

PLAZMOLEMA KOMÓREK KORZENI MOŻE DECYDOWAĆ O RÓŻNEJ WRAŻLIWOŚCI SIEWEK OGÓRKA (*Cucumis sativus* L.) I KUKURYDZY (*Zea mays* L.) NA MIEDŹ

Marek Burzyński, Ewa Kolano

Zakład Fizjologii Roślin, Instytut Botaniki, Uniwersytet Wrocławski, Wrocław

Wstęp

Miedź, mimo że jest niezbędnym pierwiastkiem, istotnym w wielu podstawowych procesach metabolicznych komórki, w wyższych koncentracjach jest jednym z bardziej toksycznych metali ciężkich. Miedź łatwo wiąże się z grupami SH białek [DE FILIPPIS 1979], katalizuje syntezę reaktywnych form tlenu wpływając na nadmierną oksydację między innymi lipidów błon komórkowych [SANDMAN, BÖGER 1980]. Uszkodzenie membran komórkowych zmienia ich płynność i właściwości półprzepuszczalne, co w pierwszym etapie wyraża się wypływem z komórek elektrolitów komórkowych, między innymi również jonów potasu [DE VOS et al. 1991; BURZYŃSKI 2001], a w ostateczności przyczynia się do zaburzeń całego metabolizmu komórkowego. Mechanizmy odpornościowe usuwające lub zmniejszające toksyczne działanie nadmiaru Cu, wytwarzane przez rośliny, związane są ze wzrostem aktywności enzymów antyoksydacyjnych takich jak dyzmutaz ponadtlenkowych czy peroksydaz [CHONGPRADITNUM et al. 1992], syntezą „wychwytywaczy” reaktywnych form tlenu takich jak cysteina czy glutation, syntezą dezaktywujących metale ciężkie fitochelatyn czy peptydów podobnych do metalotionein [RAUSER 1995]. Odporność roślin na nadmiar miedzi może również być związana z budową i właściwościami plazmolemy. Celem niniejszej pracy było zbadanie, czy większa odporność siewek kukurydzy na nadmiar Cu w porównaniu do siewek ogórka wynika z różnych właściwości plazmolemy obu tych roślin.

Metodyka badań

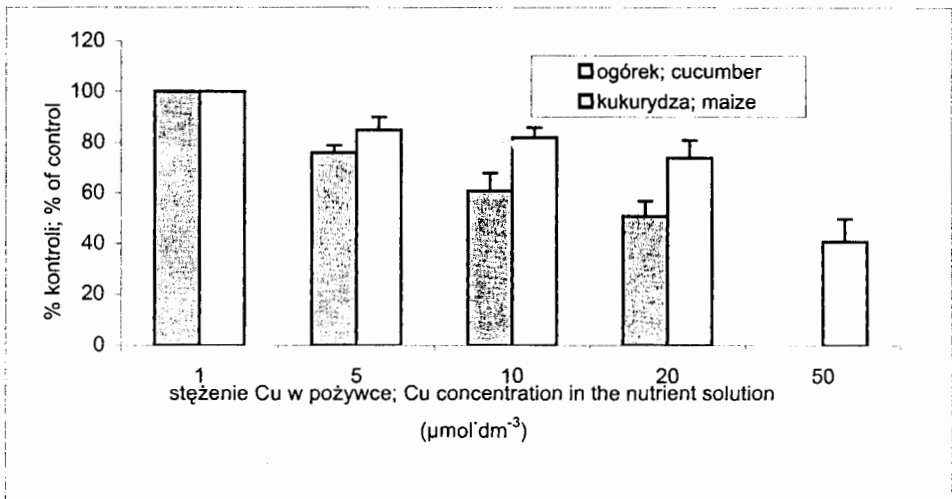
Siewki ogórka i kukurydzy hodowano na wodnych pożywkach, jak opisano we wcześniejszej pracy [BURZYŃSKI 2001]. Do pożywki dodawano miedź jako chlorek miedziowy w stężeniach, jak podano na wykresach. Różną odporność obu roślin, wyrażającą się miarą przyrostu świeżej masy, wykazano w doświadczeniach 15-dniowych, wpływ Cu na aktywność H⁺-ATPazy mierzono po 18-godzinym traktowaniu roślin Cu. Aktywność reduktazy azotanowej i wpływ potasu mierzono po jednogodzinnym traktowaniu roślin miedzią. Akumulację Cu w roślinach (po mineralizacji tkanek) i wpływ K⁺ (bepośrednio w roztworze) mierzono

spektrofotometrem absorpcji atomowej (Perkin-Elmer model 3300). Aktywność reduktazy azotanowej mierzono według HAGEMANA i FLESHERA [1960]. Czystą frakcję pęcherzyków plazmolemy uzyskiwano według KŁOBUS [1995]. Transport protonów do pęcherzyków mierzono metodą opartą na zmianie absorbancji oranżu akrydyny. Hydrolityczną aktywność ATPazy oznaczano metodą opisaną przez GALLAGHERA i LEONARDA [1982].

