

Екол. Зашт. Живот. Сред.	Том	Бр.	стр.	Скопје
	9	1-2	39-45	2004/2005
Ekol. Zašt. Život. Sred.	Vol.	No.	pp.	Skopje

СОДРЖИНАТА НА ХЛОРОПЛАСТНИТЕ ПИГМЕНТИ, ВКУПЕН АЗОТ, СУРОВИ ПРОТЕИНИ И ШЕЌЕРИ (ЈАГЛЕХИДРАТИТЕ) КАЈ ОРИЗОТ (*Oryza sativa* L.) ВО ЗАВИСНОСТ ОД КОЛИЧЕСТВОТО НА ОЛОВО (Pb^{++}) ВО ПОЧВАТА

Даница АНДРЕЕВСКА¹, Ленка ЦВЕТАНОВСКА², Сузана КРАТОВАЛИЕВА¹

¹ Земјоделски институт, 1000 Скопје, Република Македонија

² Институт за биологија, Природно-математички факултет, 1000 Скопје, Република Македонија

ИЗВОД

Ефектот од акумулацијата и фитотоксичноста на оловото во клетките и ткивата на оризот (*Oryza sativa* L.) сорта бисер-2 во услови на почвен третман во форма на $Pb(NO_3)_2$ беше испитувано во четири различни концентрации (mM/l): 20; 40; 80 и 160.

Штетните ефекти од употребените концентрации од оловото беа констатирани само во биосинтезата на хлоропластните пигменти. Како резултат на намалената подвижност на оловото од почвата како и неговата акумулација во коренот кои се солидна бариера за неговиот понатамошен транспорт во прокамбијалната зона, хлоротични манифестации беа констатирани во многу мал процент. Инхибиторното влијание од употребеното олово е многу малку присутно во продукцијата како на сировите протеини така и во продукцијата на вкупните шеќери на крај на вегетацијата каде постоеше исбалансираност во вредностите на коренот и надземниот дел со тенденција за скоро правилна транслокација од коренот во правец на метличката односно зрното.

Клучни зборови: ориз, олово, хлоропластни пигменти, сурови протеини, вкупни јагленхидрати, токсичен ефект.

ABSTRACT

The effect of accumulation and phytotoxicity of lead in cells and tissues of rise (*Oryza sativa* L) cv.biser 2 in conditions of soil applied $Pb(NO_3)_2$, was investigated in four different concentrations (mM/l): 20; 40; 80 and 160.

The toxic effects of used lead concentrations were confirmed in biosynthesis of chloroplast pigments. As a result of lead hard immobilization from soil and its accumulation in root cells which presented a solid barrier for its further transport in procambium zone, chlorotic manifestation were recorded in lower percent. The inhibitory effect of used lead is very low in production of crude proteins as well as sugar content of the end of vegetation, were haven't balance in values in roots and aboveground parts with tendency for real translocation from root in panicle and grain.

Key words: rise, lead, chloroplast pigments, crude proteins, total carbohydrates, toxic effect.

ВОВЕД

Истражувањата за испитување ефектот од контаминацијата со некои неесенцијални јони како што се кадмиумот и оловото денес се сè почести заради побрзата урбанизација во средините во кои егзистираат човекот, животните и растенијата. Растенијата оловото го примаат во вид на јони (Pb^{++}) или во вид на органски соединенија (оловотетраметил, оловотетраетили др.). Самиот меха-

низам на примање на оловото сеуште не е во потполност разјаснет. Голем број на автори сметаат дека асцендентниот транспорт на оловото по ксилемот е сличен на калциумот, т.е., помалку или повеќе пасивен процес (Jarvis et al. 1977). Растенијата оловото во неорганска форма слабо го примаат и преместуваат во надземните органи, со исклучок на киселите почви од кои примаат значително поголеми количини на олово (Wiklander & Vahtras 1977). Акумулирањето на оловото

кај поголем број на растенија е поинтензивно во коренот отколку во надземниот дел. Големата моќ на коренот во акумулацијата на оловото би можела да биде и еден вид заштита на надземниот дел од неговите поголеми концентрации во надворешната средина.

