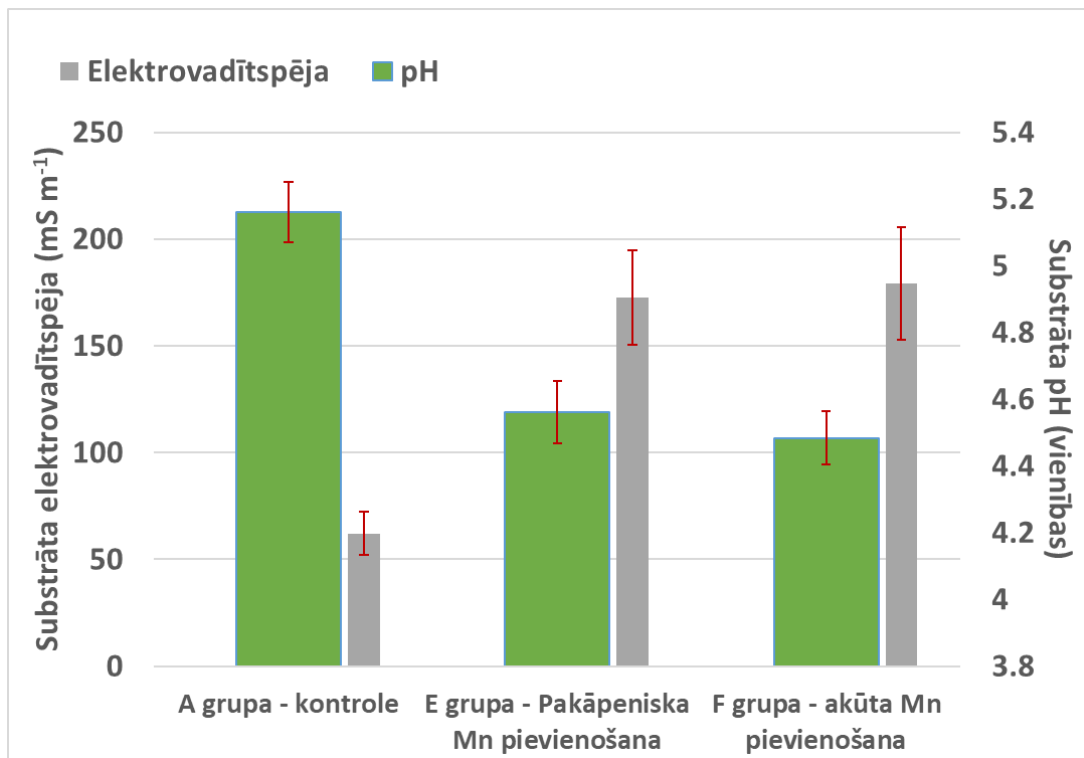
3.Rezultāti

Visa eksperimenta laikā augi attīstījās siltumnīcas apstākļos. Augu grupām, kurām pievadīja lielāko smago metālu daudzumu, uz lapām izveidojās redzamas bojājumu pazīmes (8. attēls). Ir vērojams, ka kontroles grupas A augu lapas un grupas B augu lapas bija visveselīgākās. Tās bija bez redzamiem bojājumiem. Taču turpmākajām grupām novēroja pakāpenisku plankumu parādīšanos. Palielinot smago metālu pievadi, palielinājās bojājumu pakāpe. Katrai grupai palielinājās violeto plankumu laukums un/vai arī to krāsas intensitāte. Pie lielākām Mn koncentrācijām arī samazinājās lapu zaļums, tās kļuva bāli dzeltenas. Visizteiktākie plankumi bija F grupas augu lapām. Tas liecina par īpaši smagiem bojājumiem Mn akūtās pievades ietekmē. Redzamais attēls liecina, ka smagais metāls Mn spēj nodarīt vizuāli redzamus bojājumus krastmalas skābenei *Rumex hydrolapathum* sasniedzot koncentrāciju 0.25 g/l.



8. attēls. Dažādu grupu augu lapas. No kreisās A kontroles grupa, B 0.1 Mn pakāpeniski, C 0.25 Mn pakāpeniski, D 0.5 Mn pakāpeniski, E 1.0 Mn pakāpeniski, F 1.0 akūti (Mn g/l).
Figure 8. Different group plant leaves. From left A control group, B 0.1 Mn gradually, C 0.25 Mn gradually, D 0.5 gradually, E 1.0 Mn gradually, F 1.0 acutely. (Mn/l)

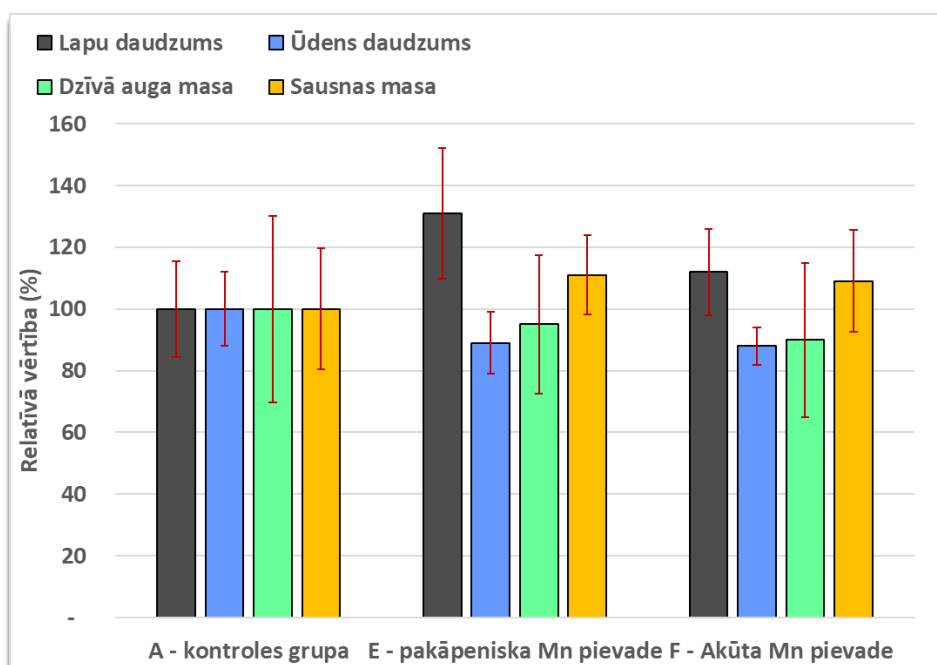
Augsnes analīzes veica trijām augu grupām: A, E, F. No katras grupas analizēja četrus augus. Iegūtie dati (9. attēls) norāda, ka $MnSO_4$ pievadīšana izraisīja atšķirības augsnes pH un elektrovadītāj īpašībās. Neitrālākais pH un mazākā elektrovadītāj spēja bija kontroles augu grupai. Abām grupām, kurām pievadīja $MnSO_4$, būtiski paskābinājās substrāts un palielinājās tā elektrovadītspēja. Starp akūto pievades grupu F un pakāpenisko pievades grupu E nebija redzamas būtiskas atšķirības.