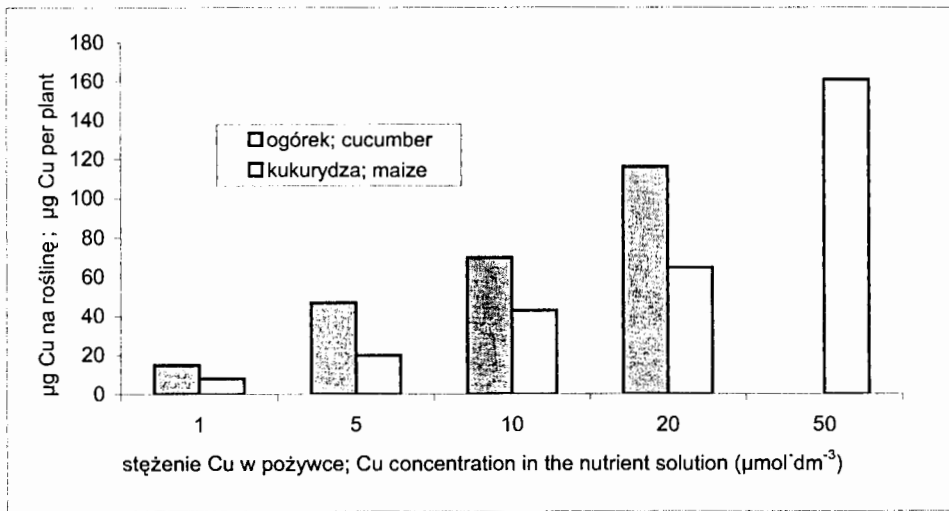
Przedstawione wyniki są reprezentacyjne dla 5–7 niezależnych doświadczeń.

Wyniki i dyskusja

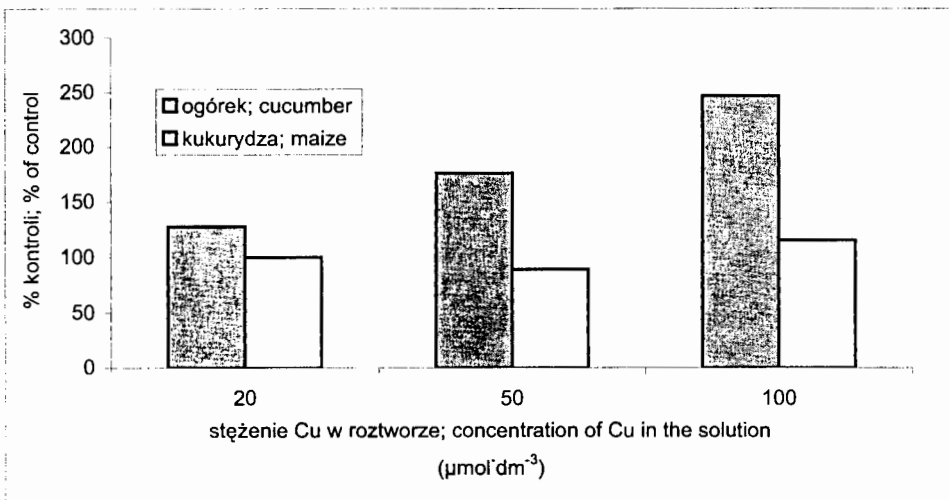
15-dniowy wzrost roślin na pożywce z dodatkiem różnych stężeń Cu wykazał, że kukurydza dużo lepiej znosi toksyczne działanie miedzi od ogórka. Miedź w stężeniu $50 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ okazała się letalna dla ogórka, choć świeża masa kukurydzy przy tym stężeniu stanowiła jedynie 40% świeżej masy roślin kontrolnych (rys. 1). Jednocześnie ogórek w porównaniu do kukurydzy akumulował znacznie większe ilości Cu (rys. 2). Krótkotrwała (1 godzina) ekspozycja roślin w roztworze z miedzią wpłynęła na uszkodzenie plazmolemy komórek korzenia ogórka, co objawiło się wypływem do roztworu jonów potasu (rys. 3). Wpływ K^+ z korzeni roślin traktowanych miedzią jest dobrze znany, jako że Cu silnie reaguje z grupami SH białek błonowych, indukuje syntezę rodników tlenowych, czego następstwem jest utlenianie lipidów błonowych, co pociąga za sobą destrukcję błon lub zwiększenie jej przepuszczalności [De FILIPPIS 1979; DE VOS et al. 1991; BURZYŃSKI 2001]. Nie obserwowano wypływu jonów potasowych z korzeni kukurydzy, co może świadczyć o innych właściwościach plazmolemy komórek korzenia tych roślin. Równocześnie, w ciągu godziny, komórki korzeni kukurydzy zakumulowały dużo mniej miedzi w porównaniu z komórkami korzeni ogórka (rys. 4). Niewątpliwie duża akumulacja Cu w korzeniach ogórka była przyczyną dużo drastyczniejszego obniżenia aktywności reduktazy azotanowej w korzeniach tych roślin w