Согласно претходно изнесеното во многу светски лаборатории се прават обиди за фиторемедијација на почвата од високата застапеност на тешките метали. Користени се најразлични експерименти со најразлични растителни видови кои благодарейќи на нивната способност за хиперакумулација во поодделни растителни органи вршат т.н. чистење на почвата па дури и на подолготрајни резидуи кои биле присутни во почвата подолго време.

Адекватно на претходно изнесеното цел на нашите истражувања беше преку испитуваните параметри од спроведените анализи на биохемиско и физиолошко ниво да се определи способноста на оризот (*Oryza sativa* L.) за акумулација на оловото во поодделни негови органи како и можноста за детоксификација во услови на контаминација со повисоки концентрации од дадениот елемент во експериментални услови.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

Оризот (*Oryza sativa* L.) сорта бисер-2 беше одгледуван во експеримент во садови со четири варијанти и контрола со по пет повторувања. Во секој сад беше користено

по 10 kg воздушно сува почва земена од ораничниот слој на опитните парцели во Кочани.

Во Таб. 1, се прикажани механичкиот состав, хигроскопската влага и некои хемиски својства на користената почва. Почвата по механичкиот состав е ситно песклива иловица, со слабо кисела реакција на почвениот раствор (pH во вода 6,7 во nKCl 5,8) и слабо хумусна (2,40%). Според содржината на вкупен азот (0,10 %) почвата е умерено обезбедена со овој елемент и неговата содржина е во корелација со содржината на органска материја во почвата. Со лесно-достапен фосфор и калиум почвата е средно обезбедена (P₂O₅ - 14,6 mg/100g и K₂O 12,7- mg/100g почва).

Основното ѓубрење беше извршено пред сеидбата на оризот со 5 g NPK (15:15:15), а сеидбата беше извршена со 10 зрна на сад, во првата декада на април. После проредувањето во почетокот на братењето на оризот се оставени по 6 издначени растенија на сад, а беше извршено и прихранување со 2 g уреа (46%).

Оловото беше аплицирано во фазата братење (почетокот на јули) почвено во форма на Pb(NO₃) во четири различни концентрации (mM/l): 20; 40; 80 и 160 mM/l. Паралелно со третираните растенија беше поставена и контролна варијанта третирана со еднаков волумен на дестилирана вода.

Таб. 1. Механички состав, хигроскопска влага и некои хемиски својства на почвата
Tab. 1. Mechanical composition, higroscope moisture and some chemical properties of the soil

Длабочина /cm/ Depth /cm/	Хигроск. Влага Hygrosc. Moisture %/	Содржина на фракциите во % од ситноземот Content of fractions in % from fine soil					
		Крупен песок Coarse sand 0,25-2 mm	Ситен песок Fine sand 0.02-0.25 mm	Прав Silt 0.002-0.02mm	Глина Clay < 0.002 mm	Прав +глина Silt + Clay < 0,02 mm	Вкупен песок Total sand
0-30	1,19	21,86	44,14	23,70	10,30	34,00	66,00
Длабочина /cm/ Depth /cm/	CaCO ₃ %/	pH		Хумус Humus %/	Вкупен Total N %/	Достапни хр. материи mg/100 g Available nutr. matters /mg/100 g/	
		H ₂ O	nKCl			P ₂ O ₅	K ₂ O
0-30	-	6,7	5,8	2,40	0,10	14,6	12,7

Во текот на вегетацијата, а после извршените третмани, како и на крај од вегетацијата-жетва беа собирани по десет растенија од секоја варијанта (третман). На овие растенија после детално миење со обична и дестилирана вода беа издвојувани растителните органи: корен, стебло, лист и метличка. Содржината на вкупен азот беше одредена само на крајот од вегетацијата во полна зрелост според Kjeldahl (Sarić и др., 1986), а резултатите се прикажани во mg/g сува материја и во проценти. Содржината на сурови протеини е добиена со множење на вкупниот азот со коефициентот 6.25.

