

**Agrovoc descriptors:** plants, stress, seasonal variation, respiration, viability, ultraviolet radiation, metabolism  
**Agris category code:** F60

COBISS koda 1.02

## Dihalni potencial – kazalnik stresa pri rastlinah

Mateja GERM<sup>1</sup>, Alenka GABERŠČIK<sup>1,2</sup>

Delo je prispelo 3. julija 2003; sprejeto 10. septembra 2003.  
Received July 3, 2003; accepted September 10, 2003.

### IZVLEČEK

Rastline so stalno ali občasno izpostavljene stresu. Eden od odgovorov na stresne razmere je tudi povečana potreba po energiji. Sposobnost premagovanja stresa pri vitalnih rastlinah je zato povezana z dihalnim potencialom (aktivnostjo ETS) določenega tkiva. Prekomeren stres lahko povzroči zmanjšanje vitalnosti tkiva in s tem tudi dihalnega potenciala. Meritve so pokazale, da so imele višji dihalni potencial rastline, ki so uspevale v manj ugodnih razmerah ter rastline v času intenzivne rasti. Značilna je bila tudi povezava med povečanim UV-B sevanjem in aktivnostjo ETS.

**Ključne besede:** rastline, stres, vitalnost, dihalni potencial, aktivnost ETS

### ABSTRACT

#### RESPIRATORY POTENTIAL – INDICATOR OF STRESS IN PLANTS

Plants are permanently or temporary exposed to stress. One of the responses to stress conditions is the increased need for energy. The ability to cope stress in vital plants therefore is related to respiratory potential (ETS activity) of certain tissue. Too much stress exerts the decrease in the vitality of tissue and the decrease respiratory potential. The measurements revealed higher respiratory potential in plants thriving under unfavourable conditions, and plants with intensive growth. We determined significant correlation between increased UV-B radiation and ETS activity.

**Key words:** plants, stress, vitality, respiratory potential, ETS - activity

### 1 UVOD

Življenjskih okolij brez stresnih dejavnikov ni. Rastline so zato stalno ali občasno pod stresom. Eden od odgovorov na stresne razmere je tudi povečana potreba po energiji (Martinez, 1992; Amthor, 1995). To organizmi pridobijo z dihanjem (Gulmon in

<sup>1</sup> Nacionalni inštitut za biologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana. Mateja.Germ@nib.si

<sup>2</sup> Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo, Večna pot 111, 1000 Ljubljana. Alenka.Gaberscik@uni-lj.si

Mooney, 1986). Mitohondriji povečajo nastanek ATP in poraba kisika se poveča. Meritve dihanja pri organizmih potekajo na različne načine: z merjenjem sproščenega ogljikovega dioksida in porabljenega kisika. Merjenje količine izdihanega ogljikovega dioksida ali porabljenega kisika je odraz trenutnega dihanja rastlin, medtem ko lahko z merjenjem aktivnosti ETS ugotovimo dihalni potencial (Peñuelas in sod., 1988; del Giorgio, 1992). Večji dihalni potencial zagotavlja več energije, kar omogoča rastlini vzpostavitev zaščitnih in popravljivih mehanizmov in rastlina poveča odpornost na neugodne, stresne razmere. Aktivnost ETS je odvisna od koncentracije encimov. Encimi, ki sodelujejo pri dihanju so »*in vivo*« podvrženi določenim kontrolnim mehanizmom, zato je v različnih razmerah dejansko dihanje različno, vedno pa je manjše od dihalnega potenciala. To omogoča organizmom hitro reagiranje na spremenjene razmere brez spreminjanja koncentracij encimov (Berges in sod., 1993). Kadar v stresnih razmerah potrebe po energiji presegajo dihalni potencial, ga organizmi še povečajo, če jim to omogočajo genetske danosti in aktivnost ETS doseže stabilno stanje šele v nekaj dneh (Bamstedt, 1988).

