

## WZAJEMNE ZALEŻNOŚCI POMIĘDZY WPŁYWEM WAPNIA I KADMU NA INDUKOWANY PRZEZ IAA WZROST ELONGACYJNY SEGMENTÓW KOLEOPTYLI KUKURYDZY

*Renata Kurtyka, Eugeniusz Małkowski, Monika Sowa*

Katedra Fizjologii Roślin, Uniwersytet Śląski w Katowicach

### Wstęp

Na udział wapnia w procesie wzrostu elongacyjnego komórek roślinnych zwrócono uwagę już w połowie lat 70-tych [COHEN, NADLER 1976; CLELAND, RAYLE 1977]. W późniejszych pracach wykazano między innymi, że chelatory wapnia oraz inhibitory kanałów wapniowych hamowały stymulowany auksyną wzrost wydłużeniowy segmentów hipokotyli u wielu gatunków roślin [CUNNINGHAME, HALL 1986; CHO, HONG 1995]. Wykazano także, że auksyna powoduje zmiany koncentracji jonów  $Ca^{2+}$  w cytozolu, z którymi skorelowane są zmiany jego pH [IRVING i in. 1992; CHO, HONG 1995].

Okazało się również, że wysokie koncentracje wapnia obniżają toksyczne działanie kadmu na wiele procesów fizjologicznych zachodzących zarówno w komórkach roślinnych, jak i zwierzęcych [JEANNE i in. 1993]. Jak się przypuszcza, powodem tego zjawiska jest konkurencja obu jonów o białka wiążące wapń [HINKLE i in. 1987; CLEMENS i in. 1998].

W związku z powyższym wydało się uzasadnionym podjęcie badań mających na celu wyjaśnienie, czy wapń zmienia hamujące działanie kadmu [KURTYKA i in. 1994] na indukowany przez kwas indolilo-3-octowy (auksyna – IAA) wzrost segmentów koleoptyli kukurydzy.

### Materiał i metody

#### Materiał roślinny

Badania przeprowadzono na 10 mm segmentach koleoptyli kukurydzy (*Zea mays* L.) odmiany Koka, pochodzącej ze Stacji Hodowli Roślin w Kobierzycach. Przed wysianiem nasiona kukurydzy moczone przez 2 godziny w wodzie wodociągowej, a następnie wysiewano do plastikowych kuwet na podłoże z waty celulozowej. Kulturę prowadzono w ciemności w temperaturze 27°C przez 96 godzin. Segmenty koleoptyli wycinano 3 mm poniżej wierzchołka, a następnie usuwano z nich pierwszy liść.

## Metodyka

Wzrost elongacyjny oraz synchronicznie mierzone z nim zmiany pH środowiska inkubacyjnego segmentów koleoptyli kukurydzy wyznaczano zgodnie z metodyką opisaną wcześniej przez KARCZA i in. [1990, 1995]. Stosowano dwa stężenia  $\text{CaCl}_2$ :  $0,1 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $1 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Preinkubację (2 godz.) oraz inkubację (5 godz.) segmentów koleoptyli kukurydzy prowadzono w roztworach o następującym składzie:

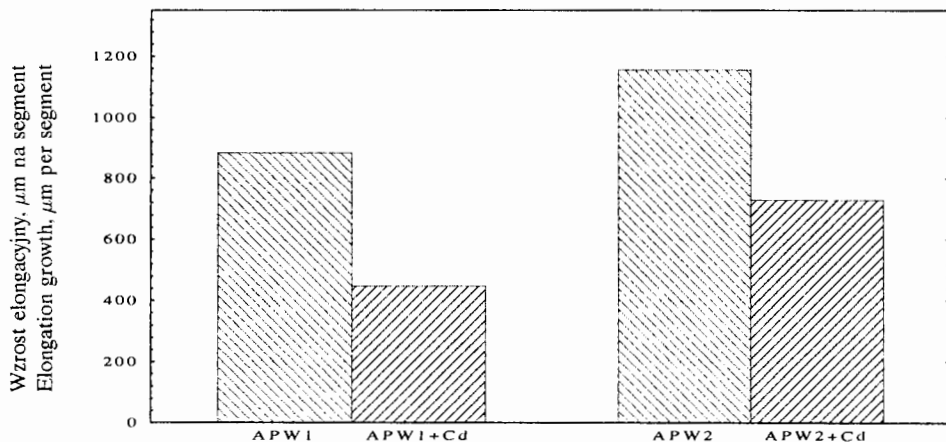
- $1 \text{ mmol}(\text{KCl})\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $0,1 \text{ mmol}(\text{NaCl})\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $0,1 \text{ mmol}(\text{CaCl}_2)\cdot\text{dm}^{-3}$  – APW 1,
- $1 \text{ mmol}(\text{KCl})\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $0,1 \text{ mmol}(\text{NaCl})\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $1 \text{ mmol}(\text{CaCl}_2)\cdot\text{dm}^{-3}$  – APW 2.