Rys. 1. Świeża masa roślin po 15-dniowym traktowaniu roślin miedzią
 Fig. 1. Fresh matter of plants after 15 days of plant treatment with Cu

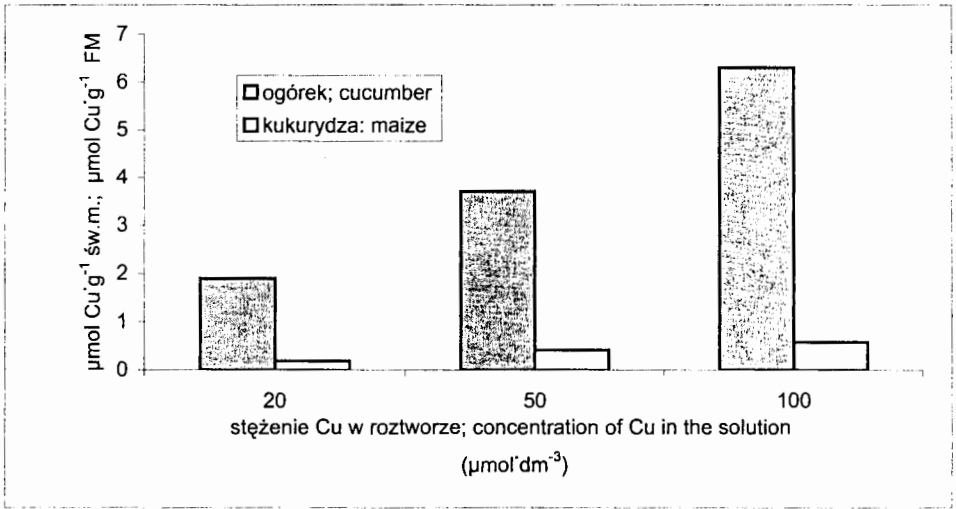


Rys. 2. Akumulacja Cu po 15-dniowym traktowaniu roślin miedzią
Fig. 2. Accumulation of Cu after 15 days of plant treatment with copper

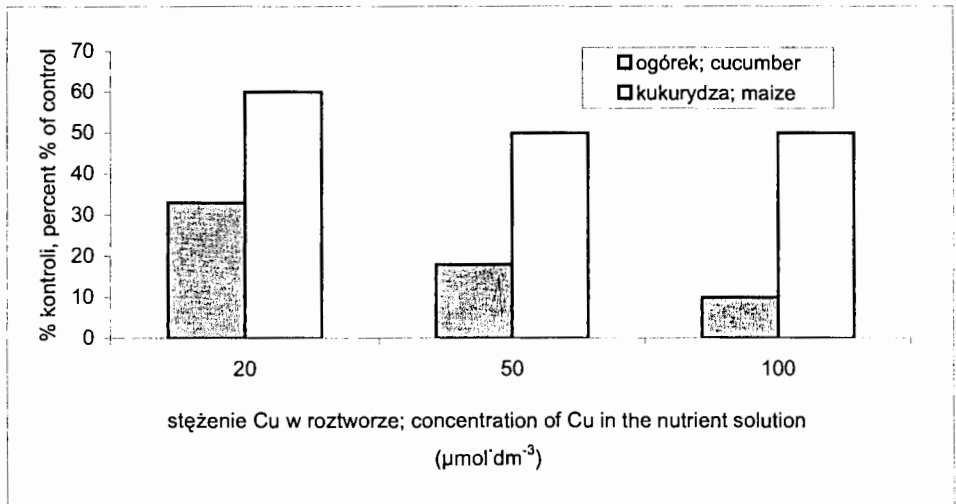


Rys. 3. Wpływ potasu z korzeni po 1 godzinie traktowania roślin Cu
Fig. 3. Potassium leakage from roots after 1 hour of plant treatment with Cu