Оредувањето на хлоропластните пигменти е извршено според методот на Røbelen (1957), после третирањето и на крајот од вегетацијата, а добиените резултати се дадени во mg/100g свежа маса. Содржината на вкупни шеќери е одредена по методата на Dubois et al. (1956).

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Паралелно со истражувањата направени на морфолошко-анатомско ниво за штетните ефекти од високите концентрации од употребеното олово кај ориз (Андреевска и Цветановска 2001), детелина (Цветановска и др. 2001) и домати (Кратовалиева и Цветановска 2001) послужија како појдовна основа за истражување на биохемиско-физиолошките параметри кај оризот во тек на вегетацијата.

Што се однесува до содржината на хлоропластните пигменти во тек на вегета-

цијата од приложените резултати (Таб. 2) може да се констатира драстично намалување на вредностите особено кај највисоко употребената концентрација (160 mM/l) каде содржината како на хлорофилот а и б, така и на вкупниот хлорофил и каротеноидите беа значително намалени во однос на контролната група од растенија.

Постои позитивна сигнификантна корелација помеѓу содржината на пигментите и употребената концентрација од елементот особено на крај на вегетацијата (Таб. 3) каде инхибиторното влијание на оловото врз продукцијата и биосинтезата на хлоропластните пигменти беше по забележителна. Истите концентрации употребени и кај други култури како што е домати повторно го постигнаат истиот ефект што укажува на фактот дека оловото веројатно делува деструктивно на биосинтетскиот апарат или во поремеување на транспортот на електрони во една од етапите (фазите) или во процесот на формирање и созревање на пигментниот систем (Кратовалиева и Цветановска 2001).

Така на пример, истражувањата во котиледоните кај *Cucumis sativa* при третмани со олово се констатирани намалени вредности на Mg, K и Ca, а е зголемена на железото (Siedlicka & Baszynski 1993; Reboledo 1994) што веројатно рефлектира и со намалена биосинтеза на пигментите.

Таб. 2. Влијание на различни концентрации на Pb(NO₃)₂ врз содржината на хлоропластни пигменти во листовите на ориз сорта-*монтичели* во текот на вегетацијата (mg/100g свежа материја)

Tab. 2. Influence of different concentrations of Pb(NO₃)₂ on content of chloroplast pigments in rice leaves, cv. monticelli during vegetation (mg/100g fresh weight).

Растенија третирани со Pb Plants treated with Pb	Хлорофил Chlorophyll		Вкупен хлорофил Total chlorophyll a+b	Однос хлорофил а/б Ratio of chlorophyll a/b	Каротеноиди Carotynoides
	a	b			
Контрола Control	49,981	38,023	88,004	1,365	8,067
20mM/l Pb(NO ₃) ₂	39,855	18,641	58,496	2,231	4,590
40 mM/l Pb(NO ₃) ₂	62,358	27,730	90,088	2,301	7,274
80mM/l Pb(NO ₃) ₂	42,509	31,533	74,042	1,771	1,754
160 mM/l Pb(NO ₃) ₂	28,745	11,926	40,671	2,402	2,403

Што се однесува до испитуваните содржини на вкупен азот и протеини во тек и на крај на вегетацијата за разлика од претходно испитуваните параметри некои поголеми варирања во поглед на истите кај различните

групи од растенија не беа констатирани. Благодареејќи на способноста на оловото да се акумулира во коренот како и неговиот слаб асценден транспорт во надземната фитомаса од една страна како и

антагонизмот на јоните од друга се веројатно предуслов за намалените разлики во содржината на азотот и протеините кај испитуваните групи од растенија. Во нашите истражувања најголема содржина на азот и протеини е констатирано во зрното, што значи постои иако намален прием и тран-

спорт на азотот во надземниот дел (а со тоа и намалена но правилна транслокација во правец на зрното) постои иако намалена и биосинтеза на протеини кои најмногу се транспортираат и акумулираат во надземниот дел.

