

Helena Kubicka*, Natalia Jaroń*

**DZIAŁANIE JONÓW MIEDZI NA WZROST SIEWEK LINII WSOBNYCH
ŻYTA (*SECALE CEREALE* L.)**

**THE ACTION OF COPPER IONS ON THE GROWTH OF INBRED LINES
OF RYE SEEDLINGS (*SECALE CEREALE* L.)**

Słowa kluczowe: jony miedzi, kwas askorbinowy, linie wsobne, żyto.

Key words: ascorbic acid, copper ions, inbred lines, rye.

*Copper is a basic biogenic element which plays a part in many biochemical reactions in plant cells. However, its excess has a negative influence on the growth and development of plants. For this reason this research verified if the genetic variation of the following inbred lines (CH7, L230, M353, L29, L154 i L176) of winter rye (*Secale cereale* L.) vary in sensitivity to copper ions concentration levels.*

In this research, control was based on the Hoagland nutrient. Varying concentration levels of copper ions: (10^{-3} M and 10^{-2} M) were combined with this nutrient. An additional combination enriched with ascorbic acid (10 ppm) was also added to the nutrient and copper ions concentration of 10^{-2} M.

It was shown that the concentration of copper ions at 10^{-3} M decreased the growth of seedlings of inbred lines by a small degree. However, a significant reduction of the length of shoots, roots and their number was observed in the inbred lines' seedlings after treatment with copper ions concentration at 10^{-2} M. In both concentration levels of copper ions the strongest influence was observed in the smaller length of shoots. The rye inbred lines reacted in different ways to the presence of copper ions in the nutrient. In the case of lines (L176 and L29) vitamin C combined with copper ions concentration at 10^{-2} M caused less of a negative influence which was observed by way of a higher growth of seedlings in comparison with combinations without ascorbic acid.

* Dr hab. inż. prof. nadzw. **Helena Kubicka**, mgr **Natalia Jaroń** – **Polska Akademia Nauk Ogród Botaniczny, Centrum Zachowania Różnorodności Biologicznej w Powsinie, ul. Prawdziwka 2, 02-973 Warszawa; tel.: 22 648 38 56; e-mail: helenakubicka@wp.pl**

1. WPROWADZENIE

Niekorzystne czynniki środowiska są dla rośliny sygnałem, indukującym w niej różne zmiany biochemiczne, takie jak wzmożona produkcja osmoregulatorów czy innych substancji wytwarzanych podczas działania stresu. Prowadzi to do zakłócenia funkcji metabolicznych i transportowych w komórkach roślinnych, a w konsekwencji do utraty homeostazy komórkowej [Wójcik i Turkendorf 1995].

Spośród substancji mających negatywny wpływ na środowisko coraz większe zainteresowanie budzą metale ciężkie, których źródłem są, m.in., nawozy mineralne czy środki ochrony roślin [Gruca-Królikowska i Waclawek 2006]. Jednym z nich jest miedź, która jest pierwiastkiem biogennym, pobieranym przez rośliny w śladowych ilościach. W roślinach pierwiastek ten aktywuje wiele enzymów, między innymi jest składnikiem oksydazy katecholowej, p-dwufenolowej, askorbinowej, dysmutazy nadtlenkowej, plastocyaniny i flawoproteidów miedziowych [Szatanik-Kloc i in. 2010]. Ponadto uczestniczy w wielu procesach życiowych, takich jak: fotosynteza, oddychanie, powstawanie białek, przemiana związków azotowych i węglowodanów. Bierze również udział w metabolizmie błon komórkowych, wpływa na ich przepuszczalność, a tym samym na gospodarkę wodną. Reguluje procesy syntezy DNA i RNA, wpływa więc na reprodukcję nasion [Koniecznyński i Wesołowski 2008].

Według Maksymiec [1997] oraz Grucy-Królikowskiej i Waclawek [2006] częściej obserwuje się skutki niedoboru miedzi w glebie niż jej nadmiaru. Niedostatek miedzi ujawnia się chlorozami liści, u zbóż tzw. „chorobą nowin”, brakiem jędrności pędów i liści, co nadaje roślinie przywiędły wygląd, jak również opóźnieniem lub zahamowaniem kwitnienia. W przypadku niedoboru tego pierwiastka objawy ustępują po dostarczeniu go roślinom, trudniej natomiast jest wyeliminować przyczyny nadmiaru jonów miedzi w podłożu, gdyż jest to proces dłuższy.

