

**Anatomiskās izmaiņas lauka pupu (*Vicia faba*) un
kukurūzas (*Zea mays*) vasā un saknēs
Anatomical Changes in Faba Bean (*Vicia faba*) and
Maize (*Zea mays* L.) Plants Induced by Zinc**

Lāsma Rābante^{1,2}, Uldis Kondratovičs²

¹AREI Priekšu pētniecības centrs

²LU Bioloģijas fakultāte

Abstract. Environmental pollution with heavy metals is a worldwide problem, mainly related to the progress of metallurgy. This study was carried out at the Department of Plant Physiology, Faculty of Biology, University of Latvia. The aim of this work was to study the impact of different substrate zinc concentrations on anatomical changes in two model objects: maize (*Zea mays*) and field beans (*Vicia faba*). While examining the anatomical differences in plants, anatomical adaptations in field beans was not observed, however, on field beans' roots in variants with zinc there were no root nodules observed. In maize roots formation of Caspari strips were detected.

Key words: anatomy, hyperaccumulation, zinc, field beans, maize.

Ievads

Piesārņojums ar smagajiem metāliem ir aktuāla problēma, kuras risināšanai ir nepieciešamas jaunas un inovatīvas tehnoloģijas. Vēsturiski cinka piesārņojums ir saistīts ar metalurģijas attīstību. Vēl joprojām trūkst fundamentālu pētījumu, kuros tiktu skaidroti tieši smago metālu uzkrāšanās mehānismi, mobilitāte augā un to loma augu fizioloģiskajos procesos.

Darba mērķis bija izpētīt dažādu cinka koncentrāciju substrātā ietekmi uz augu anatomiskajām izmaiņām, kā modeļobjektus izmantojot lauka pupas un kukurūzu. Darba uzdevums bija izpētīt anatomiskās izmaiņas lauka pupu (*Vicia faba* var. *minor*) un kukurūzas (*Zea mays* var. *saccharata*) saknēs cinka akumulācijas rezultātā.

Materiāli un metodes

Pētījumā izmantoto augu un substrāta raksturojums un sagatavošana

Eksperimentā izmantoja lauka pupu šķirni 'Fuego' un kukurūzas šķirni 'Zlota Karlova SNF'. Kā substrātu izmantoja smiltis. Izmantoja ūdenī šķīstošu minerālmēslojumu Kristalons NPK 18–18–18, kam secīgi pievienoja cinka sulfāta šķīdumu, lai izveidotu lauka pupām variantus: kontrole, Zn20, Zn50 un Zn70, un kukurūzas varianti: kontrole, Zn20, Zn50, Zn100.

Lauka pupas audzēja 42 dienas, bet kukurūzu – 37 dienas. Kukurūzas un lauku pupu sēklas diedzēja un pēc tam sēja 1 L veģetācijas traukos. Augus audzēja Latvijas Universitātes Dabaszinātņu akadēmiskā centra

eksperimentālajā siltumnīcā kontrolētos apstākļos (22...24 °C, FAR 70...75 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fotoperiods 12 h, CO₂ koncentrācija – 1.8 mg m⁻³, gaisa relatīvais mitrums – 60%). Veģetācijas traukus randomizēja pēc noteiktas shēmas.

Paraugu ievākšana un fiksēšana

Pastāvīgo preparātu pagatavošanai izmantoja stumbru un saknes – aptuveni 10 mm garus paraugus no sakņu gala (kukurūza), sakņu augšējās daļas (lauka pupas) un stumbra apakšējās daļas. Ievāktos augu materiālus fiksēja FAA fiksatorā.

Materiāla parafīna infiltrācija

Fiksētos paraugus attūdeņoja etilspirta (EtOH) un terc – butanola (TBA) šķīdumos. Pēc attūdeņošanas veica parafīna infiltrāciju. Visa procesa laikā paraugus uzglabāja termostātā 58 °C temperatūrā. Pēc protokola izpildes paraugus ieslēdza histovaskā porcelāna tīģeļos un atdzesēja.