Таб. 3. Влијание на различни концентрации на $Pb(NO_3)_2$ врз содржината на хлоропластни пигменти во листовите на ориз сорта-монтичели на крај на вегетацијата (mg/100g свежа материја)

Tab. 3. Influence of different concentrations of $Pb(NO_3)_2$ on content of chloroplast pigments in rice leaves, cv. monticelli of the end of vegetation (mg/100g fresh weight)

Растенија третирани со олово Plants treated with lead	Хлорофил Chlorophyll		Вкупен хлорофил Total chlorophyll a+b	Однос хлорофил a/b Ratio of chlorophyll a/b	Каротеноиди Carotynoides
	a	b			
Контрола Control	58,150	19,569	77,719	2,959	5,229
20mM/l $Pb(NO_3)_2$	48,989	17,224	66,213	2,867	5,495
40 mM/l $Pb(NO_3)_2$	49,094	16,113	65,207	3,045	5,882
80mM/l $Pb(NO_3)_2$	46,089	26,299	72,388	2,012	3,136
160 mM/l $Pb(NO_3)_2$	35,710	13,871	49,581	2,570	2,734

Еден од многу значајните фактори во испитување влијанието на тешките метали на растителниот метаболизам е нивниот сооднос со останатите минерални елементи. Регулаторните механизми во исхраната на растенијата со тешките метали се парцијално познати од поодамна и веројатно се и многу динамични.

Намалената приемливост на оловото ја фаворизира цинкот (Symeonidis & Kara-

taglis 1992). Истиот предизвикува намалување на Ca и Mn во иглиците на *Picea abies*, како и намалување на бројот на коренчиња и апопластниот воден флукс до ендодермисот (Goldbold & Kettner 1991). Во истражувањата на Burzynski & Grabovski (1984) намалувањето на содржината на вода и азотот била почестата причина во нарушувањата во растителниот метаболизам.

Таб. 4. Влијание на различни концентрации на $Pb(NO_3)_2$ врз содржината на вкупен азот кај ориз сорта-монтичели на крај на вегетацијата

Tab. 4. Influence of different concentrations of $Pb(NO_3)_2$ on total nitrogen content at rice cv. monticelli of the end of vegetation

Растенија третирани со олово Plants treated with lead	Вкупен азот - Total nitrogen									
	Корен Root		Стебло Stem		Лист Leaf		Метличка Panicle		Зрно Grain	
	mg/g	%	mg/g	%	mg/g	%	mg/g	%	mg/g	%
Контрола Control	4,695	0,47	3,245	0,32	6,033	0,60	10,605	1,06	10,555	1,06
20mM/l $Pb(NO_3)_2$	3,904	0,39	3,314	0,33	6,180	0,62	10,437	1,04	11,890	1,19
40 mM/l $Pb(NO_3)_2$	4,614	0,46	3,874	0,39	6,020	0,60	10,454	1,05	12,594	1,26
80mM/l $Pb(NO_3)_2$	3,976	0,40	2,972	0,30	6,888	0,69	10,506	1,05	11,399	1,14
160 mM/l $Pb(NO_3)_2$	4,800	0,48	3,711	0,37	6,997	0,70	11,520	1,15	11,961	1,20

Што се однесува до содржината на шеќерната компонента (вкупни јаглехидрати) поголеми разлики по однос на добиените вредности не беа констатирани со мал исклучок кај највисоката употребена концентрација (коренот и стеблото) при што се покажа тенденција на намалување (16,86 и 15,54) во однос на контролната група. Посебно инхибиторно влијание не е констатирано и кај оваа група на органски соединенија каде употребените концентрации не покажаа појава на токсични ефекти. Слични

ефекти при употреба на овој метал се констатирани и кај домотот на крај на вегетацијата (Кратовалиева и Цветановска 2001) како и кај белата детелина (Кратовалиева и Цветановска 2001) каде благодарјќи на способноста на оловото во многу мала концентрација да се транслоцира во надземната фитомаса (голема количина се акумулира во коренот) и штетните ефекти по однос продукцијата на органската материја се помалку изразени (Таб. 6).

