

WPŁYW STRESU GLINOWEGO NA WZROST ORAZ ANATOMICZNE I MORFOLOGICZNE CECHY KORZENI WYBRANYCH ZBÓŻ

A. Szatanik-Kloc

Instytut Agrofizyki im Bohdana Dobrzańskiego
Polska Akademia Nauk, 20-290 Lublin 27, ul. Doświadczalna 4

Streszczenie: Przedstawiono wyniki badań dotyczących wpływu zróżnicowanych stężeń glinu w pożywce na morfologię i zmiany anatomiczne tkanki korzeniowej pszenicy Henika i pszenżyta Debo. Na podstawie zdjęć mikroskopowych, stosunku masy korzeniowej do masy części nadziemnych oraz zdolności roślin do regulowania odczynu pożywki, stwierdzono, że badane pszenżyto charakteryzowało się większą odpornością na stres.

Słowa kluczowe: kwasowość gleby, stres glinowy, anatomia korzenia, morfologia korzenia.

WSTĘP

Zahamowanie wzrostu i rozwoju roślin rosnących na glebach kwaśnych wywoływane jest głównie przez tzw. wtórne czynniki zakwaszenia gleby: wysokie stężenia pierwiastków toksycznych, niedobór składników pokarmowych i spadek ich przyswajalności [2]. Szczególnie niekorzystny wpływ na rośliny mają jony glinu, których toksyczność powoduje ok. 40% strat w światowej produkcji roślinnej oraz znaczne pogorszenie jakości plonu [6].

Glin powoduje naruszenie wzrostu i rozwoju systemu korzeniowego i ograniczenie poboru składników pokarmowych. Korzenie najpierw główne, a potem boczne, grubieją, stają się łamliwe i skrócone. Przedłużający się stres glinowy powoduje brunatnienie stożków wzrostu oraz ich zamieranie, co prowadzi do wyrastania korzeni II, III i dalszych rzędów, które również ulegają zmianom nekrotycznym [1]. Zmiany anatomiczne, obejmują przede wszystkim

uszkodzenie tkanek w strefie merystematycznej i strefie wzrostu. Zniszczeniu w pierwszej kolejności ulegają komórki epidermy. W wewnętrznych warstwach występują zagłębienia i szczeliny, sięgające kory pierwotnej. W skrajnych przypadkach nekroza endodermy prowadzi do oddzielenia się walca osiowego, co powoduje zahamowanie transportu wody i soli mineralnych [13].

Dzięki zwiększaniu pH rizosfery przez roślinę, spada toksyczność glinu, jednak tolerancja roślin na glin związana jest raczej ze wzrostem zdolności do utrzymania potencjału membranowego i zrównoważonej wymiany jonowej [9]. Chelatowanie glinu przy powierzchni wierzchołków wzrostu odbywa się dzięki wydzielaniu substancji śluzowatych, składających się z polisacharydów i kwasów uronowych [6]. Z drugiej strony, ujemna korelacja tolerancyjności na glin z pojemnością kationowymienną (CEC) korzeni (genotypy odporne charakteryzują się mniejszą CEC), powoduje mniejsze pobieranie kationów niż anionów. Zmniejsza to zakwaszenie podłoża i ogranicza dostępność glinu. Ponadto jony glinu wiązane są w ścianie komórkowej przez grupy karboksylowe pektyn [7].

Dokładna znajomość objawów związanych z występowaniem danego stresu na rośliny stanowi niezbędny warunek lepszego poznania mechanizmów toksyczności.

