



ФИЗИОЛОГИЧНА РЕАКЦИЯ НА КРАСТАВИЦИ (*CUCUMIS SATIVUS*) КЪМ НАРАСТВАЩИ НИВА НА ТЕЖКИ МЕТАЛИ В СРЕДАТА

ЛЮБКА КОЛЕВА, АННА НИКОЛОВА, АНДОН ВАСИЛЕВ

PHYSIOLOGICAL RESPONSE OF CUCUMBER (*CUCUMIS SATIVUS*) TO INCREASING HEAVY METALS LEVELS IN THE MEDIUM

LYUBKA KOLEVA, ANNA NIKOLOVA, ANDON VASSILEV

The physiological response of cucumber plants to increasing levels of Zn, Cu and Cd was studied at control conditions. It was established that the applied heavy metal treatment retarded growth, enhanced root peroxidase activity and decreased photosynthetic pigments content.

Замърсяването на почвите с тежки метали (ТМ) е актуален екологичен проблем. Освен потенциална опасност за здравето на хората, ТМ често предизвикват прояви на хронична метална фитотоксичност, които потискат растежа и намаляват продуктивността на растенията.

Физиологичната същност на металната фитотоксичност в голяма степен е разкрита, но съществуват и недостатъчно изяснени въпроси. Дискуссионен например е въпросът как ТМ индуцират окислителен стрес в растителната клетка (5). Това е състояние, при което се наблюдава неконтролируемо нарастване на продукцията на свободните радикали и активните кислородни видове, които могат да окислят важни макромолекули и по този начин да предизвикат структурнофункционални нарушения в растителния организъм.

Известно е, че част от ТМ (Zn, Cd) не могат да участват директно в окислително-редукционни процеси, но в третираниите с тях растения се наблюдават характерни за окислителен стрес прояви – повишена активност на антиокислителните ензими, намаляване на количеството на неензимните антиоксиданти, липидна пероксидация и др. (1, 2, 3). Фотосинтетичните пигменти са една от основните мишени на токсичното действие на ТМ. Известно е, че ТМ могат както да инхибират тяхната биосинтеза, така и да ускорят окислителната им деградация, в резултат на което количеството на пигментите в третираниите растения намалява (6).

По-голямата част от физиологичните изследвания разглеждат проявите на острата метална фитотоксичност. Хроничната фитотоксичност, която представлява интерес за адаптивното земеделие върху замърсени почви, е обект на изследване в по-малка степен. Целта на настоящото изследване е да се проучи физиологичната реакция на краставици към хронично токсично въздействие с Zn, Cu и Cd.

Материал и методи

Опитите са проведени с краставици (хибрид Левина) във фитостатен бокс на катедрата по Физиология на растенията и биохимия при контролирани условия на средата (фотопериод 14 часа, осветеност - 250 μmol ФАР $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, температура – 22 ± 2 °C и относителна влажност на въздуха – 55 ± 5 %). Растенията са отгледани като субстратна култура в съдове с перлит. В съдовете ежедневно е внасян $\frac{1}{2}$ хранителен разтвор на Хогланд в обем 100 ml на съд, като излишъкът от разтвора се оттича. При появата на първия същински лист на растенията е поставен експеримент с 4 варианта на внасяне на ТМ: (1) контрола – внасяне само на разтвор на Хогланд; (2) разтвор на Хогланд с добавка на тежките метали Cu, Zn и Cd в пълна доза (50 μM Cd, 20 μM Cu и 500 μM Zn); (3) разтвор на Хогланд с добавка на $\frac{1}{2}$ доза ТМ и (4) разтвор на Хогланд с добавка на $\frac{1}{4}$ доза ТМ. Третирането с ТМ продължава 8 дни, след което бяха определени свежата маса на растенията, активността на гваякол пероксидазата (3) в корените и количеството на фотосинтетичните пигменти (4). Получените данни са обработени статистически и достоверността на разликите с контролата е преценена по критерия t на Стюдент.

Резултати и обсъждане

Приложеното 8-дневно въздействие с ТМ потиска растежа и предизвиква прояви на частична хлороза по листата на краставичните растения. Проявената фитотоксичност има хроничен характер, тъй като след прекратяване на въздействието с ТМ и преминаване към нормално минерално хранене растенията не загиват, а продължават растежа и развитието си, но с по-бавни темпове. Визуалните прояви на метална фитотоксичност се потвърждават и от получените биометрични параметри (Таблица 1). При сравнение на параметрите на растенията, получили пълна доза ТМ, с контролните растения се вижда, че свежата маса на корените и общата им маса достоверно са намалели, съответно с 38 и 42%.

Таблица 1

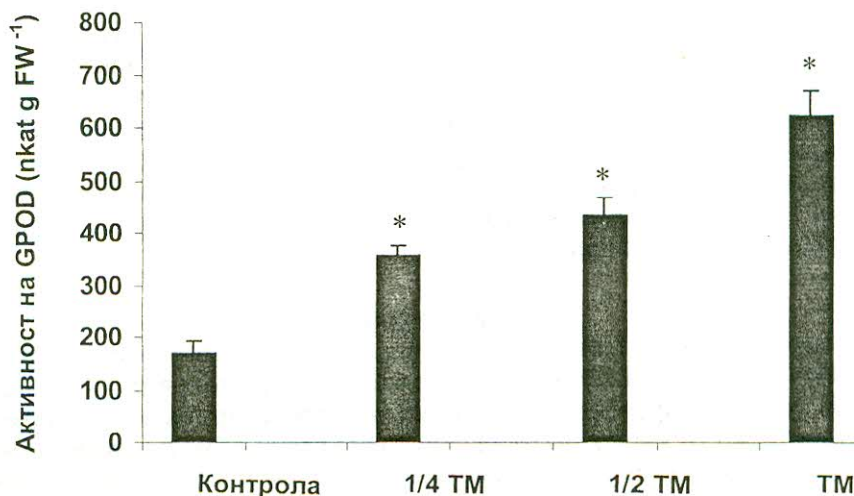
Биометрични параметри на контролните и третираните с тежки метали краставични растения от хибрида Левина