Таб. 5. Влијание на различни концентрации на Pb(NO₃)₂ врз содржината на сурови белковини кај ориз сорта-монтичели на крај на вегетацијата

Tab. 5. Influence of different concentrations of Pb(NO₃)₂ on crude protein content at rice cv. monticelli of the end of vegetation

Растенија третираны со олово Plants treated with lead	Сурови белковини - Crude protein									
	Корен Root		Стебло Stem		Лист Leaf		Метличка Panicle		Зрно Grain	
	mg/g	%	mg/g	%	mg/g	%	mg/g	%	mg/g	%
Контрола Control	29,344	2,93	20,281	2,03	37,706	3,77	66,281	6,63	65,969	6,60
20mM/l Pb(NO ₃) ₂	24,400	2,44	20,713	2,07	38,625	3,86	65,231	6,52	74,313	7,43
40 mM/l Pb(NO ₃) ₂	28,838	2,88	24,213	2,42	37,625	3,76	65,338	6,53	78,712	7,87
80mM/l Pb(NO ₃) ₂	24,850	2,49	18,575	1,86	43,050	4,31	65,663	6,57	71,244	7,12
160 mM/l Pb(NO ₃) ₂	30,000	3,00	23,194	2,32	43,731	4,37	72,000	7,20	74,756	7,48

Таб. 6. Влијание на различни концентрации на Pb(NO₃)₂ врз содржината на вкупни јаглехидрати (шеќери) кај ориз сорта-монтичели на крај на вегетацијата

Tab. 6. Influence of different concentrations of Pb(NO₃)₂ on total carbohydrates content at rice cv. monticelli of the end of vegetation

Растенија третираны со олово Plants treated with lead	Вкупни јаглехидрати - Total carbohydrates				
	Корен Root	Стебло Stem	Лист Leaf	Метличка Panicle	Зрно Grain
	%	%	%	%	%
Контрола Control	17,45	16,44	14,95	21,52	24,35
20mM/l Pb(NO ₃) ₂	16,70	19,59	15,44	27,71	24,14
40 mM/l Pb(NO ₃) ₂	18,67	18,29	14,49	25,42	22,76
80mM/l Pb(NO ₃) ₂	16,67	18,04	15,65	25,36	24,50
160 mM/l Pb(NO ₃) ₂	16,86	15,54	15,10	25,21	24,27

ЗАКЛУЧОЦИ

Од претходно изнесените резултати за испитување на влијанието на високите концентрации од употребеното олово кај растенијата од ориз во почвени услови, можеме да го констатираме следното:

- Употребените концентрации од олово кај растенијата од ориз покажуваат деструктивно влијание врз биосинтезата на хлорофилната компонента во сите фази во тек на вегетацијата.
- Поголеми разлики во однос на содржината на вкупен азот и протеини кај третираните растенија и контролната група од растенија не беа констатирани. Благодарейќи на кумулативната способност на оловото во коренот од една страна, како и намалениот асцендентен транспорт од друга, се основните претпоставки за намалениот ефект врз продукцијата на органската компонента.
- Поголеми разлики помеѓу третираната и контролната група на растенија не беа констатирани и во однос на содржината на вкупните шеќери на крај на вегетацијата каде постоеше избалансираност во вредностите во коренот и надземниот дел со тенденција за скоро правилна транслокација од коренот во правец на метличката односно зрното.