porównaniu z hamowaniem aktywności tego enzymu w korzeniach kukurydzy (rys. 5). Reduktaza azotanowa jest enzymem niestabilnym, jej aktywność zależy od wielu czynników. Istotne dla jej aktywności są zredukowane grupy SH [CAMPBELL 1996]. Obniżenie aktywności reduktazy azotanowej jest prawie natychmiastowe po wnikięciu do komórek nadmiaru jonów miedzi [LUNA et al. 1997; BURZYŃSKI 2001]. Wydaje się, że różne właściwości plazmoemy komórek korzenia ogórka i kukurydzy wpływają na różną mobilność miedzi u tych roślin i to jest przyczyną większej odporności kukurydzy obserwowanej w naszych doświadczeniach. Dowodem na różne właściwości plazmoemy tych roślin jest dużo większe



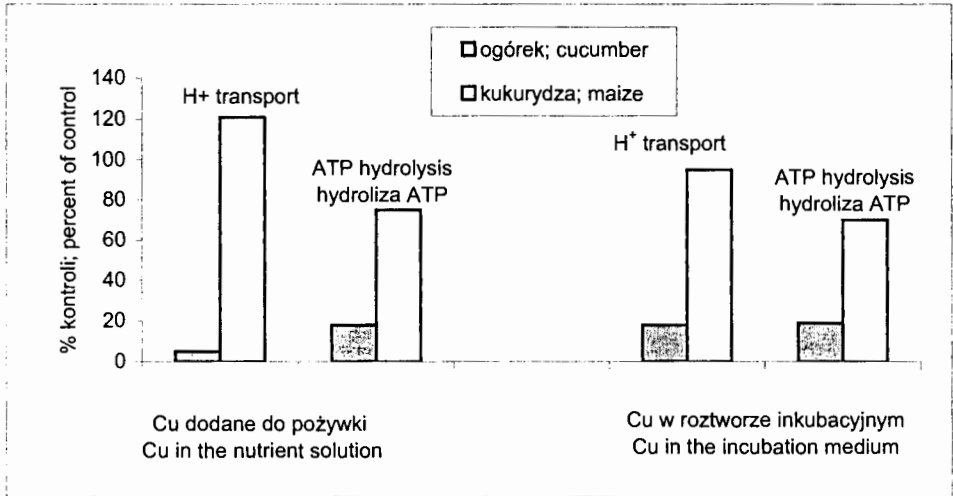
Rys. 4. Akumulacja Cu w korzeniach po 1 godzinie traktowania roślin miedzią
 Fig. 4. Accumulation of Cu in roots after 1 hour of plant treatment with Cu



Rys. 5. Aktywność reduktazy azotanowej w korzeniach roślin traktowanych przez 1 godzinę Cu
 Fig. 5. Nitrate reductase activity in plant roots after 1 hour of Cu treatment

zahamowanie aktywności H^+ -ATPazy w pęcherzykach plazmolemowych, wyizolowanych z ogórka traktowanego przez 18 godzin roztworem miedzi o stężeniu $100 \mu\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$, a także dużo większe zahamowanie tej aktywności w przypadku dodania Cu do mieszaniny inkubacyjnej (rys. 6). W przypadku kukurydzy zarówno hydrolityczna aktywność ATPazy, jak i transport protonów do pęcherzyków błonowych był dużo mniej wrażliwy na działanie Cu. Transport H^+ w pęcherzy-

kach wyizolowanych z korzeni kukurydzy traktowanych przez 18 godzin Cu był nawet wyższy niż w roślinach kontrolnych. Różną wrażliwość H⁺-ATPazy plazmolemy ze słonecznika i pszenicy na działanie innego metalu ciężkiego – kadmu – obserwowali FODOR et al. [1995]. Podobnie jak w naszych doświadczeniach, enzym izolowany z rośliny dwuliściennej (tutaj ze słonecznika) był wrażliwszy na działanie Cd od enzymu izolowanego z korzeni rośliny jednoliściennej (pszenicy).