MATERIAŁ I METODYKA

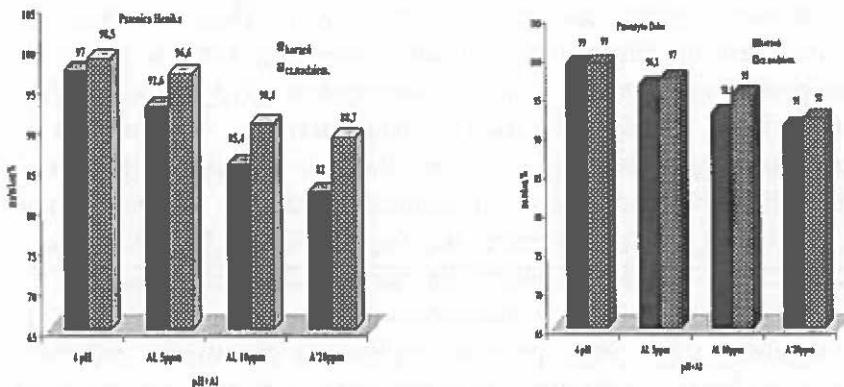
Materiał badawczy stanowiły dwie odmiany zbóż: *Triticum* - pszenica jara Henika (wrażliwa) i *Triticale* pszenżyto jare Debo (mało odporne). Wzrost i rozwój obu gatunków prowadzony był w kulturach wodnych, o ściśle kontrolowanym składzie pH i pożywki, w cyklu dobowym 16 godz/8 godz (dzień/noc), temperaturze pomieszczenia $23 \pm 1^\circ\text{C}$ w ciągu dnia i 16°C w nocy, oraz odpowiedniej wilgotności 90% i ok. 60% (w nocy), pod lampami sodowymi typu WLS 400. Nasiona roślin wysiano do napowietrzanych polietylenowych pojemników zaopatrzonych w styropianowe wkładki z nawierconymi otworami. Spodnią stronę wkładki zabezpieczała siatka. Pomiędzy wkładką a siatką umieszczono bibułę filtracyjną. Do każdego pojemnika (5 dm^3) wysiano po 160 nasion, a po skielkowaniu pozostawiono po 80 roślin, usuwając jednocześnie bibułę filtracyjną. Pożywkę przygotowano z następujących odczynników o stopniu czystości cz.d.a.: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KH_2PO_4 , K_2SO_4 , KNO_3 , NaCl , H_3BO_3 , $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Fe-EDTA. Skład pożywki w mg/dm^3 wyniósł: 50,8 Ca; 6,6 Mg; 52 NO_3^- ; 4,1 NH_4^+ ; 3,85 S; 29,6 K;

0,34 Mn; 0,07 B; 0,01 Cu; 0,005 Mo; 1,0 Fe [8]. W trakcie doświadczenia utrzymywano stały poziom pożywki. Roztwory wymieniano co 5 dni.. Odczyn roztworów mierzono co 24 godz i doprowadzano, za pomocą 0,1N KOH i 0,1N HCl do żądanego poziomu tj. pH=7 dla materiału kontrolnego oraz pH=4 dla stresu wywołanego niskim pH i stresu glinowego. Stężenie glinu podawanego jako $AlCl_3$ było różnicowane i wynosiło 5, 10 i 20 $mg\ dm^{-3}$. Różnicowanie pH i dodatek jonów glinu stosowano w początkach fazy strzelania w źdźbło. Okres inkubacji w warunkach stresu wynosił 7-10 dni. Doświadczenie przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

Wykonano pomiary masy roślin, zdjęcia korzeni i części nadziemnych, oraz mikrofotografie przekroju poprzecznego korzeni inkubowanych przy 20 $mg\ kg^{-1}$ Al i korzeni kontrolnych (pH 7).

WYNIKI I DISKUSJA

W oparciu o otrzymane wyniki określono zawartość procentową masy korzenia w stosunku do masy rośliny (Rys 1.)

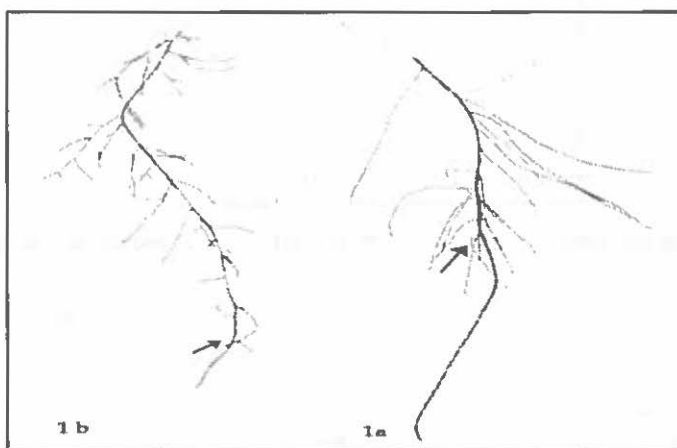


Rys.1. Masa korzeni [słupki z lewej] i masa części nadziemnych [słupki z prawej] roślin poddanych stresowi. Przedstawionych jako procent od kontroli. Wartości średnie z 3 powtórzeń, 80 roślin w każdym powtórzeniu.

