



ВЛИЯНИЕ НА КОМБИНИРАНОТО ЗАМЪРСЯВАНЕ НА ПОЧВАТА С ТЕЖКИ МЕТАЛИ ВЪРХУ ЛИСТНАТА СТРУКТУРА НА РАПИЦАТА [BRASSICA NAPUS OLEIFERA BIENNIS]

РАДКА ИВАНОВА, ЖИВКО ТОДОРОВ

INFLUENCE OF COMBINED HEAVY METAL POLLUTION OF THE SOIL ON LEAF STRUCTURE OF RAPESEED [BRASSICA NAPUS OLEIFERA BIENNIS]

RADKA IVANOVA, ZHIVKO TODOROV

Abstract

Object of the present experiment was rapeseed [variety Votan-Germany], that was grown in several containers of differently polluted soil.

The goal of the experiment was the observation and registration of some anomalies in the form of the stomata and osteolum in the epithermal cells of the rapeseed leaves, which have occurred during combined soil pollution by Cu, Zn, Cd and Pb.

In the case of independent pollution by the four heavy metals, deformation of the stomata appears at the lowest concentrations. In cases of combined pollution these changes are observed at the highest concentrations.

Most frequently, the deformations consist of lack of one of the closing cells, incomplete development or improper development of one or both of them or their excessive elongation. Specific and rarer deformations were observed, such as alignment of the chloroplasts in rows or two- or three-lateral conglomeration of the stomata.

Key words: rapeseed, deformations, combined pollution by heavy metals

ВЪВЕДЕНИЕ

За ранната диагностика на поражаването, както и за установяване границите на толерантност и чувствителност на видовете към замърсителите, се анализират настъпващите структурни изменения [3, 6, 2, 7].

Редица автори установяват, че при растения, подложени на тежкометално замърсяване, настъпват различни изменения в структурата на фотосинтезиращите органи, които се изразяват в изменения на броя и размерите на устицата и деформации във формата им [5, 1].

Много от изследванията през последните години са насочени към използване на различни култури, но такива с рапицата не са извършвани, за това си поставихме за цел да наблюдаваме и регистрираме измененията настъпили под въздействието на комбинирано замърсяване на почвата с Cu, Zn, Cd и Pb, във формата на устицата и остиолума им, в епидермалните клетки на листа от рапица.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Обект на настоящето изследване е рапица [сорт Вотан – Германия] отглеждана в съдове с различно замърсена почва.

Всеки вариант включва определени концентрации на Cu, Zn, Cd и Pb и контрола.

Схема на опита :

Контрола – без заражена почва

Вариант 1 – Cu – 405 mg/kg; Zn – 540 mg/kg; Cd – 3 mg/kg и Pb – 120 mg/kg - концентрации на тежки метали - 1.5 пъти над ПДК

Вариант 2 – Cu – 675 mg/kg; Zn – 900 mg/kg; Cd – 5 mg/kg и Pb – 200 mg/kg - концентрации на тежки метали - 2.5 пъти над ПДК

Вариант 3 – Cu – 945 mg/kg; Zn – 1260 mg/kg; Cd – 7 mg/kg и Pb – 280 mg/kg - концентрации на тежки метали - 3.5 пъти над ПДК

Вариант 4 – Cu – 1350 mg/kg; Zn – 1800 mg/kg; Cd – 10 mg/kg и Pb – 400 mg/kg - концентрации на тежки метали - 5 пъти над ПДК

Вариант 5 – Cu – 2700 mg/kg; Zn – 3600 mg/kg; Cd – 20 mg/kg и Pb – 800 mg/kg - концентрации на тежки метали - 10 пъти над ПДК

Вариант 6 – Cu – 4050 mg/kg; Zn – 5400 mg/kg; Cd – 30 mg/kg и Pb – 1200 mg/kg - концентрации на тежки метали - 15 пъти над ПДК

Направени са комбинации между отделните елементи [PbCd, PbZn, ZnCu, CdZn, PbZnCuCd] с концентрации - от най-ниската до най-високата, посочени в отделните варианти.

Извършени са химически анализи за съдържание на тежки метали [Cu, Zn, Cd и Pb] в отделните органи на растенията, корени, стъбла, листа, плодове и семена при всички варианти, при които растенията са достигнали до пълна зрелост.