## 2 MERITVE AKTIVNOSTI ELEKTRONSKEGA TRANSPORTNEGA SISTEMA

Metodo je razvil Packard (1971), kasneje pa so jo različni raziskovalci priredili in izpopolnili. Terminalni transport elektronov je eden izmed glavnih biokemijskih procesov v celičnem metabolizmu in poteka pri bakterijah v plazmalemii, pri evkariontih pa v notranji membrani mitohondrijev. Vsi organizmi, ki pri dihanju porabljajo  $O_2$ ,  $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$  ali  $SO_4^{2-}$ , imajo na koncu oksidacije organskih snovi in pri fosforilaciji adenozin-difosfat (ADP) elektronski transportni sistem (ETS) (Tóth, 1993; Tóth in sod., 1994). ETS je kot nekakšen most med oksidacijo organske snovi in  $O_2$ . Sestavlja ga kompleksna veriga iz citokromov, flavoproteinov in kovinskih ionov, ki prenašajo elektrone od kataboliziranih hranil do sprejemnika elektronov  $O_2$ . Metoda temelji na redukciji umetnega elektronskega akceptorja (jodo-nitro-tetrazolium-klorid - INT), ki poteče z oksidacijo koencim Q-citokrom-b kompleksa, namesto redukcije naravnega akceptorja  $e^-$ ,  $O_2$ , do katere pride v celici. Produkt je netopen in rdeč formazan, ki ga lahko merimo s spektrofotometrom pri valovni dolžini 490 nm, njegova produkcija pa je neposredno povezana s porabo kisika pri raziskovanem organizmu. Aktivnost ETS določamo na mestu, ki omejuje hitrost celotnega ETS, t.j. oksidacija koencim Q-citokrom-b kompleksa. Analiza je zelo natančno standardizirana, s točno določenimi časovnimi koraki dodajanja encimov in elektronskih donorjev (substrata) (Kenner in Ahmed, 1975). Uporablja se za ugotavljanje dihalnega potenciala za vse vrste organizmov in stadijev (plankton, ribja jajčeca in larve) in različnih tkiv ter sedimenta, zemlje... (Tóth in sod., 1994).

## 3 VPLIV SPREMEMBE MEDIJA NA DIHALNI POTENCIAL

Rastline najdemo tako v vodi kot tudi na kopnem. Nekatere pa uspevajo na prehodu voda/kopno in so pogosto izpostavljene menjavi medija. Ugotavljali smo, kako sprememba zračnega oziroma vodnega medija vpliva na dihalni potencial pri amfibijskih vrstah - močvirski spominčici (*Myosotis scorpioides* L.) in lasastolistni vodni zlatci (*Ranunculus trichophyllus* Chaix). Poganjki močvirske spominčice imajo večjo aktivnost ETS v vodi v primerjavi z aktivnostjo poganjkov v kopnem okolju. To

pa nakazuje, da je kopno okolje za to vrsto ugodnejši medij. Nasprotno velja za lasastolistno vodno zlatico, saj imajo rastline, ki rastejo na kopnem, večjo aktivnost ETS od rastlin, ki uspevajo v vodi. Obe vrsti pa imata v primerjavi z drugimi vodnimi vrstami velik dihalni potencial in sposobnost hitrega prilagajanja. Močvirska spominčica in lasastolistna vodna zlatica živita v okolju, kjer so spremembe medija pogoste. Hitro prilagajanje okolju jima omogoča velika količina dihalnih encimov. Pri lasastolistni vodni zlatici so generacije kratkoživeče in se hitro obnavljajo (Dalhgren in Cronberg, 1996), kar zahteva veliko aktivnost ETS.

#### **4 SEZONSKO SPREMINJANJE DIHALNEGA POTENCIALA**

Pri vodnih rastlinah - klasastem rmancu (*Myriophyllum spicatum* L.), alpskemu dristavcu (*Potamogeton alpinus* Balbis) in navadnem rogolistu (*Ceratophyllum demersum* L.) smo spremljali dihalni potencial v vegetacijski sezoni. Poganjki klasastega rmanca in navadnega rogolista so imeli največji dihalni potencial v času aktivne rasti v začetku pomladi in v jeseni (Mazej in Gaberščik, 1999; Mazej, 2000, Gaberščik in sod., 2002). V tem obdobju je bilo v listih izmerjeno tudi več klorofila, karotenoidov in antocianov kot poleti. Za rast in tvorbo barvil pa je potrebna energija. Pri podvodnih listih alpskega dristavca je dihalni potencial ostajal enak vso sezono. Predvidevamo, da je pri alpskem dristavcu dihalni potencial dovolj velik, da omogoča reagiranje na spremenjene razmere v okolju, ne da bi se koncentracije encimov spremenile (Mazej, 2000).