Fig.1. Mass of upper parts of the plants (left bars) and of the roots (right bars), depicted as the percentage of the control plants. Average from 3 replicates of 80 plants each.

Uzyskane wyniki potwierdziły szeroko omawiane w literaturze tendencje spadku masy korzeni roślin pod wpływem stresu, jakkolwiek stres wywołany obniżeniem odczynu pożywki do $\text{pH}=4$ nie wpłynął znacząco na masę korzeni (prawdopodobnie wiąże się to ze zbyt krótkim czasem inkubacji w warunkach stresowych) to jony glinu, szczególnie przy wysokich stężeniach (20 mg kg^{-1}) powodowały spadek masy korzeni o kilka procent, przy czym pszenica jara odmiany Henika wykazująca większą wrażliwość od pszenżyta odmiany Debo reagowała bardziej na stres glinowy. W związku ze zmniejszeniem masy korzenia następuje zahamowanie poboru wody i substancji pokarmowych. Objawy toksyczności glinu w częściach nadziemnych roślin związane są raczej z niedoborem tych substancji, wynikającym bądź to z interakcji jonów glinu z innymi metalami, bądź z ich antagonizmem zachodzącym na powierzchni korzenia, w ścianie komórkowej, plazmalemmie. Obecność glinu wpływa zarówno na wzrost i rozwój systemu korzeniowego, jak i na dostępność innych kationów, głównie fosforu i wapnia. Tworzenie trudno rozpuszczalnych związków fosforu na powierzchni korzenia i w ich wnętrzu, prowadzi do niedoboru tego pierwiastka w roślinie. Hamuje również niektóre procesy metabolizmu takie jak syntezę kwasów nukleinowych i aktywność enzymatyczną. Część reakcji metabolicznych związana jest z kalmoduliną - białkiem regulatorem. Od niego zależy jest jedyny znany enzym - kinaza NAD (ATP-NAD-2-fosfortransferaza). Enzym ten katalizuje fosforylację NAD w obecności ATP, a zatem pełni znaczną rolę w syntezie nukleotydów pirydynowych (NAD, NADP), ważnych dla kluczowych reakcji metabolicznych. Kalmodulina w największych stężeniach występuje w wierzchołkach korzeni (pierwotnym miejscu kumulacji glinu). Aktywność kalmoduliny zależy od stężenia jonów wapnia, które wraz z białkiem tworzą aktywny kompleks Ca-kalmodulina. Miejsca wiązania Ca częściowo pokrywają się z miejscami wiązania Al. Kompleks Al-kalmodulina jest jednak nieaktywny i tym samym blokuje funkcje białka jako regulatora. Ma więc pośredni wpływ na aktywność procesów metabolizmu i niedobór substancji pokarmowych. Objawia się to poza ograniczeniem wzrostu elongacyjnego korzeni, zaburzeniem ich rozwoju, a także żółknięciem i zamieraniem części nadziemnych roślin. W skrajnych przypadkach długotrwały stres glinowy prowadzi nawet do braku kłoszenia. Na ogół jony glinu nie wpływają na czas następowania kolejnych faz rozwoju rośliny. Niemniej jednak ich wpływ na tkankę merystematyczną ogranicza jej różnicowanie się. Początek różnicowania się elementów korzenia silnie wiąże się z czynnikami zewnętrznymi, temperaturą, oddychaniem, stężeniem fosforu i azotu, a także z