За отчитане на наблюдаваните деформации са използвани свежи листа взети във фаза цъфтеж.

Във всеки съд са отгледани по 5 растения от вариант.

От всеки вариант са анализирани по две растения отглеждани в замърсена с различна концентрация на тежки метали почва.

За наблюдение на деформациите са използвани по три листа разположени в средната част на всяко растение.

Наблюдавани са адаксиалната и абаксиалната повърхност [долен и горен епидермис] и причинените от въздействието на различните концентрации тежки метали деформации на листната пластина.

За целта взетите проби са фиксирани в 75% етилов алкохол, след което се приготвят полутрайни препарати в разтвор от глицерин и вода в съотношение 1:1.

За анатомичните изследвания е използван светлинен микроскоп "Amplival" с обектив 100X [за микрофотографиите].

Проследено е развитието на растенията отглеждани при различни концентрации на комбинирано замърсяване на почвата с Cu, Zn, Cd и Pb и са отчетени настъпилите деформации на stomatalните клетки.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Анатомичните и морфологични признаци са едни от най-използваните показатели в системата на фитомониторинга на въздушното и почвено замърсяване с тежки метали.

Проведените от нас наблюдения на листа от рапица показват видими различия при комбинираното замърсяване, както в развитието на растенията, така и в измененията на клетъчните устица, причинени от това въздействие.

По отношение на развитието на растенията при комбинираното действие на Pb и Zn се установява, че действието на металите е силно изразено при ниво на замърсяване с Pb 400 Zn 1800 mg/kg, при което растенията достигат до 3-4 лист.

Най-силно депресиращ ефект върху развитието на растенията оказват най-високите концентрации [Pb 800 Zn 3600 mg/kg и Pb 1200 Zn 5400 mg/kg], при които растенията не поникват.

Проведените под микроскоп наблюдения при комбинираното замърсяване с цинк и олово при концентрациите Zn 540 Pb 120 mg/kg; Zn 900 Pb 200 mg/kg; Zn 1260 Pb 280 mg/kg на горния и долен епидермис показват дефекти срещащите се и в предходните варианти на едностранно замърсяване. Те се изразяват в нареждане на хлоропластите в редички, недоразвитие на едната затваряща се клетка и устица със значително по-малки размери [1, 2, 3, 5, 6].

При концентрация на Zn 1260 Pb 280 mg/kg в горния [сн. 3] и концентрация Zn 540 mg/kg Pb 120 mg/kg в долния епидермис [сн. 4] вече се наблюдават специфични изменения, състоящи се в почерняване на osteola.

При комбинирано замърсяване с Zn 3600 Cd 20 mg/kg, растенията достигат до 2^{ри} лист, като развитието им продължава 35 дни, след което растенията загиват.

При варианта с най-висока концентрация Zn 5400 Cd 30 mg/kg - семената изобщо не поникват.

И при тази комбинацията при концентрации, Zn 1800 mg/kg Cd 10 mg/kg на горния епидермис и Zn 540 mg/kg Cd 3 mg/kg на долния епидермис се наблюдава специфично почерняване на osteola [сн. 9, 10] характерно и при по-горе споменатите концентрации на Zn Pb.

Специфични различия във формата на устицата в абаксиалната повърхност спрямо контролата се наблюдават при концентрация