#### **5 POVEZAVA MED METABOLNIM POTENCIALOM IN POVEČANIM UV-B SEVANJEM PRI RASTLINAH**

V poskusih pod delno nadzorovanimi razmerami in v rastni komori smo ugotavljali vpliv povečanega UV-B sevanja (ki ustreza 17% simulaciji tanjšanja ozonske plasti) na biokemijske in fiziološke lastnosti rastlin. K slednjim spada tudi spreminjanje dihalnega potenciala. Raziskave na močvirski spominčici in lasastolistni vodni zlatici kot modelnih rastlinah kažejo, da je aktivnosti ETS v razmerah dodanega UV-B sevanja v srednjem in poznem poletju največja v razmerah povečanega UV-B sevanja. Potreba po energiji rastlin, ki so pod stresom, se navadno povečuje (Larcher, 1995). Rastlini se na povečano sevanje ultravijoličnih žarkov odzoveta z naraščanjem dihalnega potenciala. Na ta način dobita več energije, ki je nujno potrebna tako za povečano izgradnjo UV zaščitnih snovi, kot za blaženje učinkov (Middleton in Teramura, 1993). Odnos med izgradnjo UV-B zaščitnih snovi in dihalnim potencialom je bil statistično značilen v primeru navadnega rogolista (Gaberščik in sod., 2002). Vsebnost teh snovi in aktivnost ETS se je povečevala s povečano dozo UV-B sevanja. Izgradnja UV-B zaščitnih snovi je energetsko zahteven proces, večja zaloga energije pa je bila - kot v primeru močvirske spominčice in lasatolistne vodne zlatice - potrebna za popravilne mehanizme, ki učinkovito blažijo škodo, nastalo zaradi UV-B sevanja. Trenutno potekajo poskusi na kmetijskih rastlinah, npr. na ajdi in bučah.

## 6 DIHALNI POTENCIAL KORENIN

Dihalni potencial odraža tudi vitalnost rastlinskega tkiva. Prekomeren stres lahko povzroči zmanjšanje vitalnosti tkiva in s tem tudi dihalnega potenciala. Zanimivi so izsledki merjenja aktivnosti ETS korenin. Ugotavljali smo, kako vitalne so korenine navadnega trsta (*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud.) v zgrajenem močvirju. Rezultati so pokazali sezonske razlike, ki jih lahko pripišemo spremembam temperature in aktivni rasti. Razlike v dihalnem potencialu korenin smo izmerili na različnih delih močvirja, kar je bilo povezano z razmerami v sferi korenin, predvsem s hidravlično prevodnostjo sistema. Rastline z vitalnejšimi koreninami so bile močnejše, višje in tudi njihove asimilacijske površine so bile bolj razvite (Urbanc-Berčič in Gaberščik, 1997). Respiratorni potencial korenin se je manjšal tudi z globino, kar kaže na neugodne razmere zaradi visoke talne vode (Urbanc-Berčič in Gaberščik, 2001). Meritve dihalnega potenciala pri koreninah smreke (*Picea abies* (L.) Karst.), tretirane s svincem, so pokazale, da je svinec povzročil zmanjšanje aktivnosti ETS. To lahko pomeni, da je bila jakost stresa prevelika in so prevladali katabolni procesi. Dihalni potencial pa se je povečal ob sočasnem dodatku zeatin-ribozida (Vodnik in sod., 1999).

## 7 ZAKLJUČKI

Rastlinam, ki so zaradi različnih dejavnikov pod stresom, se poveča dihalni potencial. Z metodo ETS lahko na zanesljiv način ugotavljamo nivo dihalnega metabolnega potenciala pri rastlinah. Visok dihalni potencial so imele vrste, ki so uspevale v manj ugodnem okolju za rast ter rastline v času intenzivne rasti. Značilna je tudi povezava med povečanim UV-B sevanjem in aktivnostjo ETS. Rastlinam se je s povečanim odmerkom UV-B sevanja povečal dihalni potencial. Rastline se na povečano UV-B sevanje različno odzovejo; nekatere hitro rastejo in se »izognejo« močnemu sevanju zaradi samoosenčenja, nekatere izgrajujejo UV-B zaščitne snovi. Ne glede na način »obrambe« pa rabijo povečano količino energije, ki jim jo zagotavlja povečan dihalni potencial. Dihalni potencial odraža tudi vitalnost rastlinskega tkiva, kar smo ugotavljali pri koreninah navadnega trsta in smreke.