Rys. 6. Aktywność H⁺-ATPazy w korzeniach roślin traktowanych miedzią i po dodaniu miedzi do roztworu inkubacyjnego

Fig. 6. Activity of H⁺-ATPase in Cu-treated roots and after addition of copper into the incubation medium

Literatura

- BURZYŃSKI M. 2001. Influence of pH on Cd and Cu uptake, distribution and their effect on nitrate reductase activity in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedling roots. *Acta Physiol. Plant.* 23: 201–206.
- CAMPBELL W.H. 1996. Nitrate reductase biochemistry comes of age. *Plant Physiol.* 111: 355–361.
- CHIONGPRADITNUM P., MORI S., CHINO M. 1992. Excess copper induces a cytosolic Cu, Zn-superoxide dismutase in soybean root. *Plant Cell Physiol.* 33: 239–244.
- DE VOS C.H.R., SCHIAT H., DE WAAL M.A.M., VOOLJS R., ERNST W.H.O. 1991. Increased resistance to copper-induced damage of root cell plasmalemma in copper tolerant *Silene cucubalus*. *Physiol. Plant.* 82: 523–528.
- DE FILIPPIS L.F. 1979. The effect of heavy metal compounds on the permeability of *Chlorella* cells. *Z. Pflanzenphysiol.* 92: 39–49
- FODOR E., SZABO-NAGY A., ERDEI L. 1995. The effect of cadmium on fluidity and H⁺-ATPase activity of plasma membrane from sunflower and wheat roots. *J. Plant Physiol.* 147: 87–92.

GALLAGHER S.R., LEONARD R.T. 1982. *Effect of vanadate, molybdate, and azide on membrane-associated and soluble phosphatase activities of corn roots.* Plant Physiol. 70: 1335–1340.

HAGEMAN R.H., FLESHER D. 1960. *Nitrate reductase activity in corn seedlings as affected by light and nitrate content of nutrient media.* Plant Physiol. 34: 700–702.

KŁOBUS G 1995. *The role of plasma membrane-bound activities in nitrate transport into sealed plasma membrane vesicles from Cucumis sativus L. roots,* in: *Development in plant and soil science. Structure and function of roots.* Baluška F., Ciamporova M., Gasparicova O., Barlow P.W. (red.). Kluwer Academic Publishers 58: 133–140.

LUNA C.M., CASANO L.M., TRIPPI V.S. 1997. *Nitrate reductase is inhibited in leaves of Triticum aestivum treated with high levels of copper.* Physiol. Plant. 101: 103–108.

SANDMAN G., BÖGER P. 1980. *Copper deficiency and toxicity in Scenedesmus.* Z. Pflanzenphysiol. 98: 53–59.

RAUSER W.E. 1995. *Phytochelatin and related peptides.* Plant Physiol. 109: 1141–1149.

Słowa kluczowe: ogórek, kukurydza, Cu, reduktaza azotanowa, plazmolema, H⁺-ATPaza

Streszczenie

Siewki kukurydzy wykazują większą odporność na nadmiar Cu w pożywce niż siewki ogórka. Różna odporność na Cu kukurydzy może wynikać z różnych właściwości plazmolemy komórek korzeni tych roślin. Plazmolema komórek korzeni ogórka w odróżnieniu do kukurydzy pod wpływem Cu staje się przepuszczalna dla jonów potasowych. Kukurydza dużo wolniej i słabiej pobiera i akumuluje Cu. Szybka akumulacja Cu w komórkach korzeni ogórka jest przyczyną gwałtownego zahamowania aktywności reduktazy azotanowej w korzeniach tych roślin. Wykazano dużo większą wrażliwość na Cu H⁺-ATPazy plazmolemy ogórka niż kukurydzy, co dodatkowo może świadczyć o tym, że przyczyną większej odporności kukurydzy na Cu jest inna budowa plazmolemy w komórkach korzenia tej rośliny.

ROOT CELL PLASMALEMMA CAN DECIDE ABOUT DIFFERENCES
IN SENSITIVITY OF CUCUMBER (*Cucumis sativus* L.)
AND MAIZE (*Zea mays* L.) SEEDLINGS TO Cu

Marek Burzyński, Ewa Kolano

Department of Plant Physiology, Institute of Botany,
Wrocław University, Wrocław

Key words: cucumber, corn, Cu, nitrate reductase, plasmalemma, H⁺-ATPase

Summary

Corn seedlings were more resistant to Cu than cucumber ones. This different resistance could be due to some differences in root cell plasmalemma properties. Plasmalemma from cucumber roots treated with Cu was more permeable for K^+ , and potassium leakage from root tissues was observed. It was shown that cucumber accumulated much more Cu than corn seedling. This accumulation affects nitrate reductase diminishing its activity in cucumber in a greater extent than in maize. Also an inhibitory effect of Cu on plasmalemma H^+ -ATPase isolated from cucumber roots was stronger than in the case of enzyme obtained from corn roots. It confirmed additionally the various properties of plasmalemma from both plants.

Dr Marek **Burzyński**
Zakład Fizjologii Roślin
Instytut Botaniki
Uniwersytet Wrocławski
ul. Kanonia 6/8
50-328 WROCLAW
e-mail: burzynsm@biol.uni.wroc.pl