Mikrotomēšana

Griezumu pagatavošanai izmantoja rotācijas mikrotomu Leica RM 2145 (Rotary Microtome, Leica Microsystems Nussloch GmbH). Iepriekš histovaskā ieslēgtos paraugus iestiprināja mikrotoma gredzenā un pagatavoja 25 μm biezu griezumus sēriju. Kvalitatīvākos griezumus ar adatas palīdzību pārcēla uz priekšmetstikliem, kurus uzglabāja istabas temperatūrā.

Griezumus krāsošana un ieslēgšana pastāvīgā vidē

Griezumus atparafinēja un krāsoja, izmantojot Braune (2007) un Schweingruber (2007) (modificēja U. Kondratovičs 2015. gadā) metodi – UltraClear – UltraKitt sērijās. Pēc krāsošanas paraugiem uzpilināja UltraKitt, kas kalpo kā saistviela, un uzlika segstiklus.

Anatomisko attēlu iegūšana un analizēšana

Anatomiskos preparātus izpētīja mikroskopā Leica DM5500B un attēlu ieguva, izmantojot digitālo fotoaparātu Leica DFC490 un darba staciju Dell Precision™ T7400 un datorprogrammu Image – Pro v. 6.2.

Rezultāti un diskusija

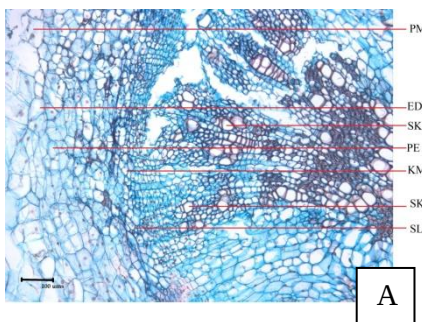
Anatomiskās izmaiņas

Zn ietekmē lauka pupu saknēs un stumbra anatomiskajā struktūrā nekonstatēja anatomiskās izmaiņas (1. att., A un B). Lauka pupas sakni (1. att., A) 42. eksperimenta dienā veidoja rizoderma, primārās mizas parenhīma, endoderma, pericikls, lūksne, primārā un sekundārā koksne, kambijs un serde.

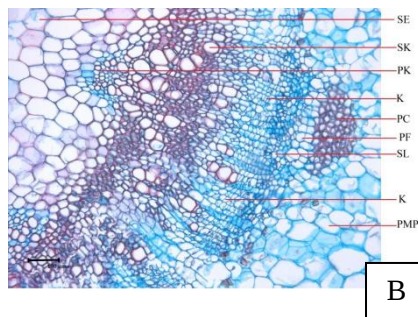
Lauka pupu stumbru (1. att. B) 42. eksperimenta dienā veidoja visas tai raksturīgās anatomiskās struktūras – epiderma, primārās mizas parenhīma, endoderma, pericikls, primārā un sekundārā lūksne un koksne, kambijs, un serde. Iespējams, lauku pupas stumbros neatkarīgi no apstrādes varianta uzkrātā Zn koncentrācija nav bijusi tik liela, lai izraisītu būtiskas izmaiņas stumbra uzbūvē. Līdzīga likumsakarība konstatēta pētījumā par *Rubus ulmifolius*, kur Zn koncentrācija augu saknēs bija 142–563 mg kg⁻¹, stumbros 35–110 mg kg⁻¹,

bet lapās $45\text{--}91\text{ mg kg}^{-1}$ (Marques et al., 2007). Tomēr neskaidrs paliek jautājums, kāpēc neizdevās konstatēt Kaspari svītru veidošanos endodermas šūnām lauku pupas saknēs, ja zināms, ka Zn veicina šo struktūru veidošanos 5 mm attālumā no saknes gala (Peterson, Lefcourt, 1990).

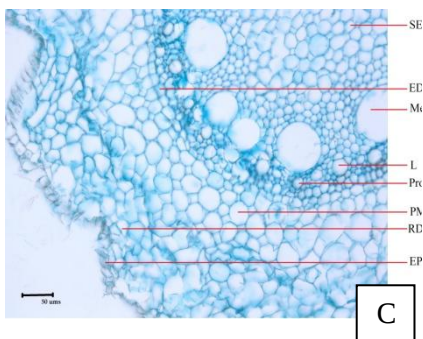
Kukurūzai visos variantos 39. eksperimenta dienā (1. att., C un D) stumbra anatomiskajos griezumos novēroja epidermu, pamataudu parenhīmu, periciklu, kā arī vadaudu kūlīti sakopotus koksnes un lūksnes vadaudus. Eksperimenta pēdējā dienā kukurūzas saknē (1. att., C) konstatēja epiblēmu, rizodermu, primārās mizas parenhīmu, endodermu, periciklu, lūksni, koksni veidojošo metaksilēmu un protoksilēmu, un serdi.