9. attēls. MnSO₄ apstrādes veida ietekme uz krastmalas skābenes *Rumex hydrolapathum* augsnes pH un elektrovadītspēju. Vertikālais, sarkanais nogrieznis norāda SE.

Figure 9. Effect on Great Water Dock *Rumex hydrolapathum* substrate pH and electrical conductivity depending on the type of treatment by MnSO₄. Vertical red line segment show SE.

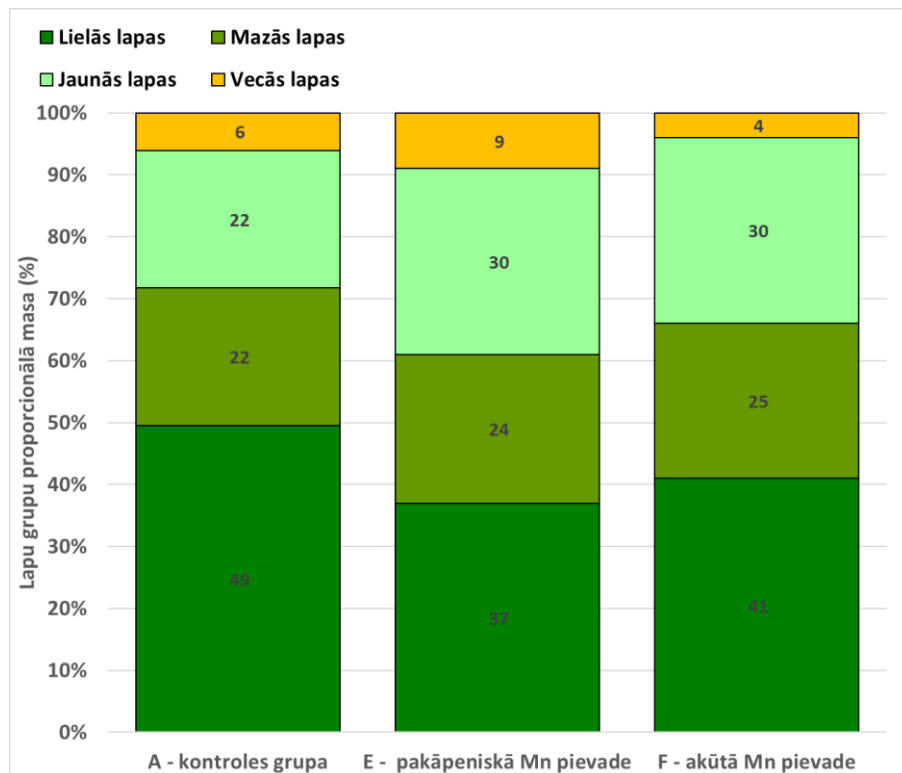
Pētāmā auga morfoloģiskie parametri (10. attēls), kas iegūti no trīs augu grupām, kurā atrodas četri atkārtojumi, uzrādīja atšķirības starp kontroles grupas A un augu grupām, kurām pievadīja smagos metālus: E un F. Abām smago metālu grupām attīstījās lielāks lapu daudzums. Šī atšķirība bija īpaši izteikta pakāpeniskai augu grupai. Bija vērojamas arī atšķirības auga dzīvajā masā un ūdens daudzumā. Abām smago metālu grupām dzīvā masa un ūdens masa bija mazāka nekā kontroles grupai. Kontroles grupai bija arī mazākais sausnas daudzums. Salīdzinot masas datus abām smago metālu grupām nebija vērojami īpaši atšķirīgi parametri iepriekš minētajās masās. Dati apliecina, ka pievadītais MnSO₄ ietekmē dzīvā auga masu un ūdens daudzumu tajā negatīvi, taču palielina lapu daudzumu un sausnas proporcionālo masu.



10. attēls. MnSO₄ apstrādes veida ietekme uz krastmalas skābenes *Rumex hydrolapathum* morfoloģiskajiem parametriem. Vertikālais, sarkanais nogrieznis norāda SE.

Figure 10. MnSO₄ type of treatment effect on great water dock *Rumex hydrolapathum* morphological parameters. Vertical red line segment show SE.

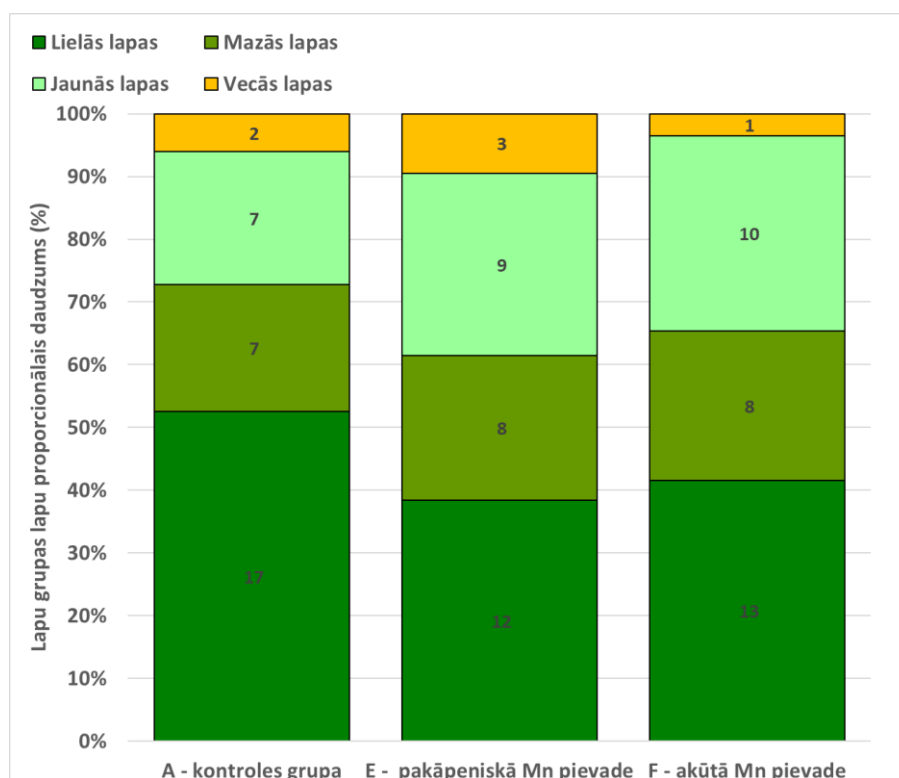
No divpadsmit augiem trijās dažādās grupās iegūtajiem lapu datiem (11. attēls) var novērot to ka, vislielākais lielo lapu daudzums bija kontroles grupai A. Taču pievadot smagos metālus kā grupām E un F tas samazinājās. Smago metālu ietekmē palielinājās mazo lapu daudzums, jauno lapu daudzums. Bija vērojamas nelielas atšķirības starp akūto un pakāpenisko smago metālu grupu. Pakāpeniskai grupai bija vērojams divreiz lielāks veco lapu daudzums vienā un tajā pašā auga dzīvošanas ilgumā. Dati liecina par smagā metāla Mn ietekmi uz lapu daudzumu, palielinot jauno, un mazo lapu veidošanās daudzumu, bet samazinot lielo lapu veidošanās daudzumu. Veco lapu īpatsvara palielināšanās, visticamāk, ir rezultāts tam, ka augs ilgi smago metālu ietekmē, dažas lapas aizgāja bojā.