## 8 LITERATURA

- Amthor, J.S. (1995): Higher plant respiration and its relationship to photosynthesis. In: Schulze, E.-D., Caldwell, M.M. (ed.) *Ecophysiology of Photosynthesis*. – Berlin, Heidelberg, New York. Springer-Verlag, p. 71-101.
- Bamstedt, U. (1988): Ecological significance of individual variability in copepod bioenergetics. - *Hydrobiologia*, 167/168: 42-59.
- Berges, J.A., Roff, J.C., Ballantyne, J.S. (1993): Enzymatic indices of respiration and ammonia excretion: relation to body sizes and food levels. - *J. Plankton Res.*, 15, 2: 239-254.
- Dahlgren, G., Cronberg, N. (1996): Species differentiation and relationship in *Ranunculus* subgenus *Batrachium* (Ranunculaceae) elucidated by isozyme electrophoresis. - *Symb. Bot. Ups.*, 31, 3: 91-104.

- del Giorgio, P.A. (1992): The relationship between ETS (electron transport system) activity and oxygen consumption in lake plankton: a cross-system calibration. - J. Plankton Res., 14, 12: 1723-1741.
- Gaberščik, A., Germ, M., Škof, A., Drmaž, D., Trošt, T. (2002): UV-B radiation screen and respiratory potential in two aquatic primary producers: *Scenedesmus quadricauda* and *Ceratophyllum demersum*. - Verh. Internat. Verein. Limnol., 27: 1-4.
- Gulmon, S.L., Mooney, H.A. (1986): Costs of defence on plant productivity. In: Givinish, T.J. (ed.) On the economy of plant form and function. - Cambridge University Press, 681-698 p.
- Martinez, R., (1992): Respiration and respiration electron transport activity in marine phytoplankton; growth rate dependence and light enhancement. - J. Plankton Res., 14, 6: 789-797.
- Mazej, Z., Gaberščik, A. (1999): ETS-activity as a measure of vitality of different macrophyte species. - Phytol., 39, 3: 181-185.
- Mazej, Z. (2000): Vpliv povečanega UV-B sevanja na klasasti rmanec (*Myriophyllum spicatum*) in alpski dristavec (*Potamogeton alpinus*). - Doktorska disertacija. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za biologijo, Ljubljana, 135 str.
- Middleton, E.M., Teramura, A.H. (1993): The role of flavonol glycosides and carotenoids in protecting soybean from ultraviolet-B damage. - Plant Physiol., 103: 741-752.
- Kenner, R.A., Ahmed, S.I. (1975): Correlation between oxygen utilization and electron transport activity in marine phytoplankton. - Mar. Biol., 33: 129-133.
- Larcher, W. (1995): Physiological Plant Ecology. – Third Edition. Berlin, Springer-Verlag, 505 p.
- Packard, T.T. (1971): The measurement of respiratory electron-transport activity in marine phytoplankton. – J. Marine Res., 29 (3): 235-243.
- Peñuelas, J., Murillo, J., Azcón-Bieto, J. (1988): Actual and potential dark respiration rates and different electron transport pathways in freshwater aquatic plants. – Aquat. Bot., 30: 353-362.
- Tóth, G.L. (1993): Electron transport system (ETS) activity of the plankton, sediment and biofilm in Lake Balaton (Hungary). Verh. Internat. - Verein. Limnol., 25: 680-681.
- Tóth, G.L., Langó, Z., Padišák, J., Varga, E. (1994): Terminal electron transport system (ETS)-activity in the sediment of Lake Balaton, Hungary. - Hydrobiologia, 281: 129-139.
- Urbanc-Berčič, O., Gaberščik, A. (1997): Reed stands in constructed wetlands: "edge effect" and photochemical efficiency of PS II in common reed. - Water sci. technol., 35, 5: 143-147.
- Urbanc-Berčič, O., Gaberščik, A. (2001): The influence of water table fluctuations on nutrient dynamics in the rhizosphere of common reed (*Phragmites australis*). - Water sci. technol., 44, 11-12: 245-250.
- Vodnik, D., Gaberščik, A., Gogala, N. (1999): Lead phytotoxicity in Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.): The effect of Pb and zeatin-riboside on root respiratory potential. Phytol., 39, 3: 155-159.