IAA oraz  $\text{CdCl}_2$  wprowadzono do środowiska (po 2 godzinach preinkubacji) w takich ilościach, aby ich końcowe stężenia w środowisku inkubacyjnym segmentów koleoptyli kukurydzy wynosiły odpowiednio  $0,01 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$  oraz  $0,1 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ .

Dane zamieszczone na rysunkach przedstawiają wzrost elongacyjny segmentów koleoptyli ( $\mu\text{m}$  na segment) i zmiany pH ich środowiska (zakwaszanie wyrażono jako  $-\Delta\text{pH}$ ) zmierzone po upływie siedmiu godzin eksperymentu.

## Wyniki i dyskusja

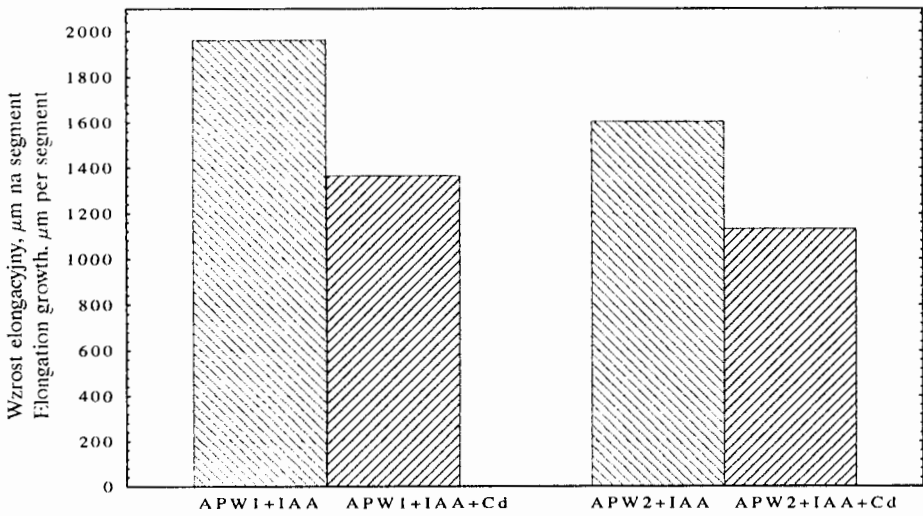
Jak wynika z danych przedstawionych na rys. 1 kadm w stężeniu  $0,1 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$  hamował o ok. 50% wzrost wydłużeniowy segmentów koleoptyli kukurydzy w roztworze APW 1. Wprowadzenie do środowiska inkubacyjnego jonów wapnia w stężeniu  $1 \text{ mmol}(\text{CaCl}_2)\cdot\text{dm}^{-3}$  stymulowało wzrost segmentów oraz nieznacznie obniżało (o ok. 13%) toksyczne działanie kadmu.



- APW 1 -  $1 \text{ mmol}(\text{KCl})\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $0,1 \text{ mmol}(\text{NaCl})\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $0,1 \text{ mmol}(\text{CaCl}_2)\cdot\text{dm}^{-3}$   
 APW 2 -  $1 \text{ mmol}(\text{KCl})\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $0,1 \text{ mmol}(\text{NaCl})\cdot\text{dm}^{-3}$ ,  $1 \text{ mmol}(\text{CaCl}_2)\cdot\text{dm}^{-3}$

Rys. 1. Wpływ kadmu na wzrost elongacyjny segmentów koleoptyli kukurydzy inkubowanych w obecności jonów wapnia. Błąd standardowy (SE) nie przekraczał 6%,  $n = 8$