11. attēls. $MnSO_4$ apstrādes veida ietekme uz krastmalas skābenes lapu veida proporcionālo daudzumu.

Figure 11. $MnSO_4$ type of treatment effect on great water dock *Rumex hydrolapathum* proportional amount of leafes in leaf groups.

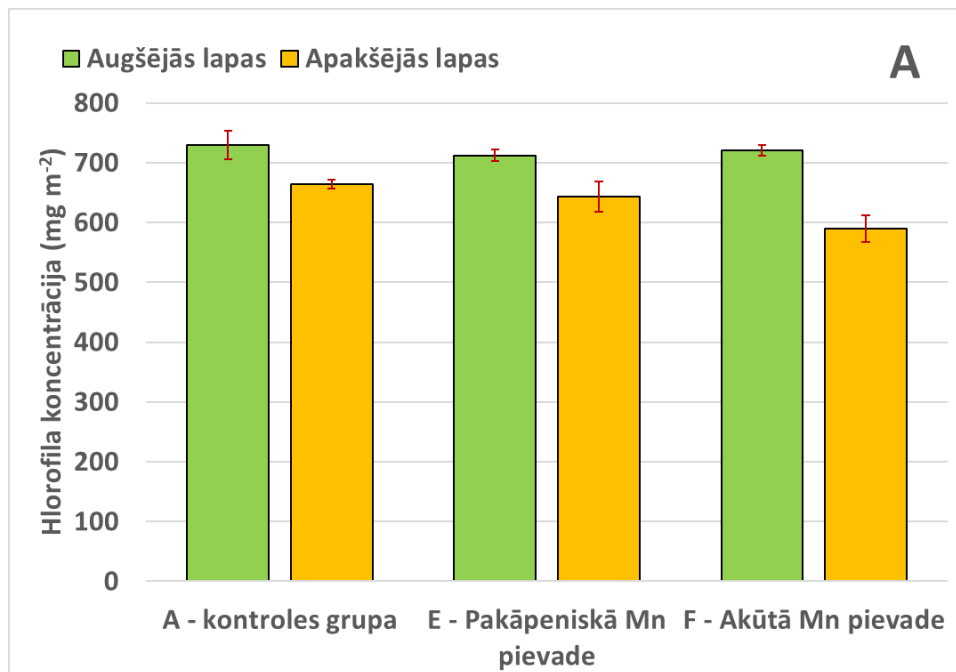
Pēc iegūtajiem augu grupu masas proporcionālajiem masas datiem (12. attēls) no trīs dažādām augu grupām: A, E, F, ar četriem atkārtojumiem katrā ir iespējams novērot to, ka kontroles grupai bija daudz lielāks lielo lapu proporcionālais masas daudzums nekā abām grupām, kurām pievadīja smagos metālus. Eksperiments pierāda, ka smagie metāli negatīvi ietekmē lielo lapu attīstību pētāmajā augā. Taču smagā metāla Mn ietekmē bija palielinājusies mazo un jauno lapu proporcionāla masa. Īpaši izteiksmīgas atšķirības bija F jeb akūtās pievades grupai, tai bija lielākais daudzums jauno un mazo lapu proporcionālās masas. Iegūtie dati apliecina, ka smago metālu pievade sekmē jauno un mazo lapu proporcionālas masas palielināšanos.



12. attēls. MnSO₄ apstrādes veida ietekme uz krastmalas skābenes lapu veida proporcionālo masu.

Figure 12. MnSO₄ type of treatment effect on great water dock *Rumex hydrolapathum* proportional amount of mass in leaf groups.

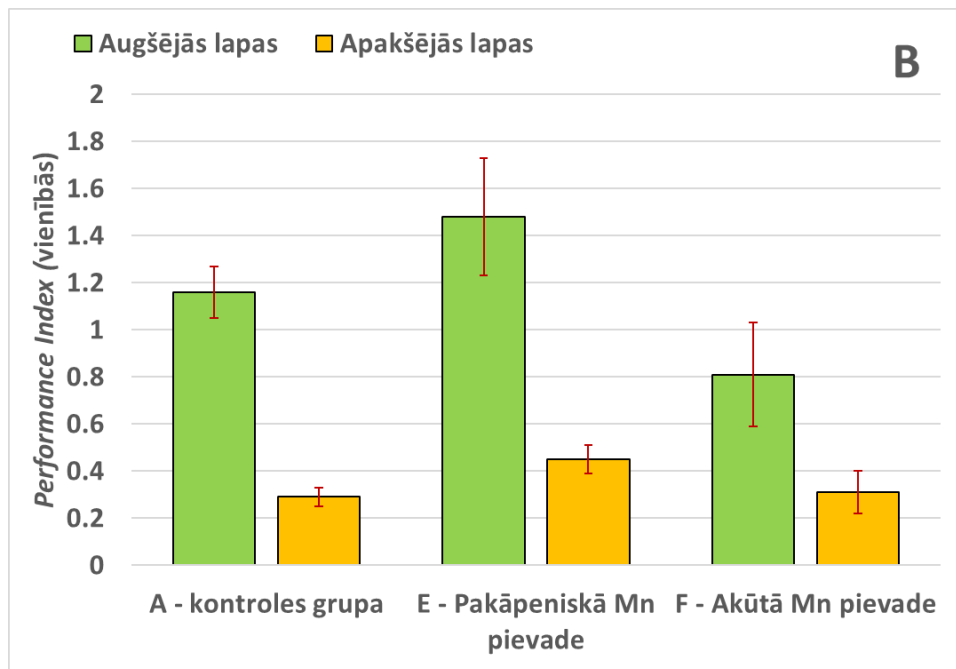
Veicot augu grupām A, E un F hlorofila noteikšanu, katrā grupā analizēja divas augšējās un divas apakšējās lapas četriem augiem. Bija iegūti rezultāti (13. attēls). Iegūtajos datos var redzēt parādību, ka nevienā no grupām nebija būtiskas hlorofila koncentrācijas atšķirības augšējās lapās. Taču var redzēt nelielas atšķirības apakšējo lapu hlorofila koncentrācijas daudzumā. Vislielākā hlorofila koncentrācija bija tieši kontroles grupā. Mazāks daudzums hlorofila koncentrācijas bija vērojams abās grupās, kurām pievadīja smagos metālus. Otrais lielākais hlorofila koncentrācijas daudzums bija pakāpeniskās Mn pievades grupai, taču vismazākais tas bija akūtās Mn pievadīšanas grupai. Parādība liecina, ka smagā metāla Mn neietekmē krastmalas skābenes hlorofila koncentrāciju augšējās lapās, bet negatīvi to ietekmē apakšējās auga lapās.



13. attēls. MnSO₄ apstrādes veida ietekme uz hlorofila koncentrāciju krastmalas skābenes lapās. Ar vertikālu, sarkanu nogrieznis norāda SE.

Figure 13. MnSO₄ type of treatment effect on great water dock *Rumex hydrolapathum* chlorophyll concentration in upper and lower leaves. Vertical red line segment show SE.