Według wielu badaczy [Michaud i in. 2008, Swędrzyńska i Sawicka 2010] miedź jest pierwiastkiem niezbędnym w życiu organizmów, a zarazem silnie toksycznym, jeżeli występuje w środowisku w nadmiarze. Toksyczne oddziaływanie miedzi dotyczy zarówno roślin, jak i mikroorganizmów glebowych, powodując zahamowanie ich wzrostu i rozwoju. Szatanik-Kloc i in. [2010] uważają, że główną przyczyną obumierania roślin w obecności fitotoksycznych stężeń Cu^{2+} jest zmniejszona zawartość innych mikro- i makroelementów i związane z tym zmiany w procesie metabolizmu roślin żyta odmiany Rostockie.

Celem pracy było sprawdzenie, czy zwiększona zawartość jonów miedzi w pożywce wpływa na wzrost siewek zróżnicowanych genetycznie linii wsobnych żyta oraz czy zastosowany kwas askorbinowy może przyczynić się do zmniejszenia tego stresu.

2. MATERIAŁ I METODY

Do doświadczenia wybrano 6 zróżnicowanych genetycznie linii wsobnych (CH7, L230, M353, L29, L154, L176) żyta ozimego (*Secale cereale* L.) pokolenia S_{25} [Kubicka

i in. 2006]. Czterodniowe siewki żyta umieszczono na pożywce Hoaglanda z dodatkiem jonów miedzi (w formie CuSO_4) w stężeniach: 0 (kontrola), 10^{-3}M , 10^{-2}M oraz kombinacja 10^{-2}M Cu wzbogacona kwasem askorbinowym w stężeniu 10 ppm. Pomiar długości części podziemnych i nadziemnych roślin wykonano na dziesięciodniowych oraz czternastodniowych siewkach. Stopień wzrostu siewek oceniano na podstawie długości kielków i korzeni oraz ich liczby. Obliczono indeks tolerancyjności, a wartości cech podano w procentach w stosunku do cech roślin kontrolnych wraz z odchyleniami standardowymi:

$$\text{Indeks tolerancyjności} = \frac{\text{wartość cechy po traktowaniu metalem}}{\text{wartość cechy przed traktowaniem metalem}} \times 100 [\%]$$

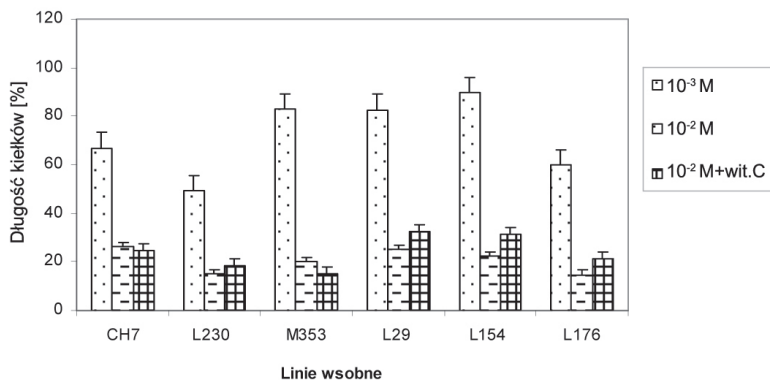
3. WYNIKI I DISKUSJA

W pracy badano wpływ jonów miedzi w stężeniach 10^{-2} i 10^{-3}M na wzrost długości kielków oraz korzeni i ich liczby u siewek sześciu zróżnicowanych genetycznie linii wsobnych żyta po 10 i 14 dniach obserwacji. Dodatkowo zastosowano kombinację z jonami miedzi w stężeniu 10^{-2}M wzbogaconą kwasem askorbinowym.