Варианти	Свежа маса на корените (g)	Свежа маса на растенията (g)
Контрола	2.37 ± 0.09 (100)	5.49 ± 0.13 (100)
$\frac{1}{4}$ ТМ	$1.99 \pm 0.12^*$ (84)	$4.66 \pm 0.15^*$ (85)
$\frac{1}{2}$ ТМ	$1.67 \pm 0.05^*$ (70)	$3.81 \pm 0.19^*$ (69)
ТМ	$1.47 \pm 0.02^*$ (62)	$3.19 \pm 0.11^*$ (58)

* Разликите с контролата са доказани при $P = 0.05$.

Активността на антиокислителния ензим гваякол-пероксидаза GPOD в корените на третираните с ТМ растения е значително и достоверно повишена (Фигура 1). Най-високи са стойностите на GPOD при варианта с пълна доза ТМ – 625 μkat на g свежа маса, което представлява нарастване с 3.65 пъти

спрямо контролата. При вариантите с $\frac{1}{4}$ и $\frac{1}{2}$ дози на ТМ, нарастването на активността на ензима също е значително, в рамките на 210 - 254%.



Фиг. 1

Активност на гваякол пероксидазата в корените на контролните и третираните с различни дози тежки метали краставични растения от хибрида Левина (* Разликите с контролата са доказани при $P = 0.05$)

Количеството на фотосинтетичните пигменти в третираните с ТМ растения намалява (Таблица 2). В растенията, третираните с пълна доза ТМ, количеството на Chl.a е намалено с 47%, на Chl.b - с 37%, а на общите каротиноиди - с 38%. Съществено са понижени и характерните отношения между тях – Chl.a/Chl.b – със 17%, а a+b / Car – с 8-9%.

Таблица 2

Количество и отношения между фотосинтетичните пигменти в контролните и третираните с тежки метали краставични растения от хибрида Левина

Варианти	Количество и отношения между фотосинтетичните пигменти				
	Chl. A	Chl. b	Car	a/b	A+b / Car
Контрола	1.06	0.63	0.39	1.68	4.33
$\frac{1}{4}$ ТМ	0.71*	0.46*	0.29*	1.54*	4.05*
$\frac{1}{2}$ ТМ	0.66*	0.44*	0.28*	1.50*	3.95*
ТМ	0.56*	0.40*	0.24*	1.40*	4.00*

* Разликите с контролата са доказани при $P = 0.05$.

Потиснатият растеж на третираните с ТМ краставични растения е интегрален резултат от предизвиканите токсични ефекти в много

физиологични процеси. В основата на тези ефекти е индуцирания в клетките окислителен стрес, индикатор за който е значително повишената активност на GPOD. Този ензим обезврежда вредния за клетките водороден пероксид, който се образува както в клетъчните стени, така и в цитозола. Антиокислителната защитна система на клетките не е перфектна, поради което известна част от образуваните свободни радикали и активни кислородни видове проявява своите токсични ефекти. Понижението на фотосинтетичните пигменти в известна степен може да се свърже с ускорена от окислителния стрес деградация на хлорофил-съдържащите комплекси в тилакоидните мембрани. По-силното намаление на Chl.a в сравнение с Car се дължи на протекторните свойства на каротеноидите спрямо пигментния апарат в стресови условия.

Заклучение

Приложеното въздействие с нарастващи дози на Zn, Cu и Cd предизвиква хронична метална токсичност в краставичните растения от хибрида Левина. Визуално тя се проявява като частична хлороза по листата и потискане на растежа. Част от негативните ефекти са свързани с индуцирания от йоните на TM окислителен стрес в кореновите клетки, индикатор на което е повишената им пероксидазна активност. Намаленото съдържание на фотосинтетичните пигменти, което кореспондира с визуалните хлоротични признаци, в известна степен може да се свърже с ускорена от стреса окислителна деградация.

Литература

1. Cuypers, A., J. Vangronsveld, H. Clijsters, 2001. The redox status of plant cells (AsA and GSH) is sensitive to zinc imposed oxidative stress in roots and primary leaves of *Phaseolus vulgaris*. *Plant Physiol. Biochem.*, 39, 657-664.
2. Dietz, K.-J., M. Baier, U. Kramer, 1999. Free radicals and reactive oxygen species as mediators of heavy metal toxicity in plants. In: M.N.V. Prasad, J. Hagemeyer (eds.) *Heavy metal stress in plants; from molecules to ecosystems*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1999, pp. 79-97.
3. Geebelen, W., J. Vangronsveld, D. Adriano, L.C. van Poucke, H. Clijsters, 2002. Effects of Pb-EDTA and EDTA on oxidative stress reactions and mineral uptake in *Phaseolus vulgaris*. *Physiol. Plant.*, 115, 377-384.
4. Lichtenthaler, H., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods of Enzymology*, 148, 350-382.
5. Schützendübel, A., A. Polle, 2002. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *J. Exp. Bot.*, 53 (372), 1351-1365.
6. Somashekaraiah, B., K. Padmaja, A. Prasad, 1992. Phytotoxicity of cadmium ions on germinating seedlings of mung beans (*Phaseolus vulgaris*): Involvement of lipid peroxides in chlorophyll degradation. *Physiol. Plant.* 85, 85-89.