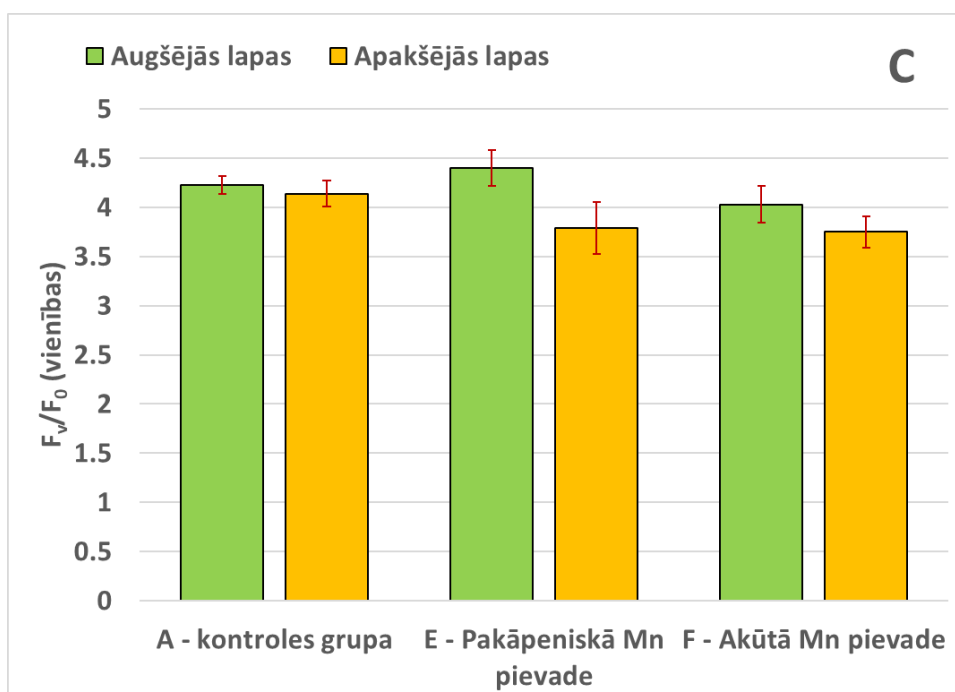
Veicot trīs augu grupu A, E, F četru grupas indivīdu divu augšējo un divu apakšējo lapu *Performance Index* datu iegūšanu (14. attēls), ir iespējams novērot, ka vislielākais gan augšējās, gan apakšējās lapās *Performance Index* bija smago metālu pakāpeniskās grupas E augiem. E grupas dati ļoti atšķīrās no akūtās smago metālu pievades grupas F, kurai gan augšējās, gan apakšējās lapās bija vismazākais *Performance Index*, kas liecina, ka *Performance Index* ir ļoti atkarīgs no smago metālu pievades formas un pie pakāpeniskas to pievades tas palielinās. Vidēja lieluma *Performance Index* gan augšējās gan apakšējās, gan aukšējās lapās bija A grupas jeb kontroles grupas augiem. Parādība apliecina, ka pakāpeniski pievadīti smagie metāli palielina, bet akūti pievadīties metāli samazina *Performance Index*.



14. attēls. $MnSO_4$ apstrādes veida ietekme uz *performance Index* krastmalas skābenes lapās. Ar vertikālu, sarkanu nogriezni norāda SE.

Figure 14. $MnSO_4$ type of treatment effect on great water dock *Rumex hydrolapathum* *performance index* in upper and lower leaves. Vertical red line segment shows SE.

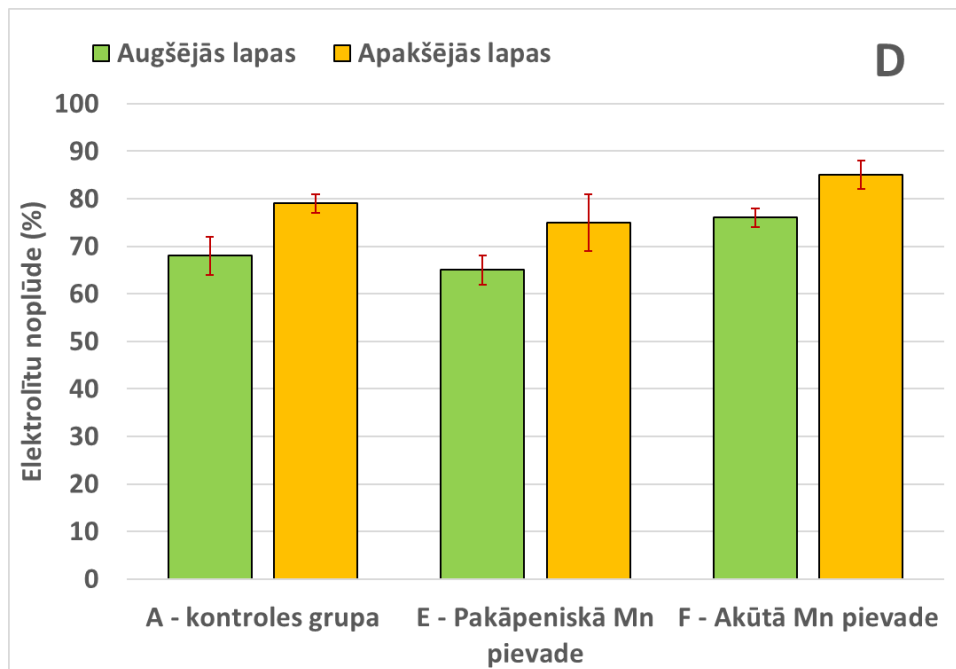
Pēc iegūtajiem hlorofila fluorescences datiem trīs grupu augu: A, E un F, četru augu divās apakšējās un divās augšējās lapās (15. attēls) ir iespējams novērot parādību, ka augšējās lapās neatkarīgi no Mn pievadīšanas veida un daudzuma nebija vērojamas būtiskas atšķirības hlorofila fluorescencē. Visu trīs grupu augšējo lapu fluorescences bija ļoti līdzīgas. Taču ir iespējams novērot to, ka abās smago metālu pievades grupās bija mazāka hlorofila fluorescences vērtības. Gan akūtās, gan pakāpeniskās grupas augiem apakšējās lapās hlorofila fluorescences vērtības bija ļoti līdzīgas. Tāpēc dati liecina, ka Mn daudzums ietekmē hlorofila fluorescenci, bet ne pievades veids.



15. attēls. $MnSO_4$ apstrādes veida ietekme F_v/F_0 krastmalas skābenes lapās.. Ar vertikālu, sarkanu nogrieznis norāda SE.

Figure 15. $MnSO_4$ type of treatment effect on great water dock *Rumex hydrolapathum* F_v/F_0 in upper and lower leaves. Vertical red line segment show SE.