Części nadziemne linii wsobnych żyta były bardziej wrażliwe na działanie jonów miedzi w obu stężeniach niż organy podziemne. Znaczne zahamowanie wzrostu kielków zaobserwowano na pożywce o stężeniu 10^{-2}M miedzi – wynosiło ono od 74% (Ch7) do 85% (L176) w stosunku do roślin kontrolnych po 10 dniach obserwacji. W kombinacji 10^{-2}M Cu wzbogaconej kwasem askorbinowym większość linii (L154, L29, L176 i L230) charakteryzowała się większym przyrostem części nadziemnych niż w kombinacji bez witaminy C. W kombinacji 10^{-3}M jonów miedzi zmniejszenie wzrostu części nadziemnych siewek linii wsobnych żyta było mniejsze – w granicach od 10% (L154) do 51% (L230). Badane linie wsobne żyta różnie reagowały na traktowanie jonami miedzi (rys. 1).

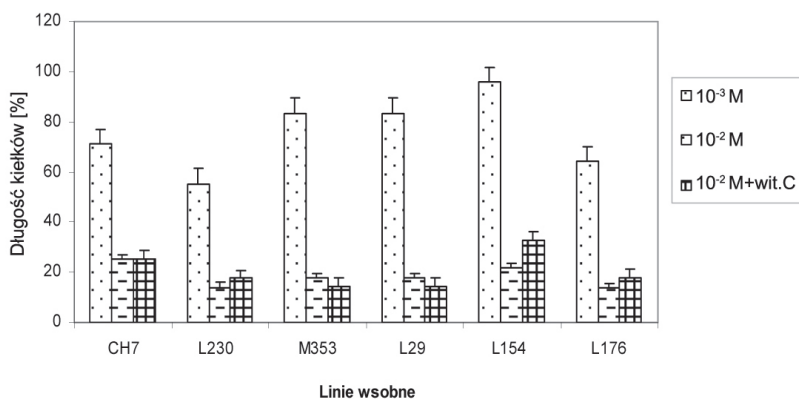
Tolerancja wszystkich linii na działanie jonów miedzi w stężeniu 10^{-2}M była dość mała, co uwidoczniło się wyraźnym zahamowaniem przyrostu kielków 14-dniowych siewek (rys. 2). Największe zmniejszenie długości kielków, wynoszące 86% zaobserwowano u L176, która okazała się najwrażliwsza na działanie jonów tego pierwiastka, najmniejsze zaś, aczkolwiek stosunkowo wysokie, u linii Ch7 – 75%.

Trzy spośród badanych linii żyta (L154, L230 i L176) zareagowały pozytywnie, przyrostem siewek, na dodatek kwasu askorbinowego do roztworu z jonami miedzi w stężeniu 10^{-2}M w obu terminach obserwacji. Niektóre linie wsobne żyta odmiennie reagowały na dodatek kwasu askorbinowego w zależności od terminu obserwacji, np. L29. W przypadku linii M353 dodatek kwasu askorbinowego wzmacniał negatywne działanie jonów miedzi, a tym samym zmniejszał wzrost siewek, niezależnie od długości trwania eksperymentu (rys. 1, 2).



Rys. 1. Długość kielków 10-dniowych siewek linii wsobnych żyta po działaniu jonów miedzi w stosunku do roślin kontrolnych

Fig. 1. The length of shoots seedlings of inbred lines of rye treated with copper in comparison with the control

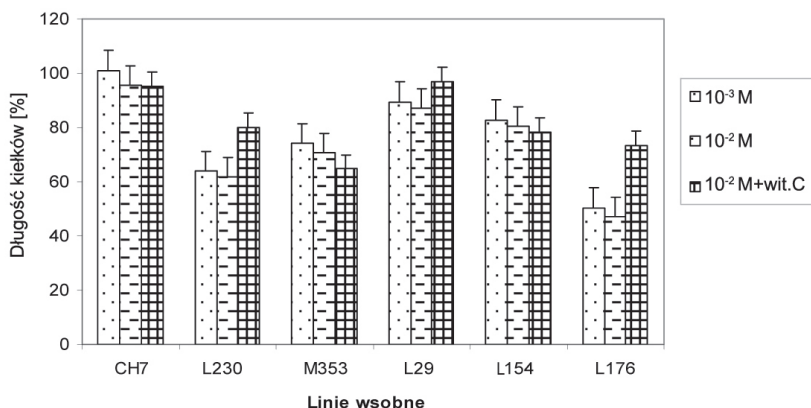


Rys. 2. Długość kielków 14-dniowych siewek linii wsobnych żyta po działaniu jonów miedzi w stosunku do roślin kontrolnych