toksycznym stężeniem jonów glinu. Jeśli ich wpływ jest niekorzystny następuje zahamowanie szybkości wzrostu korzenia, a odległość między wierzchołkiem a początkiem różnicowania się ksylemu i floemu maleje [7]. Toksyczne działanie glinu powoduje zmniejszenie odległości pomiędzy wierzchołkiem korzenia a początkiem tworzenia się pierwszych korzeni bocznych. Pojawiają się one tylko w strefie wzrostu, a włoski korzeniowe są zredukowane. Natomiast w roślinach nie poddanych stresowi odległość ta wynosi 7 cm dla pszenicy i 9 cm dla pszenżyta. Ze zmniejszeniem odległości pomiędzy strefami korzeniowymi wiąże się powiększenie jego średnicy. Omawiane wyżej tendencje zilustrowano na Fot. 1 i 2.



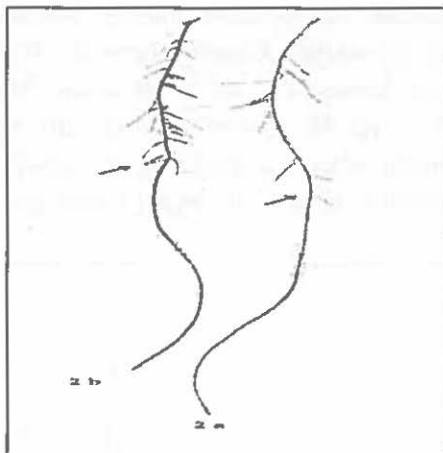
Fot. 1. Pszenica jara Henika, 1b - korzenie kontrolne (pH=7), 1a - korzenie poddane stresowi (pH=4 + 20 mg kg⁻¹ Al).

Phot. 1. Wheat Henika. Control roots grown at pH 7 (left, 1b) and 20 mg kg⁻¹ Al stressed roots (right, 1a).

Zdjęcia mikroskopowe ujawniają macerację komórek w tkankach zewnętrznych, głównie w epidermie i korze pierwotnej (Fot. 3, 4).

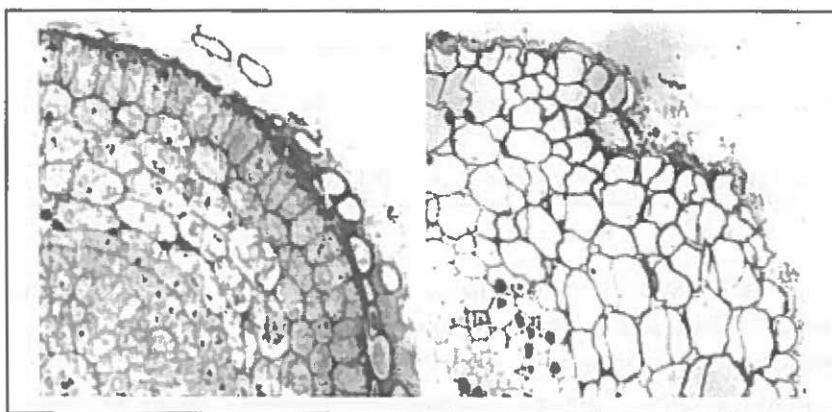
W literaturze odnotowano, że ilość komórek w tych tkankach może ulec redukcji nawet o 50%. Jonowy charakter toksyczności glinu w komórkach wierzchołka korzeniowego powoduje ograniczenie ich długości do ok. 30 mikronów, podczas gdy w warunkach normalnych mają one wygląd wydłużony [7]. Kumulacja glinu w wolnej przestrzeni komórkowej opiera się w dużej mierze na oddziaływaniach jonów glinu z komponentami ściany komórkowej i

plazmalemmy. Sorpcja glinu przez ściany komórkowe zależy od zawartości w nich wolnych grup karboksylowych.