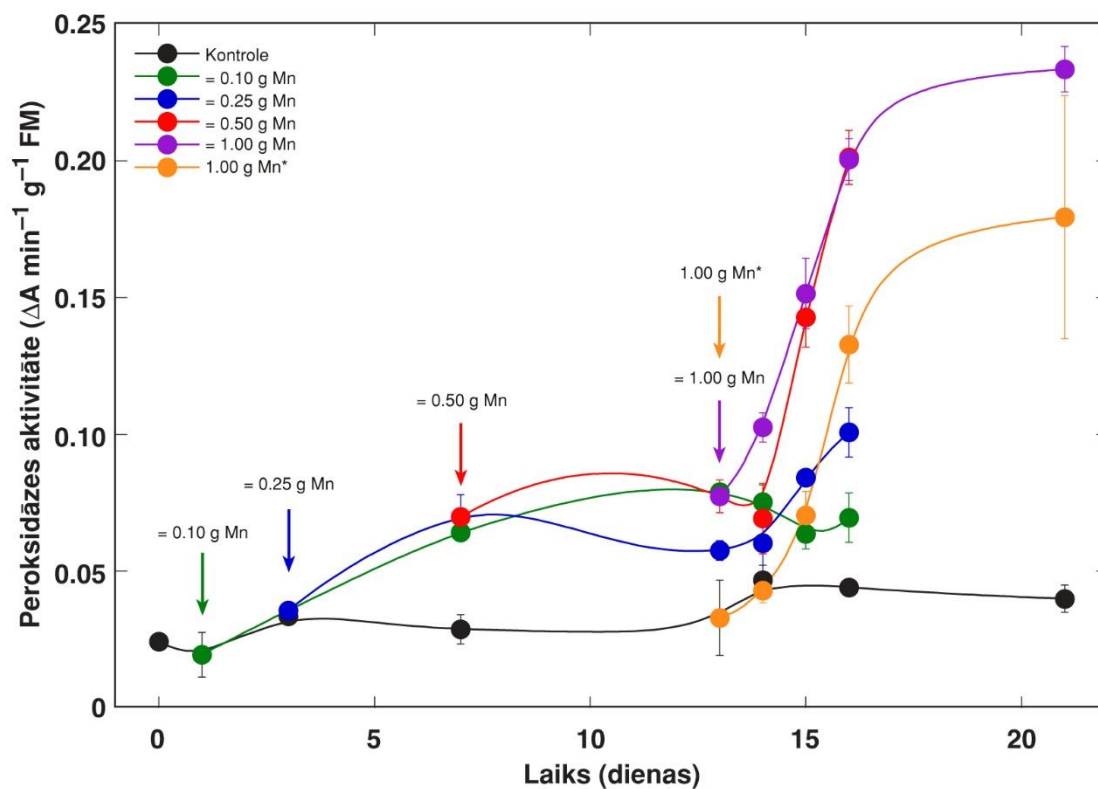
Trīs augu grupu: A, E, F četru augu divu augšējo un divu apakšējo lapu iegūtajos datos par elektrolītu noplūdi (16. attēls) ir iespējams novērot parādību, ka nebija īpašu atšķirību starp elektrolītu noplūdi augšējās lapās un apakšējās A un E grupās. Taču elektrolītu noplūde abos lapu veidos būtiski atšķīrās akūtajā augu grupā F. F grupā elektrolītu noplūde bija izteikti lielāka, kas apstiprina to, ka pēkšņa metālu pievadīšana izraisa lielāku elektrolītu noplūdi. Novērtējot datus ir iespējams piefiksēt parādību, ka elektrolītu noplūde apakšējās lapās vienmēr bija lielāka nekā augšējās.



16. attēls. $MnSO_4$ apstrādes veida ietekme elektrolītu noplūdi krastmalas skābenes lapās. Ar vertikālu, sarkanu nogrieznis norāda SE.

Figure 16 $MnSO_4$ type of tretment effect on great water dock *Rumex hydrolapathum* electrolytes leakage in uper and under leafs. Vertical red line segment show SE.

Novērtējot visu sešu augu grupu: A, B, C, D, E, F peroksidāzes enzīma aktivitāti (17. attēls) ir iespējams piefiksēt parādību, ka vismazākā peroksidāzes enzīma aktivitāte bija kontroles grupā A. Taču visās pārējās grupās, kurām pievadīja smago metālu Mn peroksidāzes enzīma aktivitāte palielinājās līdz ar laiku un pakāpenisku Mn daudzuma palielināšanos substrātā. Tas ļauj secināt to, smagā metāla Mn esamības daudzums spēj palielināt peroksidāzes enzīma aktivitāti. Salīdzinot akūtās grupas F un pakāpeniskās grupas E peroksidāzes aktivitāti, ir iespējams piefiksēt, ka pakāpeniskai grupai enzīma aktivitāte bija lielāka, kas apliecina to, ka enzīma aktivitāti ietekmē Mn pievadīšanas veids, Mn daudzums un laiks pēc apstrādes.



17. attēls. MnSO_4 apstrādes veida un pievadīta daudzuma laika ietekme uz peroksidāzes aktivitāti krastmalas skābenes *Rumex hydrolapathum* lapās.

Figure 17. MnSO_4 type of treatment and amount per time effect on great water dock *Rumex hydrolapathum* peroxidase enzyme activity.

4. Diskusija

Līdz šim ir veikti vairāki eksperimenti, kas pierāda mitrāju augu toleranci pret dažādiem smagajiem metāliem. Šīs augu sabiedrības augi ir pakļauti milzīgam riskam uzņemt lielu daudzumu, tāpēc selektīvi šiem augiem ir izveidojušies dažādi mehānismi organisma aizsardzībai (Deng 2004). Novērtējot šīs augu sabiedrības augu īpašības liela daļa no tiem ir atzīti par lieliskiem fitoremediācijas augiem (Weis 2003).

Pēc iegūtajiem eksperimenta datiem arī krastmalas skābeni *Rumex hydrolapathum* ir pamatoti atzīt, kā smago metālu hiperakumulantu. Šī augs oriģinālais augšanas biotops pieder pie mitrājiem, kuru apstākļi spēj būt bagāti smagajiem metāliem. Liels mitrāju reprezentatīvais potenciāls ir augam, jo tas spēj attīstīties dažādos mitrāja līmeņos. Tā ieplakās un pacēlumos (Assche 2002).

Pētījumā iegūtā informācija liecina, ka pārmērīgs smago metālu daudzums atstāj negatīvu ietekmi uz pētāmā augs attīstību. Samazinās tā masa un ūdens režīms, kas no literatūras avotu viedokļa ir tipiska augs reakcija uz šādu apkārtejo vidi (Lepp 1981). Pētījuma laikā smago metālu ietekmē pētāmais augs sekmēja jaunu lapu instensīvu veidošanos, kas liecina, ka galvenā šī augs stratēģija ir attīrīties no smagajiem metāliem ir nometot lapas, stratēģija ir pierādīta daudziem kokiem (Tomašević 2004), taču priekšlikums ir hipotētisks, jo smago metālu koncentrācija lapās netika pārbaudīta. Pārlicinošai atbildei ir vēlams veikt eksperimentu ar metālu noteikšanu lapās. Tomēr šī potenciāli iespējama īpašība liek izskatīt pētāmo augs, kā ļoti efektīvu potenciālo fitoremediatoru. Iegūtie eksperimenta dati liecināja, ka metālu pievades veids spēj ietekmēt augs fizioloģisko un morfoloģisko stāvokli. Bija vērojamas vairākas atšķirības starp akūto un pakāpenisko grupu. Lielākajā daļā no testiem pakāpeniskā grupa uzrādīja labākus vitalitātes rādītājus un labākas spējas izturēt smago metālu esamību. Balstoties uz literatūras datiem augs toleranci pret smagajiem metāliem ir iespējams izveidot pietiekošā bet ne pārmērīgā to ietekmē (Cheng 2003). Viens no galvenajiem rezistences rādītājiem, kas apliecinājās eksperimenta laikā, bija peroksidāzes enzīma aktivitātes izmaiņas. Literatūras dati liecina, ka pie palielinātas smago metālu ietekmes radīta oksidatīvā stressa spēj palielināties antioksidatīvo enzīmu gēnu ekspresija (Alsher 2002).