Fig. 2. The length of shoots seedlings of inbred lines of rye treated with copper in comparison with the control

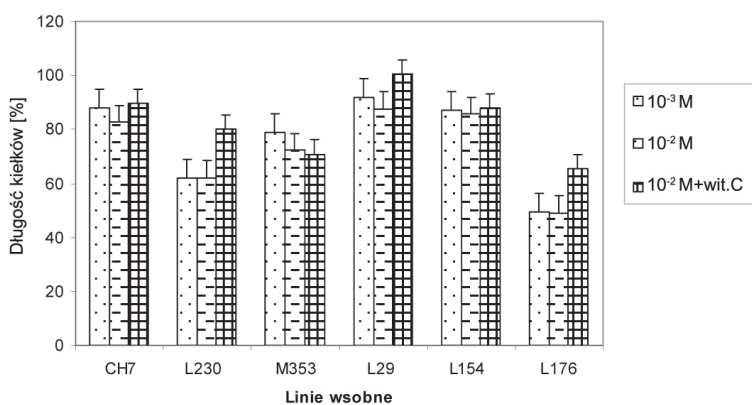
Stężenie jonów miedzi w pożywce w mniejszym stopniu wpływało na zahamowanie wzrostu korzeni aniżeli kielków (rys. 3 i 4). Podobnie jak w przypadku części nadziemnych, największe zmniejszenie przyrostu korzeni odnotowano w kombinacji 10⁻² M Cu – wynosiło ono od 5% (Ch7) do 53% (L176) po 10 dniach i pozostało prawie na takim samym poziomie w drugim terminie obserwacji, w którym, u niektórych linii, przyrost korzeni był nawet większy. W kombinacji z witaminą C obserwowano zmniejszenie stresu, związanego z nadmiarem jonów miedzi w podłożu prawie u wszystkich linii, z wyjątkiem M353. Siewki linii L29 na pożywce z kwasem askorbinowym miały długość korzeni porównywalną z roślinami kon-

trónnymi. Wraz ze wzrostem stężenia jonów miedzi w podłożu obserwowano zahamowanie wzrostu siewek wszystkich linii żyta (rys. 3, 4).



Rys. 3. Długość korzeni 10-dniowych siewek linii wsobnych żyta po działaniu jonów miedzi w stosunku do roślin kontrolnych

Fig. 3. The length of roots in seedlings of inbred lines of rye treated with copper in comparison with the control



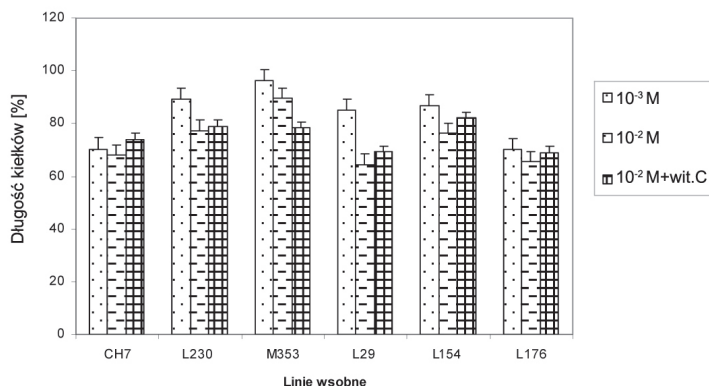
Rys. 4. Długość korzeni 14-dniowych siewek linii wsobnych żyta po działaniu jonów miedzi w stosunku do roślin kontrolnych

Fig. 4. The length of roots in seedlings of inbred lines of rye treated with copper in comparison with the control

Po 10 dniach obserwacji, korzenie siewek linii Ch7 rosnące na pożywce o stężeniu jonów miedzi 10^{-3} M osiągały długość na poziomie roślin kontrolnych. Jony miedzi w tym stężeniu w najmniejszym stopniu wpływały na przyrost korzeni u linii L29 po 14 dniach eksperymentu. Największe zahamowanie wzrostu korzeni zanotowano u linii L176 po 14 dniach.