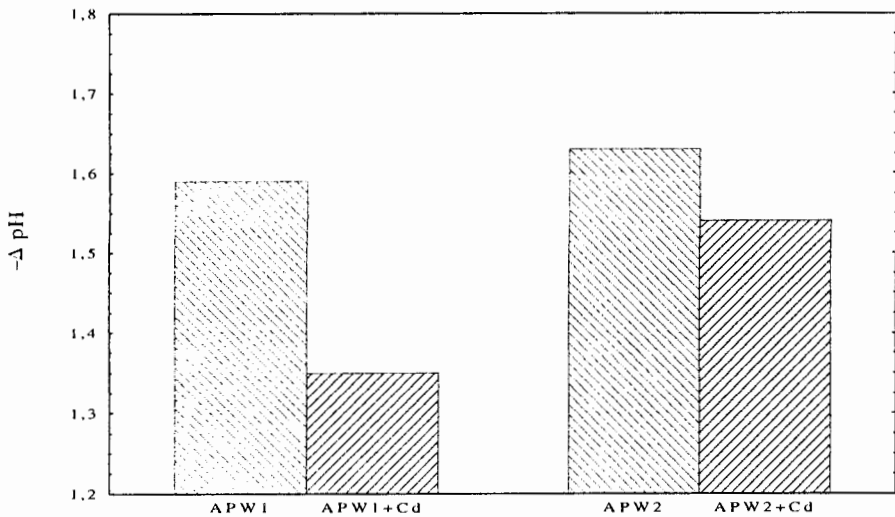
Fig. 1. Effect of cadmium on elongation growth of maize coleoptile segments incubated in presence of calcium ions. Standard error (SE) did not exceed 6%.  $n = 8$



APW1, APW2 – oznaczenia jak w rys. 1; explanations see Fig. 1  
IAA – kwas indolilo-3-octowy; indole-3-acetic acid

Rys. 2. Wpływ kadmu na indukowany przez IAA wzrost elongacyjny segmentów koleoptyli kukurydzy inkubowanych w obecności jonów wapnia

Fig. 2. Effect of cadmium on IAA-induced elongation growth of maize coleoptile segments incubated in presence of calcium ions



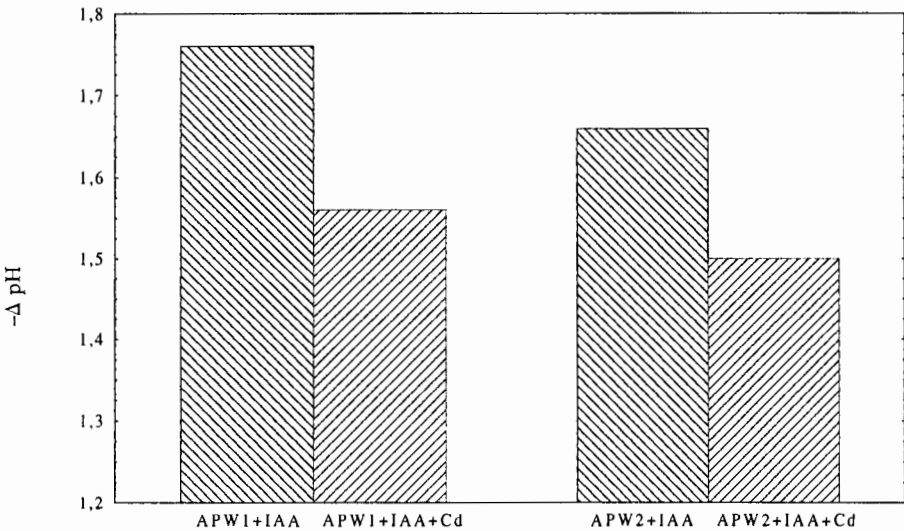
APW1, APW2, IAA – oznaczenia jak w rys. 1 i 2; explanations see Fig. 1 and 2

Rys. 3. Wpływ kadmu na zmiany pH środowiska inkubacyjnego segmentów koleoptyli kukurydzy inkubowanych w obecności jonów wapnia. Błąd standardowy (SE) nie przekraczał 1%, n = 6

Fig. 3. Effect of cadmium on medium pH changes of maize coleoptile segments incubated in presence of calcium ions. Standard error (SE) did not exceed 1%, n = 6

Wprowadzenie do środowiska inkubacyjnego auksyny (rys. 2) stymulowało wzrost elongacyjny segmentów koleoptyli kukurydzy, przy czym stymulacja ta była większa w przypadku zastosowania niższego stężenia wapnia ( $0,1 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ). Hamowanie wzrostu elongacyjnego indukowanego auksyną pod wpływem zwiększonego stężenia egzogenego wapnia w segmentach hipokotyli słonecznika oraz w segmentach hipokotyli soi obserwowali również KUBOWICZ [1992] oraz CHO i HONG [1996]. Kadm w stężeniu  $0,1 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$  hamował o 30% indukowany przez IAA wzrost elongacyjny segmentów koleoptyli kukurydzy, przy czym zastosowanie wyższego stężenia jonów wapnia ( $1 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) nie obniżało toksycznego działania tego metalu (rys. 2).