Taču iegūtie rezultāti mulšina un rada jautājumu. Vai pakāpeniskās grupas smago metālu tolerance bija tādēļ, ka metāli bija pievienoti pakāpeniski vai arī tāpēc, ka augam kopskaitā bija ilgāks pielāgošanās laiks. Pēc dažu autoru domām smago metālu strauja pievade spēj radīt

būtiskus bojājumus augā, kas padara augu defektīvu uz ilgu laiku, iespējams, pat izraisa tā nāvi. (Shawn 1992).

Taču turpmākais priekšlikums nākamā eksperimenta izveidei. Ir novērot pētāmā augu grupas ilgāka laikā. Iespējams, pielāgošanās ir laika jautājums, bet ne elementu veida pievades jautājums. Pētījumā tika fiksēta parādība, ka pētāma auga lapām ir dažādas nozīmes tā organismā. Augšējās lapas ir vairāk specializējušās fotosintēzes realizācijā, taču apakšējās ir spējīgas realizēt citas funkcijas kā attīrīšanu no smagajiem metāliem. Šī hipotēze ir izvirzīta ar pamatojumu, ka galvenie cietušie parametri smago metālu ietekmē atrodas tieši apakšējās lapās, taču augšējās lapās īpašu izmaiņu nav. Balstoties uz literatūras avotiem par augu lapu specializāciju ir būtisks pret arguments.

Pēc citu autoru darbu rezultātiem lielākā daļa smago metālu uzskrājas auga saknēs. Praktiski nepametot auga organismu (Yabanli 2014). Turpmākajos eksperimentos būtu vēlams veikt auga daļu analīzi uz smagajiem elementiem. Vēlams būtu precīzi noteikt saknes šūnu barjeru, kas neļautu nonākt smagajiem metāliem auga organismā. Pēc citu autoru pētījumiem augi smago elementu ietekmē spēj pielāgoties apstākļiem ierobežojot smago metālu uzņemšanu ar saknes šūnu apoplasta izmaiņām (Godbold 1994). Attiecīgā auga saknes izpēte ir nepieciešama, lai pārliecinātos par auga fitoremediācijas potenciālu, jo gadījumā ja materiāli uzkrājas saknes apoplastā. Augsnes attīrīšana no smagajiem metāliem ir ļoti apgrūtināta.

Novērtējot pētījumā iegūtos elektrolītu noplūdes rezultātus ir iespējams atzīt, ka pēkšņš smago metālu pievades veids izraisa bojājumus pētāmā auga šūnām, vismaz, pirmajā periodā. Taču pakāpeniskas smago metālu pievades situācijā nerodas īpaši audu bojājumi. Pēc literatūras avotiem elektrolītu noplūde ir tipisks smago metālu izraisītu bojājumu apliecinājums (Gonzalez-Mendozāa 2014). Kopumā izstrādātā darba ietvaros ir pamatojums atzīt pētāmā auga efektivitāti, kā mitrāju reprezentatīvo modeli. Darba gaitā tika atzīts, ka smago metālu pārbagātība ietekmē negatīvi augu attīstību. Taču to ietekmes rezultātā augi spēj nodrošināt aizsardzības mehānismus sevis saglabāšanai. Nav izdevies noskaidrot pilnībā akūtās un pakāpeniskās Mn formas pievades atšķirības. Ir nepieciešami vairāk pētījumi, kas raksturo laika un tolerances likumsakarības augā. Taču īsos termiņos pakāpeniskās pievades forma izraisa lielāku toleranci auga ķermenī. Par auga efektivitāti fitoremediācijā joprojām ir daudzi jautājumi, taču pētāmajam augam ir potenciāls efektīvā augsnes attīrīšanā.

5. Secinājumi

- Krastmalas skābene *Rumex hydrolapathum* ir labs reprezentatīvais modelis mitrāju augu sugām.
- Krastmalas skābene *Rumex hydrolapathum* ir potenciāls fitoremediācijas augs.
- Ilga un pakāpeniska smago metālu pievade izraisa labāku auga toleranci pret smagajiem metāliem nekā pēkšņa liela apjoma pievade.

6. Pateicības

Liels paldies Latvijas Universitātes augu fizioloģijas katedrai, kas ļāva nodrošināt pētījuma realizāciju! Paldies darba vadītājam profesoram Ģedertam Ieviņam. Liels paldies kolēģiem, kas palīdzēja apgūt augu audzēšanas un darbā pielietotās metodes: Una Andersone, Zaiga Landorfa-Svalbe.

7.Literatūras saraksts

Adriano D. C. 2001. Trace of Elements in Terrestrial Environments Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals. Second Edition, New York, Springer, 866 pp.

G. Agati G., E. Azzarello, S. Pollastri, M. Tattini. 2012. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. *Plant Science* 196, 67-76.

G. M. Alhad G. M. , C. Zörb, M. J. Al-Azzawi, T. J. Flowers 2015. Is the reduced growth of halophyte *Suaeda maritima* under hypoxia due toxicity of iron or manganese? *Elsevier Environmental and Experimental Botany* 116(1), 61-70.

Alloway B. J. 2012. Heavy metals in Soils: Trace Metals and Metalloids in Soils and their Bioavailability, Third Edition, Berlin , Springer Science & Business Media, 614 pp.

Alsher R. G, Erturk N., Heath L. S. 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany* 53 (372), 1331-1341.

Anonymous Accumulation of heavy metal in *Brachiaria decumbens*. *Scientia Agricola* 68 (5), 566-573.

Antonovičs J., A.D. Bradshaw, R.G. Turner 1971. Heavy Metal Tolerance in Plants, *Advances in Ecological Research* 7 1-85.

Assche1 J. V., Nerum D. V. and Darius P.. 2002. The comparative germination ecology of nine *Rumex* species. *Plant Ecology* 159(2), 131–142.

Barceló J., Poschenrieder C. (1990) Plant water relations as affected by heavy metal stress. *Journal of Plant Nutrition* 13 (1), 1-37.

Binkley D., Vitousek P. 1989 Soil nutrient availability. In: *Plant Physiological Ecology*. Dordecht, Springer, 75-96 pp.

Blankenship R. E. 2014 *Molecular Mechanisms of Photosynthesis*. New Jersey, JOHN WILEY & SONS, INC, 312 pp.

Bowler C., Camp W. V., Montagu M. V., Inze D., K. Asada 1994. Superoxide dismutase in plants. *Critical Reviews in Plants Sciences* 13.