ZnPb – горен епидермис

ZnPd – Долен епидермис



контрола



контрола



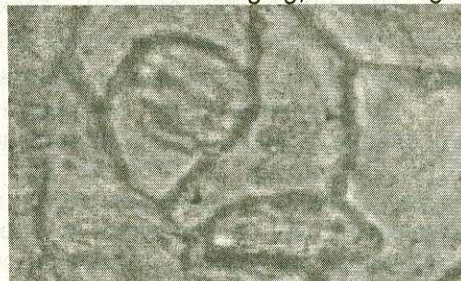
сн. 1 - I - Zn 540 mg/kg; Pb 120 mg/kg



сн. 4 - I - Zn 540 mg/kg; Pb 120 mg/kg



сн. 2 - II - Zn 900 mg/kg; Pb 200 mg/kg



сн. 5 - II - Zn 900 mg/kg; Pb 200 mg/kg



сн. 3 - III - Zn 1 260 mg/kg; Pb 280 mg/kg



сн. 6 - III - Zn 1260 mg/kg; Pb 280 mg/kg

ZnCd – Горен епидермис

ZnCd – Долен епидермис



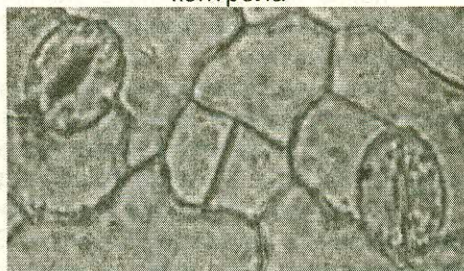
контрола



контрола



сн.7 - II - Zn 900 mg/kg; Cd 5 mg/kg



сн. 10 - I - Zn 540 mg/kg; Cd 3 mg/kg



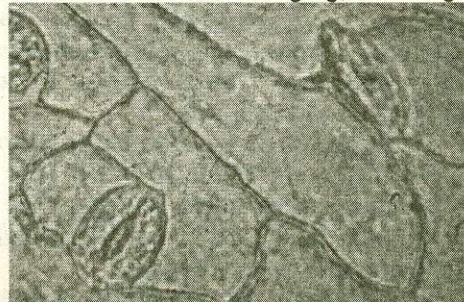
сн.8 - III - Zn 1260 mg/kg; Cd 7 mg/kg



сн. 11 - III - Zn 1 260 mg/kg; Cd 7 mg/kg



сн.9- IV- Zn 1800 mg/kg; Cd 10 mg/kg



сн.12 - IV - Zn 1 800 mg/kg; Cd 10 mg/kg

Zn 1260 mg/kg Cd 7 mg/kg. Устицата при този вариант са силно удължени, което рязко ги отличава от останалите в епидермиса [сн. 8].

При по-високите концентрации на замърсяване на долния епидермис Zn 1260 mg/kg Cd 7 mg/kg; Zn 1800 mg/kg Cd 10 mg/kg и Zn 900 mg/kg Cd 5 mg/kg в горния епидермис се наблюдава липса или непълно развитие на една от затварящите клетки [сн. 7, 11, 12].

При замърсяване на почвата в комбинация CdPb, растенията достигат до плододаване и при най-високото ниво на замърсяване на почвата.

Изменения по отношение формата на устицата спрямо контролата в горния епидермис се наблюдават при концентрация Cd 10 mg/kg Pb 400 mg/kg. Те се състоят в липса на остеоли и половината на двете затварящи клетки [сн.14].

Както при единичното замърсяване с Zn, така и при комбинацията CdPb в концентрация превишаваща 2 пъти ПДК се наблюдава припокриване на устицата [сн.13].

Леко удължаване на устицата и липса на едната от затварящите клетки се наблюдават при вариантите с най-висока концентрация Cd 30 mg/kg Pb 1200 mg/kg в горният и долен епидермис [сн.15, 18] и при вариантите Cd 7 mg/kg Pb 280 и Cd 10 mg/kg Pb 400 в долния епидермис [сн. 16, 17].

С най-силно изразен негативен ефект върху развитието на рапицата е комбинираното действие на Zn и Cu. При тази комбинация даже и при варианта с най-ниско ниво на замърсяване [Cu 675 Zn 900 mg/kg] растенията достигат в развитието си само до 3-4 лист, а при останалите варианти семената не поникват.

Взаимодействието Cu - Zn е много често изследвано явление, при което получените резултати са доста противоречиви [8]. Установено е, че двата метала се абсорбират по еднакви механизми и затова всеки един от тях може да инхибира кореновото усвояване на другия [4]. Според други автори, обаче се наблюдава синергиден ефект при Cu - Zn.

В резултат на това и в двата епидермиса на варианта ZnCu се наблюдават изменения състоящи се в липса на затварящи клетки или силно редуциране и деформиране на устицата [сн. 19, 20].

При комбинираното замърсяване с четирите елемента Pb, Cd, Zn и Cu напълно се елиминират всички антагонистични взаимодействия между отделните елементи и съдържанието им във всички части на растенията силно нараства, което оказва и по-силно депресиращо действие върху развитието на рапицата.