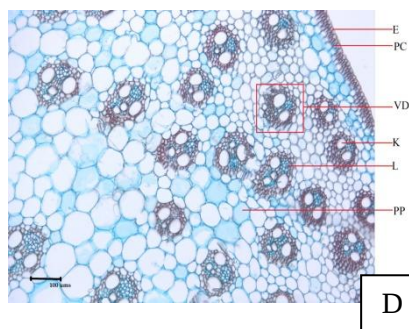
Saknes anatomiskais griezum - Zn70, 42. diena (nogrieznis 100 μm)



Stumbra anatomiskais griezum - Kontrolē, 42. diena (nogrieznis 200 μm)



Saknes anatomiskais griezum - Zn70, 39. diena (nogrieznis 50 μm)



Stumbra anatomiskais griezum - Kontrolē, 39. diena (nogrieznis 100 μm)

1. att. Lauka pupu (A un B) un kukurūzas (C un D) anatomiskā uzbūve un pielāgojumi Zn piesārņojuma gadījumā.

Literatūrā atrodama informācija par pastiprinātu Kaspari svītru veidošanos augu saknēs palielinātu smago metālu koncentrāciju gadījumā (Barberon, 2016;

Caldelas, Weiss, 2017). Kukurūzas saknēs Kaspari svītras konstatēja tikai 39. eksperimenta dienā Zn100 varianta kukurūzas saknēs, tas varētu būt izskaidrojams ar eksperimentā izmantotajām Zn koncentrācijām, kuras nebija kukurūzai toksiskas, kā to apraksta A. Barans (Baran, 2012). Kukurūzai 31. eksperimenta dienā Zn70 varianta kukurūzas stubru anatomiskajos griezumos konstatēja pārkoksnējušās pamataudu parenhīmas, pericikla šūnas un atvārsnīšu palīgšūnas. Savukārt 39. eksperimenta dienā Zn100 varianta sakņu anatomiskajos griezumos konstatēja agrīnu Kaspari svītru veidošanos.

Secinājumi

Zn ietekmē lauka pupas saknē un stumbrā nenotika anatomiskas izmaiņas. Kukurūzas saknēs lielāku cinka koncentrāciju ietekmē veidojās endodermas sekundārie uzbiezinājumi – Kaspari svītras, kā arī terciārie U-veida uzbiezinājumi.

Literatūra

1. Baran, A. (2013). Assessment of Zea mays sensitivity to toxic content of zinc in soil. *Polish Journal of Environmental Studies*, 22(1), pp. 77–83.
2. Barberon, M. (2016). The endodermis as checkpoint for nutrients: a review. *New Phytologist*, 213, pp.1604–1610.
3. Braune, W., Leman, A., Taubert, H. (2007). *Pflanzen – Anatomisches Praktikum I*. Auflage 9. Spektrum Akademischer Verlag, 372 S.
4. Caldela, C., Weiss, D.J. (2017). Zinc Homeostasis and Isotopic Fractionation in Plants: a review. *Plant and Soil*, 411(1-2), pp.17–46.
5. Marques, A.P.G.C., Rangel, A.O.S.S., Castro, P.M.L. (2007). Zinc accumulation in plant species indigenous to a Portuguese polluted site. *Journal of Environmental Quality*, 36 (3), pp. 646–653.
6. Peterson, C.A., Lefcourt, B.E.M. (1990). Development of endodermal Casparian bands and xylem in lateral roots of broad bean. *Canadian Journal of Botany*, 68(12), pp. 2729–2735.
7. Schweingruber, F.H. (2007). *Wood Structure and Environment*. 1st edition. Springer, Berlin, Heidelberg, 279 p.