

Agnieszka Pyza*, Helena Kubicka*

**OZNACZENIE ZAWARTOŚCI WYBRANYCH PIERWIASTKÓW
W SIEWKACH LINII WSOBNYCH ŻYTA (*SECALE CEREALE* L.)
PO TRAKTOWANIU AZOTANEM OŁOWIU**

**DESIGNATION OF CONTENT OF CHOSEN CHEMICAL ELEMENTS
IN SEEDLINGS OF INBRED LINE OF RYE (*SECALE CEREALE* L.)
TREATED WITH NITRATE OF LEAD IONS**

Słowa kluczowe: żyto, jony ołowiu, pierwiastki chemiczne.

Key words: rye, lead ions, chemical elements.

In this paper, the influence of lead ions on the growth of five winter rye inbred line seedlings (L154, L4, M353, L310 and L29) was studied. Five day-old plants treated with lead-nitrate at concentrations of $10^{-4}M$ and $10^{-6}M$ were placed on the nutrient for 36 hours. Next, these seedlings were placed on the Hoagland nutrient. At the same time a control-experiment was carried out a seedlings growing on the same nutrient without the addition of lead. Twenty-one day old seedlings were mineralized and next with the use of the Perkin atom absorption spectrophotometer, the following elements were marked: Pb, Mg, Zn, Ca, Mn i K. The lowest content of lead was noted in control combinations from 0.7 mg/kg dry weight – L154 to 3.2 mg/kg dry weight – L4 i M353. However, the highest content was at a concentration of $10^{-4}M/36$ h which ranged from 105.3 mg/kg – L154 do 122.4 mg/kg – M353. Moreover, a higher content of magnesium zinc, calcium, manganese and potassium in combinations treated with lead ions ($10^{-6}M$ for 36 h – in comparison with control) was observed.

1. WPROWADZENIE

Metale ciężkie wpływają szkodliwie na wiele podstawowych procesów metabolicznych i fizjologicznych roślin. Są to pierwiastki o gęstości powyżej 5 g/cm^{-3} i należą do nich m.in.:

* **Mgr inż. Agnieszka Pyza, dr hab. Helena Kubicka – Ogród Botaniczny-Centrum Zachowania Różnorodności Biologicznej PAN, ul. Prawdziwka 2, 02-973 Warszawa; tel.: 22 648 38 56 w. 249; e-mail: helenakubicka@wp.pl**

chrom (Cr), kobalt (Co), cynk (Zn), kadm (Cd) i ołów (Pb). Większość z nich nie uczestniczy w metabolizmie roślin, chociaż występują w ilościach śladowych, np. ołów [Kabata-Pendias 1984]. Nadmiar jonów tego pierwiastka w roślinach, zakłóca różne procesy fizjologiczne i biochemiczne [Singh 1997, Xiong 1997]. Rośliny absorbują ołów i kumulują go w korzeniach, łodygach, liściach i nasionach [Singh 1997]. W dużych ilościach ołów pobierany jest przez korzenie, jednak ze względu na małą mobilność, do liści dociera go niewiele [Reddy i in. 2005]. Pomimo tego symptomy jego toksycznego działania obserwuje się także w liściach: w ich liczbie, wielkości, świeżej i suchej masie [Islam i in. 2008]. Ołów powoduje obniżenie fotosyntezy przez: zamykanie szparek, uszkodzenie struktury lamellarnej chloroplastów, zastępowanie takich kationów, jak Mg i Mn w chloroplastach, hamowanie syntezy barwników fotosyntetycznych oraz ich degradację [Singh 1997].

Rośliny, aby bronić się przed szkodliwym działaniem jonów ołowiu wykształciły mechanizmy obronne. W symplazmie korzeni jony ołowiu są unieczynniane w ścianach komórkowych, wakuolach i pęcherzykach diktiosomalnych. Innym sposobem unieszkodliwiania ołowiu jest wiązanie go w komórce roślinnej przez fitochelatyny, homofitochelatyny oraz kwasy organiczne i białka metalotioneinopodobne [Woźny i Krzeszowska 1993].

Ze względu na powszechne występowanie ołowiu w środowisku celem badań było sprawdzenie, czy zróżnicowane genetycznie linie wsobne żyta ozimego poddane działaniu stresu ołowianego różnią się pod względem zawartości wybranych pierwiastków w fazie siewek.