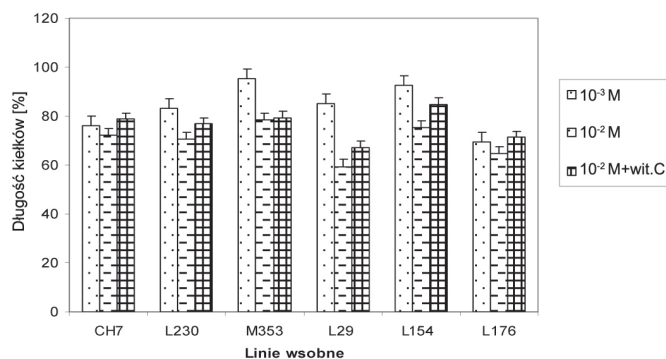
W przypadku korzeni najbardziej tolerancyjne na nadmiar jonów miedzi w podłożu okazały się linie: L29, CH7 i L154 (rys. 3, 4).

Podobnie w mniejszym stopniu jony miedzi wpływały na zmniejszenie liczby korzeni w liniach wsobnych żyta. W przypadku stężenia 10^{-2} M Cu redukcja liczby korzeni wynosiła od 22% – M353 do 41% – L29 po 10 i 14 dniach obserwacji. Najbardziej zbliżona do roślin kontrolnych była liczba korzeni roślin na pożywce o stężeniu Cu 10^{-3} M. Największą liczbą korzeni charakteryzowała się linia M353 po 10 i 14 dniach obserwacji, najmniejszą zaś – L176. Dodatek witaminy C w kombinacji z jonami miedzi zmniejszał negatywne działanie tego pierwiastka u większości linii, np. L154 i CH7 odznaczały się wyraźnie zwiększoną liczbą korzeni w obu terminach obserwacji (rys. 5, 6).



Rys. 5. Liczba korzeni 10-dniowych siewek linii wsobnych żyta po działaniu jonów miedzi w stosunku do roślin kontrolnych

Fig. 5. The number of roots in seedlings of inbred lines of rye treated with copper in comparison with the control



Rys. 6. Liczba korzeni 14-dniowych siewek linii wsobnych żyta po działaniu jonów miedzi w stosunku do roślin kontrolnych

Fig. 6. The number of roots in seedlings of inbred lines of rye treated with copper in comparison with the control

Linie najbardziej tolerancyjne na zwiększoną zawartość jonów miedzi (w stężeniu 10^{-3}M) w podłożu, u których zmniejszenie długości kielków i korzeni wynosiło mniej niż 20%, to L29 i L154. Najwrażliwsze na działanie nadmiaru tego pierwiastka były linie L176 i L230.

O szkodliwym wpływie nadmiaru jonów miedzi w pożywce na wzrost i rozwój odmian pszenicy donoszą Michaud i in. [2008]. Symptomy fitotoksycznego działania jonów miedzi ujawniały się gdy stężenie było większe niż $1\ \mu\text{M}$, między innymi widocznymi chlorozami i redukcją wzrostu, szczególnie korzeni. Podobne wyniki uzyskano w niniejszej pracy. Nadmiar jonów miedzi w pożywce wpływał negatywnie na przyrost siewek linii wsobnych żyta, jednak w większym stopniu hamował on wzrost części nadziemnych, aniżeli korzeni. Pomimo, że pierwiastek ten jest niezbędny do prawidłowego wzrostu i rozwoju roślin, ponieważ uczestniczy w bardzo ważnych procesach życiowych, jego nadmiar jest dla roślin toksyczny. Według Szatanik-Kloc i in. [2010] w warunkach koncentracji tego pierwiastka następuje kumulowane jonów miedzi w chloroplastach, co powoduje zakłócenia w procesie oddychania, syntezie barwników fotosyntetycznych i aktywności enzymów.

Reakcja zróżnicowanych genetycznie linii wsobnych żyta na działanie jonów miedzi była odmienna. Jest to zgodne z wynikami badań Ozturk i in. [2003] oraz Tiryakioglu i in. [2006], którzy stwierdzili różną wrażliwość odmian pszenicy i jęczmienia na traktowanie jonami metali ciężkich w zależności od ich genotypu.