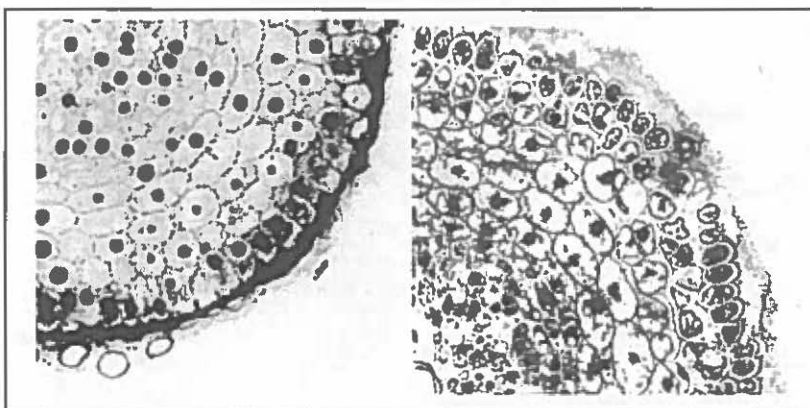
Fot. 2. Pszenżyto jare Debo, 2b - korzenie kontrolne (pH=7), 2a - korzenie poddane stresowi (pH 4 + 20 mg kg⁻¹ Al).

Phot. 2. Triticale Debo. Control roots grown at pH 7 (left, 2b) and 20 mg kg⁻¹ Al stressed roots (right, 2a).



Fot. 3. Pszenica jara Henika. Tkanki korzeni rosnących w pożywce przy pH=7 (z lewej) i inkubowanych w 20 mg kg⁻¹ Al (z prawej).

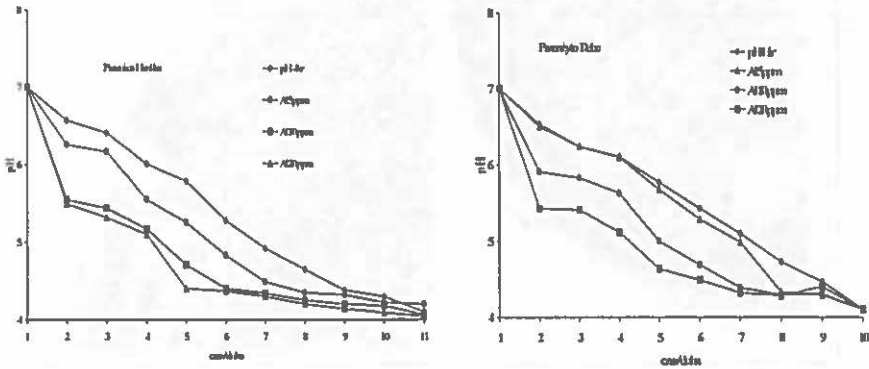
Phot. 3. Wheat Henika. Root cross sections of the control plants (left) and of 20 mg kg⁻¹ Al stressed plants (right).



Fot. 4. Pszenżyto jare Debo. Tkanki roślin rosnących w pożywce przy pH=7 (z lewej) i tkanki roślin inkubowanych w 20 ppm Al (z prawej).

Phot. 4. Triticale Debo. Root cross sections of the control plants (left) and of 20ppm Al stressed plants (right).

Wolne grupy karboksylowe pektyn i hemicelulozy mogą tworzyć tak silne wiązania kowalencyjne z glinem, że nawet przy pH = 2 protony nie są w stanie wyprzeć jonów Al^{+3} [3, 11]. Wiązanie glinu odbywa się też na zasadzie wymiany jonowej. Zdaniem Veltrupe [12] glin wpływa bezpośrednio na enzym H^+ -ATP-azy, ograniczając jego aktywność a więc zmniejsza się ilość protonów wydzielanych do apoplastu. Uniemożliwia to wypieranie jonów Ca^{+2} z kompleksu Ca-kwasy uronowe. Glin zmniejsza plastyczność i elastyczność ściany komórkowej oraz powoduje jej pogrubienie. Zdaniem niektórych autorów ma to związek z przewodzeniem auksyn - hormonów wzrostu. W przypadku kiedy transport auksyn przez tkanki korzenia zostanie zakłócony, lub kiedy zaopatrzenie tkanek korzenia w auksyny jest większe niż możliwość systemu korzeniowego w polarnym ich transporcie, auksyny przechodzą przez boczne ściany komórkowe. Prowadzi to do zwiększenia średnicy komórek [7]. Pogrubienie ścian, zmniejszenie plastyczności i elastyczności powoduje, iż korzeń staje się kruchy i łamliwy. Nawet nieznaczne przegięcie może doprowadzić do rozerwania ściany komórkowej i membran cytoplazmatycznych. W trakcie stresu rośliny zwiększały pH roztworu (codziennie doprowadzanego do pH=4), co pokazano na Rys. 2.