2. MATERIAŁY I METODY BADAŃ

Materiał badawczy stanowiło pięć linii wsobnych żyta ozimego (*Secale cereale* L.): L154, L4, M353, L310 i L29, pokolenia S₂₅. Po dwadzieścia pięć pięciodniowych siewek z każdej linii umieszczano w kombinacjach:

- kontrola – pożywka Hoaglanda (makroelementy: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$, KNO_3 , $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 1% $\text{Fe}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ oraz mikroelementy: H_3BO_3 , $\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$, NaCl , $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$),
- pożywka z azotanem ołowiu w stężeniu: 10^{-6}M oraz 10^{-4}M przez 36 godzin.

Po upływie tego czasu wszystkie siewki wykładano na pożywkę. Dwudziestojednodniowe siewki z każdej kombinacji wysuszono, zmineralizowano i oznaczono zawartość następujących pierwiastków: kadmu (Cd), magnezu (Mg), cynku (Zn), wapnia (Ca), manganu (Mg) i potasu (K), za pomocą spektrofotometru absorpcji atomowej Perkin-Elmer 1100. Wyniki podano jako wartości średnie z trzech powtórzeń oraz obliczono odchylenia standardowe.

3. WYNIKI BADAŃ I Dyskusja

Ołów jest jednym z metali ciężkich, wywierających niekorzystny wpływ na wzrost i rozwój oraz procesy fotosyntetyczne roślin, powodując obniżenie ich aktywności enzymatycz-

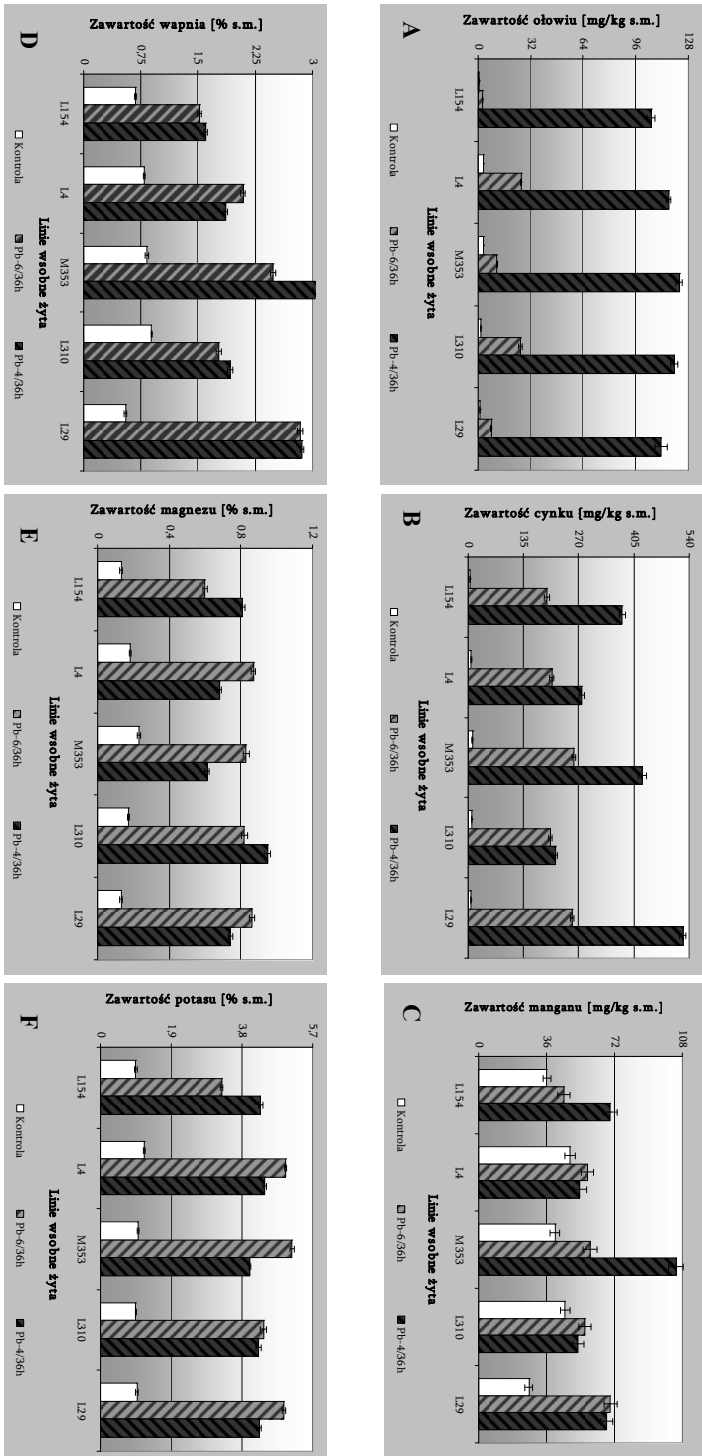
nej, zmiany w przepuszczalności błon roślin oraz zakłócenie równowagi wodnej i odżywiania mineralnego [Islam 2008].