В резултат на това растенията при вариантите, Pb 280 Cd 7 Zn 1260 Cu 945 mg/kg и Pb 400 Cd 10 Zn 1800 Cu 1350 mg/kg достигат в развитието си до 3-4 лист, след което загиват. При вариантите с най-високи концентрации [Pb 800 Cd 20 Zn 3600 Cu 2700 mg/kg и Pb 1200 Cd 30 Zn 5400 Cu 4050 mg/kg] семената не поникват.

Силното депресиращо въздействие на четирите тежки метала се проявява и при наблюдаване на устицата.

Измененията на устичния апарат в горният и долен епидермис се изразяват в нареждане на хлоропластите в редичка [сн. 21] и специфично

CdPb – Горен епидермис

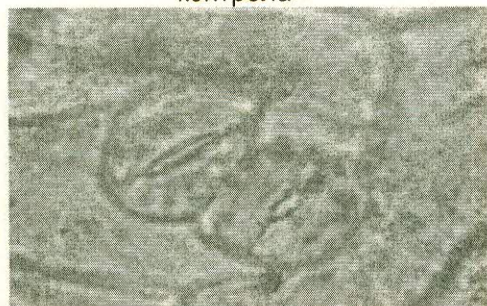
CdPb – Долен епидермис



контрола



контрола



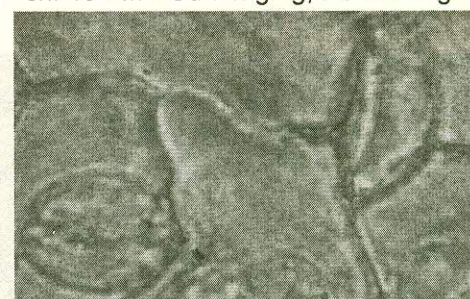
сн. 13 - II - Cd 5 mg/kg; Pb 200 mg/kg



сн. 16 - III - Cd 7 mg/kg; Pb 280 mg/kg



сн. 14 - IV - Cd 10 mg/kg; Pb 400 mg/kg



сн. 17 - IV - Cd 10 mg/kg; Pb 400 mg/kg



сн. 15 - VI - Cd 30 mg/kg; Pb 1200 mg/kg



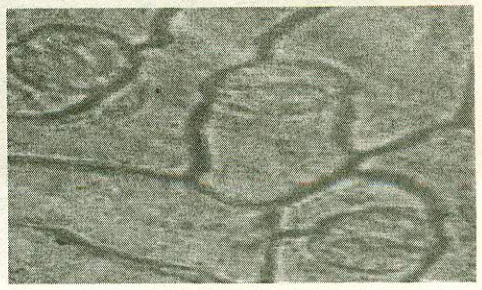
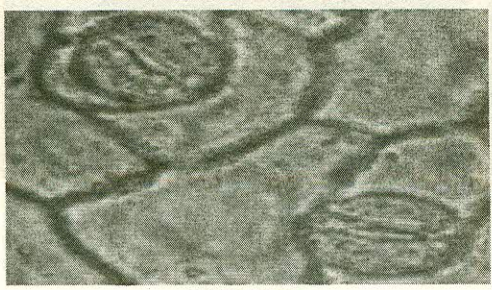
сн. 18 - VI - Cd 30 mg/kg; Pb 1200 mg/kg