Rys. 2. pH pożywki w trakcie stresu glinowego (wartości pH mierzone po 24h od kolejnych momentów doprowadzania pożywki do pH=4). Średnie z 3 powtórzeń.

Fig. 2. pH of the nutrient solution during Al stress (pH values measured 24h after subsequent adjustments of the pH to the value of 4). Average from 3 replicates.

Zdolność do podwyższania pH malała wraz ze wzrostem czasu trwania stresu i wzrostem stężenia glinu. Była ona większa w przypadku pszenżyta.

WNIOSEK

Wykonane badania świadczą o silnej reakcji badanych roślin na stres glinowy. Widoczne są indywidualne różnice w zachowaniu obydwu badanych gatunków roślin, związane prawdopodobnie z różnicami ich tolerancyjności na zastosowane warunki stresowe.

PIŚMIENNICTWO

1. Alam S. M.: Influence of aluminum on plant growth and mineral nutrition of barley. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 12, 121-138, 1981.
2. Aniol A.: Aluminum tolerance in cereals. *Biuletyn IHAR*, 156, 7-11, 1985.
3. Bradley T.J., Parker M.S.: Binding of Al. ions by *Staphylococcus aureus* 893. *Experimentia*, 24, 11, 1175, 1964.
4. Foy C.D., Chaney R.C., White M.C.: The physiology of metal toxicity in plants *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 29, 511-566, 1978.
5. Haug W. J., Caldwell C.R.: Aluminum toxicity in plants. The role of the root plasma membrane and calmodulin. [w:] *Frontiers of membrane research in agriculture*. Ed. John J.B. Berlin E. Jackson P.C., 359-381, 1985.

6. Horst W.J., Wagner A., Marschner H.: Effect of aluminum on root growth, cell-division rate and mineral element contents in roots of *Vigna unguiculata* genotypes. Z. Pflanzenphysiol. 109, 95-103, 1983.
7. Klimaszewskij E.L.: Genetic aspects of mineral nutrition of plants. Nauka. Moscow. 1990.
8. Marschner H.: Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, London. 1-486, 1996.
9. Miyasaka S.C., Kochian L V., Schaff J. E., Foy C. D.: Mechanisms of aluminum tolerance in wheat: An investigation of genotypic differences in rhizosphere pH, K⁺ and H⁺ transport, and root-cell membrane potentials. Plant Physiol., 91, 1188-1196, 1989.
10. Okhi K.: Photosynthesis, chlorophyll and transpiration response in aluminum stressed wheat and sorghum. Crop Sci., 26, 572-575, 1986.
11. Setterfield G., Bayley S.T.: Structure and physiology of cell walls. Ann. Rev. Plant Physiol. 12, 37-42, 1981.
12. Veltrupe W.: The in vivo and in vitro effects of Ca²⁺ and Al³⁺ upon ATP- ashes from barley roots. J. Plant Nutrition, 6, 349-361, 1983.
13. Wagatsuma T., Kaneko M., Hayasaka Y.: Destruction process of plant roots cells by aluminum. Soil. Sci. Plant. Nutr., 343, 2, 161-175, 1987.

EFFECT OF ALUMINUM STRESS ON GROWTH, ANATOMY AND MORPHOLOGY OF SELECTED CEREAL ROOTS

A. Szatanik-Kloc

Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences
Str. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin 27, Poland

SUMMARY

Some results of studies concerning the effect of aluminum stress at various concentrations on root morphology and tissue (ectoderm and cortex) anatomical features for wheat Henika and barley Debo are presented. Microscopic photographs, roots to shoot ratio and the plants ability to rise the pH of the growing solution show the higher aluminum stress resistance of the Triticale plants.

Key words: soil acidity, aluminum stress, root anatomy, root morphology