Burnell J. 1988. *The Biochemistry of Manganese in Plants*, Glen Osmond, Springer, 348 pp.

Carter G. A., Knap A. K. 2001. Leaf optical properties in higher plants: linking spectral characteristics to stress and chlorophyll concentration. *American Journal of Botany* 88 (4), 677–684.

Cheng S. 2003. Effects of Heavy metals on plants and resistance mechanisms. *Environmental Science and Pollution Research* 10 (4), 256-264.

Clarkson D. T., Hanson J. B. 1980. The mineral nutrition of higher plants. *Annual Review of Plant Physiology* 31, 239-298.

Clemens S., Palmgren M., Krämer G. U. 2002. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends in Plant Sciences* 7 (7), 309-315.

Demidchik V., Straltsova D., Medvedev S. S., Pozhvanov G. A., Sokolik A., Yurin V., 2014, Stress-induced electrolyte leakage: the role of K⁺-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. *Journal of Experimental Botany*, 65, (5), 1259–1270.

Deng H., Z. H. Ye, M. H. Wong 2004. Accumulation of lead, zinc, copper and cadmium by 12 wetland plant species thriving in metal-contaminated sites in China. *Environmental Pollution* 132 (1), 29-40.

Dushenkov V., Kumar N., Motto H., Raskin I. 1995. *Rhizofiltration: The Use of Plants to Remove Heavy Metals from Aqueous Streams*, New Jersey, Rutgers University.

Epstein E. Bloom A. J. 2005. *Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives*, second edition, Sunderland, Sinauer Associates, Inc Publishers, 400. pp.

Fernando D. R., Moroni S. J., Scott B. J., Conyers M. K., Lynch J. P., Marshall A. T. 2016. *Environmental and Experimental Botany* 132, 66-79.

Graham D., Hannam R. J., Uren N. C. 2012, *Manganese in Soils and Plants*, Berlin , Springer Science & Business Media, 344 pp.

Godblod D. L., Hüttermann A. 1994 *Effects of Acid Rain on Forest Processes*, New Jersey, JOHN WILEY & SONS, INC, 419 pp.

Gomes M. P., Marques T. C. L. L. M.; Nogueira M. O. G.; Castro E. M. Â. M. Soares 2011. Ecophysiological and anatomical changes due to uptake and

Gonzalez C. M., Pignata M. L. 1994 The Influence of Air Pollution on Soluble Proteins, Chlorophyll Degradation, MDA, Sulphur and Heavy Metals in A Transplanted Lichen. *Chemistry and Ecology* 9 (2), 105-113.

Gonzalez-Mendozaa D., Quiroz-Morenoa A. Escobedo, R., Medranoc G., Grimaldo-Juarez O., O Zapata-Perezd. 2008, Cell Viability and Leakage of Electrolytes in *Avicennia germinans* Exposed to Heavy Metals. *A Journal of Biosciences* 64 (5-6) 391-394.

Hakala M., Tuomienem I., Keranen M., Tyystjarvi T., Tyystjarvi E. 2005. Evidence for the role of the oxygen-evolving manganese complex in photoinhibition of Photosystem II, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics* 1706 (1-2), 68-80.

Hall J. L. 2002, Cellular mechanisms for heavy metal detoxification and tolerance, *Journal of Experimental Botany* 53 (366) 1-11.

Haq A. U., Miller M. H. 1972. Prediction of Available Soil Zn, Cu, and Mn Using Chemical Extractants, *Agronomy Journal* 64 (6), 779-782.

Harrison R. M. 1996. *Pollutions: Causes, Effects and Control* Third Edition, Cambridge, The Royal Society of Chemistry, 480 pp.

Hengstler J. G., Bolm-Audorff U., Faldum A., Janssen K., Reifenrath M., Götte W., Jung D., Mayer-Popken O., Fuchs J., Gebhard S., Bienfait H. G., Schlink K., Dietrich C., Faust D., Epe B., Oesch F., 2004 Occupational exposure to heavy metals: DNA damage induction and DNA repair inhibition prove co-exposures to cadmium, cobalt and lead as more dangerous than hitherto expected, *Carcinogenesis*, 24,(1), 63–73.

Ieviņš G. 2016. *Augu fizioloģija funkcijas un mijiedarbība ar vidi*, Rīga, LU Akadēmiskais apgāds, 607 lpp.

Istenič D., Arias C. A., Vollertsen J., Nielsen A. H., Wium-Andersen T., Hvitved-Jacobsen T., Brix H. 2012. Improved urban stormwater treatment and pollutant removal pathways in amended wet detention ponds, *Journal of Environmental Science and Health* volume 42, Taylor & Francis.

Yabanli M., Yozukmaz A., Sel F. 2014 Heavy metal accumulation in the leaves, stem and root of the invasive submerged macrophyte *Myriophyllum spicatum* L. (Haloragaceae): an example of Kadin Creek (Mugla, Turkey), *Brazilian Archives of Biology and Technology* 57 (3) 434-440.

Yoshida M., Muneyuki E., Hisabori T. 2001. ATP synthase — a marvellous rotary engine of the cell, *Nature Reviews Molecular Cell Biology* volume 2, 669–677.

Jaishankar M., Tseten T., Anabalagan N., Mathew B., Beeregowda K. N. 2014, Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals, *Interdisciplinary toxicology*, 7 (2) 60-72.

I. Jožikova I. 2018. *LIELAIS LAIMIŅŠ (SEDUM MAXIMUM) KĀ MODEĻSUGA SMAGO METĀLU IETEKMES UN UZŅEMŠANAS FIZIOLOĢIJAS PĒTĪJUMOS*, Latvijas Universitāte, bakalaura darbs

Kashem M.A., Singh B.R. 2001, Metal availability in contaminated soils: I. Effects of flooding and organic matter on changes in Eh, pH and solubility of Cd, Ni and Zn, *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 61 (3) 247-255.

Kļaviņš M. 2012. *Vides piesārņojums un tā iedarbība*, Rīga, LU Akadēmiskais apgāds, 199 lpp.

Larson R. A. 1988. The antioxidants of higher plants, *Phytochemistry* 27 (4), 969-978.

Lepp N. W. 1981. *Effect of Heavy Metal Pollution on Plants*, Dordrecht, Springer Science+Business Media, 352 pp.

Manschadi A. M., Christopher J., deVoil P., Hammer G. L. 2006. The role of root architectural traits in adaptation of wheat to water-limited environments. *Functional Plant Biology* 33, 823-837.

H. Marschner H., V. Romheld 1983. *n vivo* Measurement of Root-induced pH Changes at the Soil-Root Interface: Effect of Plant Species and Nitrogen Source, *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 111(3) 241-251

H. M. Martin H. M. 2012, . *Biological Monitoring of Heavy Metal Pollution: Land and Air*, Springer Science & Business Media, 474 pp.

Mauriņa H. 1974. *Augu fizioloģija, Rīga, Zvaigzne*, 352. lpp.

Maxwell K., Johnson G. N. 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide, *Journal of Experimental Botany*, 51 (345), 659-668.

mc Evoy J. P., Brudvig G. W. 2006, *Water-Splitting Chemistry of Photosystem II*, *Chemical Reviews* 106 (11) 4455–4483.