Wpływ toksycznego działania ołowiu uwidocznił się w wyglądzie siewek traktowanych azotanem ołowiu (szczególnie w stężeniu ołowiu $10^{-4}/36$ godz.), które charakteryzował obniżony turgor, jaśniejsza barwa liści oraz krótkie, brunatne korzenie. W siewkach linii wsobnych żyta stwierdzono zwiększenie zawartości ołowiu proporcjonalnie do wzrostu stężenia tego pierwiastka w podłożu (rys. 1 A). Najwięcej ołowiu kumulowały linie w wyższym stężeniu tego metalu – $10^{-4}M/36$ godz. – od 105,3 mg/kg s.m. (L154) do 122,4 mg/kg s.m. (M353). Znacznie mniejszą zawartość ołowiu w siewkach linii wsobnych żyta odnotowano przy stężeniu ołowiu $10^{-6}M/36$ godz., które wahało się od 2,9 mg/kg s.m. (L154) do 26 mg/kg s.m. (L4). W kontroli natomiast zawartość tego pierwiastka wynosiła od 0,7 mg/kg s.m. do 3,2 mg/kg s.m. Znajduje to potwierdzenie w pracy Blicharskiej i in. [2008], którzy wykazali, że rośliny uprawiane w normalnych warunkach zawierają śladowe ilości ołowiu, rzadko kilka lub kilkanaście mg/kg.

Według Kabaty-Pendias i Pendias [1984] zawartość ołowiu powyżej 30 ppm/kg jest szkodliwa dla roślin. W wielu przypadkach jony ołowiu zakłócają pobieranie innych pierwiastków, takich jak: K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} i Fe^{3+} . Zawartość wybranych pierwiastków biogennych: Mg, Zn, Mn, K i Ca w siewkach linii wsobnych żyta była kilkakrotnie wyższa w kombinacjach z ołowiem niż w kontroli (rys. 1 B – F). W zależności od dawki jonów ołowiu wystąpiły różnice w kumulowaniu tych pierwiastków w siewkach. Obserwowano największą zawartość cynku we wszystkich liniach w kombinacji z ołowiem w stężeniu $Pb10^{-4}/36$ godz. i wynosiła ona 213,4 mg/kg s.m. (L310) do 524 mg/kg s.m. (L29). W linii L310 odnotowano niewielką różnicę w ilości tego pierwiastka w obu stężeniach ołowiu (nieco niższa zawartość w stężeniu $Pb10^{-6}/36$ godz.). Podobną dodatnią zależność pomiędzy zawartością ołowiu i cynku w suchej masie *Rosmarinus officinalis* obserwowali El-Rjob i in. [2007]. Wykazali oni, że wraz ze wzrostem zawartości ołowiu zwiększała się ilość cynku. W kontroli zawartość cynku kształtowała się na poziomie kilku mg/kg s.m. Obserwowano podobną zawartość manganu we wszystkich trzech kombinacjach linii L4 i linii L310. Linie L29 charakteryzowała dwukrotnie większa zawartość manganu w siewkach traktowanych jonami ołowiu. Linie L154 i M353 natomiast najwięcej kationów tego pierwiastka zawierały w stężeniu $Pb10^{-4}/36$ godz. (odpowiednio – 69,7 mg/kg s.m. i 104,6 mg/kg s.m.).

Najwięcej wapnia zawierały siewki po traktowaniu ołowiem w kombinacji $Pb10^{-4}/36$ godz.: od 1,6% s.m. – L154 do 3,03% s.m. – M353 (z wyjątkiem linii L4). Różnice w zawartości tego pierwiastka w siewkach linii wsobnych obu kombinacji z ołowiem były nieznaczne w porównaniu do zawartości tego pierwiastka w kontroli (od 0,55% s.m. – L29 do 0,89% s.m. – L310).

Najwyższą zawartość magnezu i potasu w siewkach traktowanych jonami ołowiu obserwowano w niższym stężeniu (wyjątek: L154 – potas i magnez oraz L310 – magnez). Zawartość tych pierwiastków w kombinacji kontrolnej natomiast była kilkakrotnie niższa niż po traktowaniu jonami ołowiu.