Synchroniczne pomiary wzrostu elongacyjnego oraz pH środowiska inkubacyjnego segmentów koleoptyli kukurydzy wykazały, że podanie IAA do środowiska inkubacyjnego powodowało obniżenie jego pH w stosunku do kontroli – APW1 lub APW2 (rys. 3, rys. 4). Jony kadmu zmniejszyły zakwaszenie środowiska inkubacyjnego we wszystkich badanych wariantach (rys. 3, rys. 4).



APW1, APW2, IAA – oznaczenia jak w rys. 1 i 2; explanations see Fig. 1 and 2

Rys. 4. Wpływ kadmu na indukowane przez IAA zmiany pH środowiska segmentów koleoptyli kukurydzy inkubowanych w obecności  $\text{Ca}^{2+}$ . Błąd standardowy (SE) nie przekraczał 1,2%,  $n = 6$

Fig. 4. Effect of cadmium on IAA-induced medium pH changes of maize coleoptile segments incubated in presence of  $\text{Ca}^{2+}$ . Standard error (SE) did not exceed 1.2%,  $n = 6$

Wydaje się uzasadnionym sądzić, że wapń w koncentracji  $1 \text{ mmol}(\text{CaCl}_2)\cdot\text{dm}^{-3}$  nie obniżał toksycznego działania kadmu w obecności auksyny. Celowym staje się więc podjęcie dalszych badań, w których będą użyte wyższe koncentracje wapnia.

## Wnioski

1. Kadm w stężeniu  $0,1 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$  hamuje wzrost elongacyjny segmentów koleoptyli kukurydzy.

2. Jony wapnia w stężeniu  $1 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$  obniżają toksyczne działanie jonów kadmu ( $0,1 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) na wzrost elongacyjny segmentów koleoptyli kukurydzy.
3. Auksyna ( $0,01 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) stymuluje wzrost elongacyjny segmentów koleoptyli kukurydzy oraz częściowo znosi toksyczny efekt działania kadmu.
4. Jony wapnia ( $1 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) nie obniżają toksycznego działania kadmu na indukowany przez IAA wzrost segmentów koleoptyli kukurydzy.

#### Podziękowanie

Autorzy dziękują Panu dr hab. Waldemarowi Karczowi, prof. UŚ za cenne uwagi.

#### Literatura

- CHIO H.-T., HONG Y.-N. 1995. *Effect of IAA on synthesis and activity of the plasma membrane  $H^+$ -ATPase of sunflower hypocotyls, in relation to IAA-induced cell elongation and  $H^+$ -excretion.* J. Plant Physiol. 145: 717–725.
- CHIO H.-T., HONG Y.-N. 1996. *Effect of calcium channel blockers on the IAA-induced cell elongation of sunflower hypocotyl segments.* J. Plant Physiol. 149: 377–383.
- CLELAND R.E., RAYLE D.J. 1977. *Reevaluation of the effect of calcium ions on auxin-induced elongation.* Plant Physiol. 60: 709–712.
- CLEMENS S., ANTOSIEWICZ D.M., WARD J.M., SCHACHTMAN D.P., SCHROEDER J.I. 1998. *The plant cDNA LCT1 mediates the uptake of calcium and cadmium in yeast.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95: 12043–12048.
- COHEN J.D., NADLER K.D. 1976. *Calcium requirement for IAA-induced acidification by Avena coleoptiles.* Plant Physiol. 57: 347–350.
- CUNNINGHAME M.E., HALL J.L. 1986. *The effect of calcium antagonists and inhibitors of secretory processes on auxin-elongation and fine structure of Pisum sativum stem segments.* Protoplasma 133: 149–155.
- HINKLE P.M., KINSELLA P.A., OSTERHOUDT C. 1987. *Cadmium uptake and toxicity via voltage-sensitive calcium channels.* J. Biol. Chem. 262: 16333–16337.
- IRVING H.R., GEIRING C.A., PARISH R.W. 1992. *Changes in cytosolic pH and calcium of guard cells precede stomatal movements.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 1790–1794.
- JEANNE N., DAZY A.C., MOREAU A. 1993. *Cadmium interactions with ATPase activity in the euryhaline alga Dunaliella bioculata.* Hydrobiologia 252: 245–256.
- KARCZ W., STOLAREK J., LEKACZ H., KURTYKA R., BURDACH Z. 1995. *Comparative investigation of auxin and fusicoccin-induced growth and  $H^+$ -extrusion in coleoptile segments of Zea mays L.* Acta Physiol. Plant. 17: 3–8.
- KARCZ W., STOLAREK J., PIETRUSZKA M., MAŁKOWSKI E. 1990. *The dose-response curves for IAA-induced elongation growth and acidification of the incubation medium of Zea mays coleoptile segments.* Physiol. Plant. 80: 257–261.
- KUBOWICZ D. 1992. *Gospodarka wapniowa i regulacja auksynowa wzrostu wydłużonego odcinków hypokotyli soi.* V Ogólnopolska Konferencja „Mechanizmy regulacji morfogenezy roślin”. Rogów, 15–16 VI 1992: 145.