McQuattie C. J., Schier G. A 2000 Response of sugar maple (*Acer saccharum*) seedlings to manganese, *Canadian Journal of Forest Research* 30 (3) 456-467.

Melecis V. 2011. *Ekoloģija, Rīga LU Akadēmiskais apgāds*, 352 lpp.

Mengel K. 1996. *Principles of Plant Nutrition 5th Edition*, Dordrecht, Kluwe academic publishers 807 pp.

Millaleo R., Reyes-Diaz M., Ivanov A.G., Mora M.L., Alberdi M., 2010, Manganese as essential and toxic element for plants: transport, accumulation and resistance mechanisms, *Soil Science Journal. Plant Nutrition* 10 (4), 476-494.

Mitchell J. K., Soga K. 1972. *Fundamentals of soil behavior*, third Edition, New Jersey, JOHN WILEY & SONS, INC, 559 pp.

Nikodemus O., A. Kārklīšs, M. Kļaviņš, V. Melecis 2009. *Augsnes ilgtspējīga izmantošana un aizsardzība, Rīga LU Akadēmiskais apgāds*, 256 lpp.

O'Sullivan, J.N., Asher, C.J. and Blamey, F.P.C. 1997. *Nutrient Disorders of Sweet Potato*. ACIAR Monograph No. 48, Australian Centre for International Agricultural Research, Canberra, 136 p.

Oliveira S.C.B., Corduneanu O., Oliveira-Brett A.M., 2007. *In situ* evaluation of heavy metal–DNA interactions using an electrochemical DNA biosensor, Coimbra, Universidade de Coimbra.

Öpik H. 2005. *The physiology of flowering plants*, Cambridgeshire, Cambridge University press, 392 pp.

Priedītis N., 2014. *Latvijas augi, Rīga, Gandrs*, 888 lpp.

Raven P. H. 1999. *Biology of Plants sixth edition*, New York, New England Typographic service, 915. pp.

René P. J. J. Rietra, Marius Heinen, Chistian O. Dimkpa & Prem S. Bindraban (2017) Effects of Nutrient Antagonism and Synergism on Yield and Fertilizer Use Efficiency, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 48:16, 1895-1920.

Rivera-Beccerril F., Juarez-Vazquez L. V., Hernandez-Cervantes S. C., Acevodo-Sandoval O. A., Vela-Correa G., Cruz-Chavez E., Moreno-Espindola I. P., Esquivel-Herrera A., Leon-Gonzalez F. 2013, Impacts of Manganese Mining Activity on the Environment: Interactions Among Soil, Plants, and Arbuscular Mycorrhiza, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 64:219–227.

Robbin D. 1988. *Manganese in Soils and Plants*, Alphen aan den Rijn, Kluwer academic publishers, 243-259 pp.

Roser M., Ortiz-Ospina E. 2017. World Population Growth (05.10.2018) <https://ourworldindata.org/world-population-growth>

Sager L., Clerc C. 2006. Factors influencing the distribution of *Hydrocharis morsus-ranae* L. and *Rumex hydrolapathum* Huds. in a mowed low-lying marshland, Réserve de Cheyres, lac de Neuchâtel, Switzerland, *Hydrobiologia* 570 (1) 223-229.

Santos E. F., Santini J. M. K., Pixao A. P Junior, Lavres E. F., Campos J., Reis M., A. R., 2017. Physiological highlights of manganese toxicity symptoms in soybean plants: Mn toxicity responses, *Plant Physiology and Biochemistry* 113, 6-19.

Satklifs D. 1965. *Minerālvielu uzņemšana augos*, Rīga, Izdevniecība “Liesma”, 205 lpp.

Schützendübel A. Polle A. 2002. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization, *Jurnal of experimental Botany* 53 (372), 1351–1365.

Scott P. 2008. *Physiology and Behaviour of Plants*, Chichester, John Wiley & Sons, Ltd.

Sharma C. P. 2006. *Plant micronutrients*, Boca Raton, CRC Press, 272 pp.

Sharma P, , Jha A. B. , Dubey R. S., Pessarakli M. 2012 Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions, *Journal of Botany*. 26.

Shaw B. P. Sahu S. K., Mishira R. K. 1992, *Heavy Metal Stress in Plants*, Berlin, Springer 84-126 pp.

Sidlecka A. 1995. Some aspects of interactions between heavy metals and plant mineral nutrients, Lublin, Maria Curie-Sklodowska University.

Siedlecka A. 1995. Some aspects of interactions between heavy metals and plant mineral nutrients, *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 64 (3) 265-272.

Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants, *Experimental Physiology* 82, 291-295.

Slesak I., M. Libik, B. Karpinska, S. Karpinski, Z. Miszalski 2007, The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signalling in response to environmental stresses, *Acta Biochimica Polonica* (54) 39-50.

Sparks D. L. 2003 *Environmental Soil Chemistry*, Amsterdam, Elsevier 345 pp.

Srivastava S., Dubey R. S. 2011 Manganese-excess induces oxidative stress, lowers the pool of antioxidants and elevates activities of key antioxidative enzymes in rice seedlings, *Plant Growth Regulation* 64 (1), 1-16.

Taylor S. R. 2003. Abundance of chemical elements in the continental crust: a new table, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 28 (8), 1273-1285.

Tchounwou P., Yedjou C., Patlolla A., Sutton D. 2014. *Heavy Metals Toxicity and the Environment*

Tiaz L. 2006. *Plant Physiology Fourth Edition*, Massachusetts, Sinauer Associates, Inc., Publishers.

Tomašević M., Rajšić S. D. Đorđević, Tasić J. M. Tasić J., . Krstić Novaković V. 2004, Heavy metals accumulation in tree leaves from urban areas, *Environmental Chemistry Letters* 2 (3) 151-154.

Unterbrunner R, Puschenreitera M, Sommera. P., Wieshammera G., Tlustošb P., Zupanc M. Wenzela W. W. 2007. Heavy metal accumulation in trees growing on contaminated sites in Central Europe, *Environmental Pollution*, 148 (1), 107-114.

Van Kooten O., J. F. H. Snel. 1990. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology, *Photosynthesis Research* 25 (3) 147-150.

Verma S., Dubey R. S. 2002 Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants, *Plant Science* 164 645-655.

Visser E. J.W., Blom C.W.P.M., Voeselek L.A.C.J.. 1996. Flooding-induced adventitious rooting in *Rumex*: morphology and development in an ecological perspective, *Acta Botanica Neerlandica*, 45(1) 17 – 28.

G. Vivian-Smith G. 1997. Microtopographic Heterogeneity and Floristic Diversity in Experimental Wetland Communities, *Journal of Ecology* 85 (1) 71-82 pp.

Walaas E. 1958. Stability Constants of Metal Complexes with Mononucleotides, *Acta Chemica Scandinavica* 12, 528-536 pp.

Weis J. S., Weis P. 2003, Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration, *Environment International* 30 (5), 685-700.

Wettstein D. V., Gough S., Kannangara G. 1995. Chlorophyll Biosynthesis, *Plant Cell* 7, 1039-1057.