Badane linie wsobne żyta różnie reagowały także na zastosowanie antyutleniacza (kwas askorbinowy) w obecności jonów miedzi. Zaobserwowano zmniejszenie stresu spowodowanego nadmiarem jonów miedzi w podłożu prawie u wszystkich linii, co uwidoczniło się większym przyrostem siewek w tej kombinacji. Pozytywny wpływ kwasu askorbinowego na zmniejszenie stresu kadmowego obserwowali także Ozturk i in. [2003] u odmian pszenicy oraz Kubicka i in. [2009] u linii żyta.

Do prawidłowego wzrostu i rozwoju roślin potrzebna jest optymalna i zrównoważona zawartość mikro- i makroelementów, gdyż zarówno ich niedobór w podłożu, jak i nadmiar jest szkodliwy.

4. WNIOSKI

1. Stężenie jonów miedzi 10^{-3}M powodowało nieznaczną redukcję wzrostu linii wsobnych żyta, aczkolwiek i w tym przypadku odnotowano zróżnicowaną reakcję roślin na obecność tego pierwiastka w podłożu.
2. Wraz ze zwiększaniem stężenia jonów miedzi w pożywce obserwowano większe obniżenie przyrostu siewek linii żyta, zwłaszcza części nadziemnych.
3. Kwas askorbinowy zastosowany w kombinacji z jonami miedzi wpływał na zmniejszenie stresu spowodowanego działaniem tego pierwiastka u prawie wszystkich linii.

PIŚMIENNICTWO

- GRUCA-KRÓLIKOWSKA S., Waclawek W. 2006. Metale w środowisku. Cz. II. Wpływ metali ciężkich na rośliny. *Chemia, Dydaktyka, Ekologia, Meteorologia* 11(1-1): 41–56.
- KONIECZYŃSKI P., WESOŁOWSKI M. 2008. Ocena zawartości manganu i miedzi w liściach wybranych roślin leczniczych i otrzymanych z nich ekstraktach wodnych. *Bromat. Chem. Toksykol.* XLI (3): 338–342.
- KUBICKA H., PUCHALSKI J., NIEDZIELSKI M., ŁUCZAK W., MARTYNISZYN A. 2006. Gromadzenie i ocena zasobów genowych żyta. *Biul. IHAR* 240/241: 141–149.
- KUBICKA H., PYZA A., WOLSKA-SOBCZAK A. 2009. Activity of chosen organic acids on the growth of rye seedlings treated with cadmium or lead ions. *Ecol. Chem. and Engineering* 16(7): 803–807.
- MAKSYMIEC W. 1997. Effect of copper on cellular processes in higher plants. *Phytosynt.* 34(3): 321–342.
- MICHAUD A. M., CHAPPELLAZ C., HINSINGER P. 2008. Copper phototoxicity affects Root elongation and iron nutrition In durum wheat (*Triticum turgidum durum* L.). *Plant, Soil* 310: 151–165.
- OZTURUK L., EKER S., OZKUTLU F. 2003. Effect of cadmium on growth and concentrations of cadmium, ascorbic acid and sulphhydryl groups in durum wheat cultivars. *Turk. J. Agric. For.* 27: 161–168.
- SZATNIK-KLOC A., Sokołowska Z., Hajnos M., Alekseeva T., Alekseev A. 2010. Wpływ pH oraz jonów Cu^{+2} i Zn^{+2} na zawartość wapnia w życie (*Secale cereale* L.). *Acta Agrophysica* 15(1): 177–185.
- SWĘDRZYŃSKA D., SAWICKA A. 2010. Wpływ miedzi na bakterie z rodzaju *Azospirillum* występujące w ryzosferze siewek kukurydzy i pszenicy. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie* t. 10, z. 2: 167–178.
- TIRYAKIOGLU M., EKER S., OZKUTLU F., HUSTED S., CAKMAK I. 2006. Antioxidant defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 20: 181–189.
- WÓJCIK A., TURKENDORF A. 1995. Strategia unikania stresu w odporności roślin na metale ciężkie. *Wiadomości Botaniczne* 39(3/4): 33–40.