ЛИТЕРАТУРА

- Andreevska, D., Cvetanovska, L. (2001). Ефектот од високи концентрации од олово (Pb^{++}) врз приносот и некои морфолошки карактеристики кај оризот (*Oryza sativa* L.). *God. Zb. Zem. fak.* XXI: 79-93.
- Burzcynski, M., Grabowski, A., (1984). Influence of lead on NO_3^- uptake and reduction in cucumber seedlings. *Acta. Soc. Bot. Pol.* 53: 77-86.
- Цветановска, Л., Кратовалиева, С., (2000). „Морфо-анатомски нарушувања кај белата детелина (*Tr. repens* L.) во присуство на различни концентрации од кадмиум (Cd^{++}). *Год. зб. Зем. Инст.*, XX: 73-83. Скопје
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Roberts, P. A., (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analit. Chem.* 28; 350-356
- Goldbold, D. L., Kettner, C., (1991). Lead influences root growth and mineral nutrition of *Picea abies* seedlings. *J. Plant. Physiol.* 139: 95-99.
- Kratovalieva, S., Cvetanovska, L., (2001). Influence of different lead concentrations to some morpho-physiological parameters at tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) in experimental conditions. *Maced. Agric. Rev.* 48: 35-41.
- Кратовалиева, С., Цветановска, Л., (2001). Третирање на почвата со раствори од олово и влијание врз некои биохемиски параметри кај белата детелина (*Trifolium repens* L.). *Maked. Зем. Рев.* 48 (1-2): 21-26.
- Reboredo, F., (1994). Interaction between copper and zinc and their uptake by *Halimone portulacoides* (L.) Aellen. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 52: 598-605.
- Robbelen, Z. (1957). *Induc. Abstims und Vererbungsgalehre*, pp.88-189.
- Saric, M., Petrovic, M., Krstic, B., Kastori, R., Stankovic, B., Petrovic, N., (1986). "Praktikum iz fiziologije biljaka". Naucna knjiga. Beograd.
- Siedlicka, A., Bascynski, T., (1993). Inhibition of electron flow around photosystem I in chloroplasts of Cd-treated maize plants is due to Cd-induced iron deficiency. *Physiol. Plant.* 83: 199-203.
- Symeonidis, L., Karataglis S., (1992). Interactive effects of cadmium, lead and zinc on root growth of two metal tolerant genotypes of *Holcus lanatus* L. *Biomaterials* 5: 173-178

THE CONTENT OF CHLOROPLAST PIGMENTS, TOTAL NITROGEN, CRUDE PROTEINS AND TOTAL CARBOHYDRATE AT RICE (*Oryza sativa* L.) IN DEPENDENCE OF Pb⁺⁺ CONTENT IN SOIL

Danica Andreevska¹, Lenka Cvetanovska², Suzana Kratovalieva¹

¹ *Institut of Agriculture, 1000 Skopje, Republic of Macedonia*

² *Faculty of Natural Sciences and Mathematics*

SUMMARY

Metal-contaminated soil poses a number of problems, threatening the food chain and groundwater supplies as well as rendering the land unusable for humans and unsafe for wildlife. Metal pollution typically occurs around landfill, mining and industrial sites and can also be found in inner city allotments. Cleaning contaminated land is a costly and arduous affair, but a growing technique phytoremediation could prove perfect for the task.

Recently many reports take notice of heavy metals behaviour as their agrochemical mobilization in soils and uptake by plants in toxic concentrations depends of many factors (ions antagonism, soil acidity and many other factors). On the other hand, plant tolerance to heavy metals is a specific characteristic that should take into account in such investigations.

Lead is a common contaminant of surface soils. In our experiment has been investigated the influence of different lead concentrations (20; 40; 80 and 160mM/l) on growth and development of rice plants compared with control group of plants. In a pot experiment with rice grown on a lead contaminated soil was studied the effect on biosynthetic activity, total and soluble sugars as well as total nitrogen and protein content during vegetation.

At the first phases of vegetation has been not confirmed the inhibitory effects in the content of the chloroplast pigments compared with control group of plants. Significant decreasing in the chloroplast content (total chlorophyll, carotenoids) was concluded of the end of vegetation. The inhibitory mechanism seems to depend on the time of lead accumulation to the plant growth medium.

More toxic effects and differences between non treated and treated plants has been not remarkable in the nitrogen and protein content as well as sugar content. The applied lead has less toxic influence of these parameters, and this is probably a result of its accumulation in different root parts and slowly translocation in aboveground parts.