Rys. 1. Zawartość ołowiu (A), cynku (B), manganu (C), wapnia (D), magnezu (E) i potasu (F) w suchej masie słewek linii wsobnych żyta ozimego Fig. 1. The content of lead (A), zinc (B), manganese (C), calcium (D), magnesium (E) and potassium (F) in dry weight the seedlings inbred lines of winter rye

Dostępność pierwiastków biogennych i ołowiu w pożywce prawdopodobnie prowadziła do nadmiernego ich pobierania przez siewki. Dość krótki okres wzrostu roślin (21 dni) nie pozwolił roślinom na wydalanie pierwiastków biogennych bądź ich wykorzystanie. Kationy Ca i Mg i w mniejszym stopniu K⁺, Na⁺, Rb⁺ i Cs⁺ [Medvedev 2005] są transportowane nie-selektywnymi kanałami wapniowymi i tą drogą może być również przenoszony ołów [Tom-sing i Suzkvi 1991].

Na ogół rośliny są bardziej odporne na nadmierne stężenie niż na deficyt biopierwiastków. Tolerancja roślin na obecność wysokich stężeń metali polega na wydalaniu nadmiernej ilości, wiązaniu ich w ścianach komórkowych bądź z kwasami organicznymi, jak również na kompleksowaniu z fitochelatorami i tym sposobem ich unieczynnianiu.

Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że badane linie wsobne żyta o odmiennych genotypach różnią się wrażliwością na działanie jonów ołowiu i gromadzeniem badanych pierwiastków w siewkach. Znajduje to potwierdzenie w doniesieniach Koza-neckiej [2002] i Krawczyka [2004], w których autorzy stwierdzają, że rośliny rosnące w tym samym siedlisku zróżnicowanie reagują na działanie metali ciężkich.

PIŚMIENNICTWO

- BLICHARSKA E., KOCJAN R., ŚWIEBODA R. 2008. Oznaczenie żelaza, niklu, kadmu i ołowiu w niektórych roślinach zielarskich. *Bromat. Chem. Toksykol.* XLI, 2: 105–110.
- EL-RJOOB A.-W. O., MASSADEH A.M., OMARI M.N. 2007. Evaluation of Pb, Cu, Zn, Cd, Ni and Fe levels in *Rosmarinum officinalis labiatae* (Rosemary) medicinal plant and soils in selected zones in Jordan. *Environ. Monit. Asses.*, DOI 10.1007/s10661-007-9847-3.
- ISLAM E., LIU D., LI T., YANG X., JIN X., MAHMOOD Q., TIAN S., LI J. 2008. Effect of Pb toxicity on leaf growth, physiology and ultrastructure in two ecotypes of *Eisholtzia argyi*, *Journal of Hazardous Materials* 154: 914–926.
- KABATA-PENDIAS A., PENDIAS H. 1984. Trace elements in soil and plants. CRC Press INC., Boca Raton, FL.
- KOZANECKA T., CHOJNICKI J., KWASOWSKI W. 2002. *Polish Journal of Environmental Studies* 11 (4): 395–399.
- KRAWCZYK J., LETACHOWICZ B., KLINK A., KRAWCZYK A. 2004. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 501: 227–234.
- MEDVEDEV S.S. 2004. Calcium signaling system in plants. *Russian Journal of Plant Physiology* 52: 249–270.
- REDDY A.M., KUMAR S.G., JYONTHSNAKUMARI G., THIMMANAIK S., SUDHAKAR C. 2005. Lead induced changes in antioxidant metabolism of horsegram (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc.) and bengalgram (*Cicer arietinum* L.). *Chemosphere* 60: 97–104.
- SINGH R.P., TRIPATHI R.D., SINHA S.K., MASESHWARI R., SRIVASTAVA H.S. 1997. Response of higher plants to lead contaminated environment. *Chemosphere* 34: 2467–2493.

- TOMSING J.L., SUSZKIW J.B. 1991. Permeation of Pb^{2+} through calcium channels: furo-2 measurements of voltage and dihydropitidine sensitive Pb^{2+} entry in isolated bovine chromaffin cells. *Biochem. Biophys. Acta* 1069: 197–200.
- WOŻNY A., KRZESŁOWSKA M. 1993. Reakcja komórki roślinnej na ołów. *Acta Soc. Bot. Pol.* 62: 101–105.
- XIONG Z-T. 1997. Bioaccumulation and physiological effects of excess lead in a roadside pioneer species *Sonchus oleraceus* L. *Environmental Pollution* 97: 275–279.