KURTYKA R., STOLAREK J., KARCZ W. 1994. *Cadmium stress in growth reaction of plant cells*. Biol. Plant. 36 (suppl.): S28.

**Słowa kluczowe:** kadm, wapń, wzrost elongacyjny, kukurydza, auksyna

### Streszczenie

Stwierdzono, że komórki zwierzęce i roślinne mogą pobierać kadm poprzez interakcje z wapniem. Wysokie koncentracje wapnia obniżały toksyczne działanie  $Cd^{2+}$  na różne procesy fizjologiczne. Kurtyka i in. wykazali, że  $Cd^{2+}$  hamuje indukowany auksyną (IAA) wzrost elongacyjny segmentów koleoptyli kukurydzy. Jednakże pozostaje niewyjaśnione do tej pory, czy  $Ca^{2+}$  może obniżyć toksyczne działanie kadmu na indukowany IAA wzrost elongacyjny. W związku z powyższym wydało się celowym określenie zależności pomiędzy koncentracją kadmu i wapnia w środowisku i ich wpływu na indukowany przez IAA wzrost segmentów koleoptyli kukurydzy.

Badania prowadzono na 10 mm segmentach koleoptyli wycinanych z 4-dniowych etiolowanych siewek kukurydzy. Wzrost segmentów koleoptyli kukurydzy mierzono zgodnie z metodyką opisaną wcześniej przez Karczka i in. Stosowano dwa stężenia jonów  $Ca^{2+}$ :  $0,1 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$  i  $1 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ .

Stwierdzono, że wapń w stężeniu  $1 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$  obniża toksyczne działanie kadmu na wzrost elongacyjny segmentów koleoptyli kukurydzy. Podczas gdy wapń podany w tym samym stężeniu w obecności IAA nie znosi toksycznego działania  $Cd^{2+}$  na wzrost segmentów koleoptyli.

### INTERRELATION BETWEEN CALCIUM AND CADMIUM IN THEIR EFFECT ON IAA-INDUCED ELONGATION GROWTH OF MAIZE COLEOPTILE SEGMENTS

*Renata Kurtyka, Eugeniusz Małkowski, Monika Sowa*

Department of Plant Physiology, University of Silesia, Katowice

**Key words:** cadmium, calcium, elongation growth, maize, auxin

### Summary

It has been suggested that cadmium uptake in animal and plant cells could be caused by interaction with calcium. It was also observed that higher calcium concentrations decrease the toxic effect of  $Cd^{2+}$  on different physiological processes. Kurtyka et al. showed that  $Cd^{2+}$  inhibited auxin (IAA) induced elongation growth of maize coleoptile sections. However, whether  $Ca^{2+}$  could decrease the toxic effect of cadmium on IAA-induced elongation growth remains unknown. To address this issue we investigated interrelation between calcium and cadmium in their effect on IAA-induced elongation growth.

The experiments were carried out with 10 mm-long coleoptile segments cut from 4-day-old etiolated maize seedlings. The growth of coleoptile segments was

measured in an agreement with methods described by Karcz et al. Two concentrations of  $\text{CaCl}_2$  ( $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$  and  $1 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) and  $0.1 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$   $\text{CdCl}_2$  were used.

It was found that calcium at concentration of  $1 \text{ mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$  alleviates the toxic effect of cadmium on elongation growth of maize coleoptile sections. However, application of this calcium concentration in the presence of IAA did not diminish toxic action of  $\text{Cd}^{2+}$  on growth of coleoptile sections.

Dr Renata **Kurtyka**  
Katedra Fizjologii Roślin  
Uniwersytet Śląski  
ul. Jagiellońska 28  
40-032 KATOWICE  
e-mail: rkurtyka@us.edu.pl