эпидермис - Горен

эпидермис - Долен

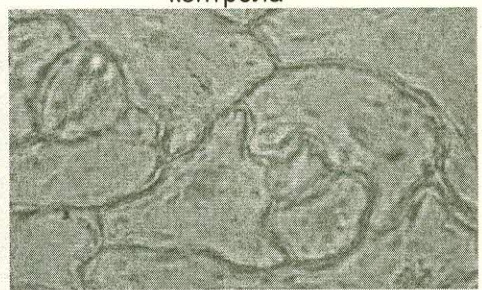
ZnCu- Горен эпидермис

ZnCu- Долен эпидермис



контрола

контрола



сн. 19 - II - Zn 900 mg/kg; Cu 675 mg/kg

сн. 20 - II - Zn 900 mg/kg; Cu 675 mg/kg

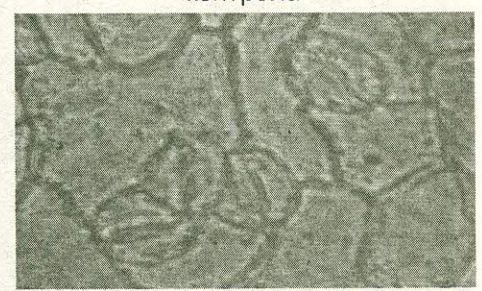
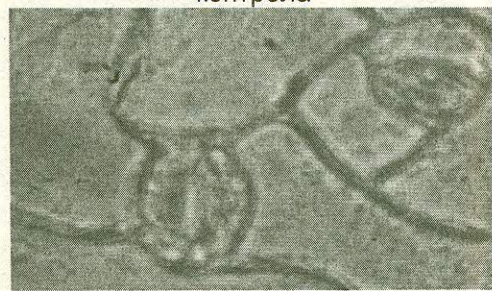
ZnPbCuCd- Горен эпидермис

ZnPbCuCd - Долен эпидермис



контрола

контрола



сн. 21 - II - Zn 900 mg/kg; Pb 200 mg/kg; Cu 675 mg/kg; Cd 5 mg/kg

сн. 22 - I - Zn 540 mg/kg; Pb 120 mg/kg; Cu 405 mg/kg; Cd 3 mg/kg

групиране на устицата [сн. 22], което не се причинява от въздействието на металите в нито една от останалите комбинации.

ИЗВОДИ

В резултат на изследванията, свързани с анатомията на листата при растения подложени на комбинирано тежко метално замърсяване могат да се направят следните изводи:

При по-ниските концентрации на комбинациите Pb Zn и Cu Zn и комбинацията от четирите елемента, растенията достигат 3^{ти}-4^{ти} лист, а при комбинация ZnCd – до 2^{ри} лист, след което загиват. При по-високите концентрации на тези комбинации семената не поникват.

Само при комбинацията Cd Pb при всички варианти растенията достигат до плододаване.

При комбинираното замърсяване с четирите тежки метала деформации се наблюдават при по-високите концентрации.

Най-често деформациите се изразяват в липса на една от затварящите се клетки, непълно развитие на едната или двете от тях.

Наблюдават се и специфични изменения свързани със силно удължаване на формата на устицата в абаксиалната повърхност спрямо контролата при концентрация Zn 1260 mg/kg Cd 7 mg/kg.

При комбинираното замърсяване с Zn Pb Cu Cd на горния и долния епидермис се наблюдава специфично нареждане на хлоропластите в редички.

При замърсяване с Cd Pb, Zn Pb Cu Cd освен често срещащите се деформации при останалите варианти се регистрират и специфични дву и три странични сраствания и неправилно развитие на устицата.

При някои от комбинациите на ZnPb и ZnCd се наблюдават специфични изменения, състоящи се в почерняване на остеола.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анаоцев, Н., И. Велчева, Е. Иванова, Т. Стайкова, З. Ямболлиева, 2001. Рискови факториза повишената честота на злокачествени новообразования в антропогенно обременен район на Южна България. Научни трудове на ПУ „Паисий Хилендарски” Plantarum, т. 35, кн. 6
2. Димитрова И., Колев К., П. Присадашка., 2001. Анатооморфологична реакция на *Pisum sativum* след въздействието с пречистени отпадъчни води. Трудове на шеста национална конференция по ботаника. София, Институт по ботаника, БАН, 461-466
3. Шуберт Р., 1988. Мир, Москва, 384
4. Adriano, D. C. 2001. Trace Elements in the Terrestrial Environment. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
5. Beker A. J. M., 1987. New Phytologist, v. 106, 93-111

6. Dimitrova Iv., L. Yurukova, 2005. Bioindication of anthropogenic pollution with *Plantago lanceolata* (Plantaginaceae): metal accumulation, morphological and stomatal leaf characteristics. *Phitologia Balcanica* 11(1): 89 – 96, Sofia.
7. Dimitrova, I., D. Ninova. 1994. Histological changes in leaves of herbaceous plants in response to emission of metallurgical industry. I. Epidermal analysis. – *God. Sofisk. Univ. Biol. Fak., 2 Bot.*, 85 : 137 - 145.
8. Kabata-Pendias, A. (ed.) 2000. Trace elements in soils and plants. CRC Press LLC, Florida, USA.