

Katedra Botaniki, Akademia Rolnicza w Lublinie

ELŻBIETA WERYSZKO-CHMIELEWSKA,
JADWIGA KOSTRZEWSKA-KUCZUMOW

**Reakcje korzeni i pędów fasoli zwyczajnej
(*Phaseolus vulgaris* L.) odm. 'Laura' na stres
wywołany nadmiarem cynku**

Response of Common Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. 'Laura' Roots and Shoots to Stress
Due to Zinc Excess

Cynk należy do metali ciężkich wykazujących w podwyższonych stężeniach znaczną toksyczność w stosunku do roślin. Stwierdzono jednak, że pod względem stresowego oddziaływania na organizmy roślinne jest mniej aktywny niż kadm i miedź, a przewyższa swą toksycznością ołów. Spośród wymienionych metali Zn transportowany jest w największych ilościach do części nadziemnych roślin (Kastori i wsp., 1992).

We wcześniejszych badaniach wykazano, że pędy grochu odznaczały się silniejszą reakcją na stres cynkowy niż korzenie (Päivöke, 1983; Łyszcz i Ruszkowska, 1991; Kostrzevska-Kuczumow i Weryszko-Chmielewska, 2000 a). Kostrzevska-Kuczumow i Weryszko-Chmielewska (2000 b) stwierdziły, że groch zwyczajny jest bardziej odporny na toksyczne oddziaływanie cynku niż gorczyca biała i słonecznik zwyczajny, natomiast Łyszcz i Ruszkowska (1991) podają, że rośliny dwuliścienne wykazują większą wrażliwość na nadmiar cynku niż jednoliścienne. Różne reakcje dwóch odmian fasoli na podwyższone dawki cynku opisują Polson i Adams (1970).

Celem badań było porównanie odpowiedzi korzeni i pędów fasoli zwyczajnej na wzrastające stężenia cynku. Badano również cechy morfologiczne i anatomiczne liści formowanych w obecności toksykanta.

MATERIAŁ I METODA

Siewki karłowej fasoli zwyczajnej (*Phaseolus vulgaris* L.) odm. 'Laura' uprawiano w kulturach wodnych przez 21 dni. Sporządzono zmodyfikowaną pożywkę Knopa z 1% cytrynianem żelaza w ilości 2 ml na dm^{-3} oraz roztworem pierwiastków śladowych A-Z według Hoaglanda. Pożywkę suplementowano cynkiem w formie $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ w dawkach 0, 20, 50 $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$, co odpowiada zawartości Zn: 0; 4,54; 11,35 $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$. W każdym obiekcie testowano 30 roślin.

Po 7, 14 i 21 dniach doświadczenia wykonano pomiary długości korzeni i pędów. Po zakończeniu eksperymentu określono świeżą masę tych organów. Badania pierwszego liścia dotyczyły wielkości powierzchni blaszki oraz świeżej masy, a także budowy tkanek.

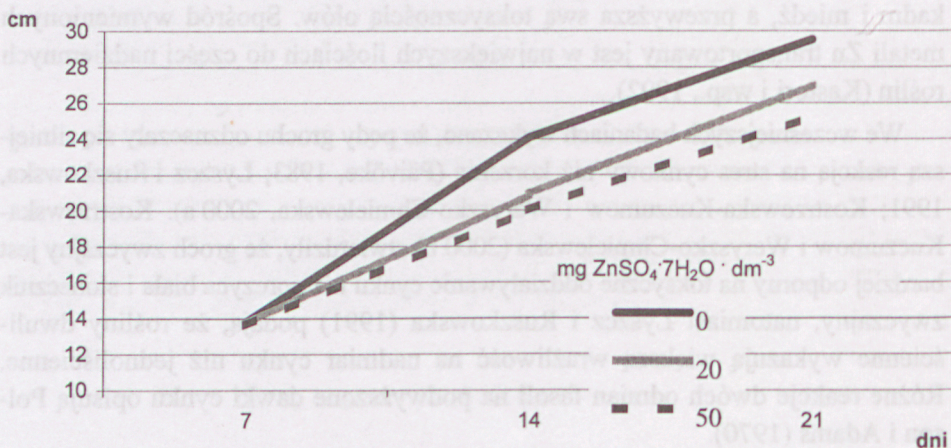
Do badań anatomicznych utrwalono fragmenty liścia w mieszaninie FAA o składzie: formalina, alkohol etylowy, kwas octowy lodowaty w stosunku 1:18:1.

Wykonano preparaty z ciętych ręcznie przekrojów poprzecznych 9 losowo wybranych liści dla każdego obiektu. Zmierzono grubość blaszki liściowej oraz nerwu głównego. Określono także grubość warstwy miękisz palisadowego i gąbczastego oraz szerokość 25 komórek miękisz palisadowego dla każdego obiektu.

Wyniki opracowano statystycznie metodą klasyfikacji pojedynczej oraz przedziałów ufności Tukeya.

WYNIKI

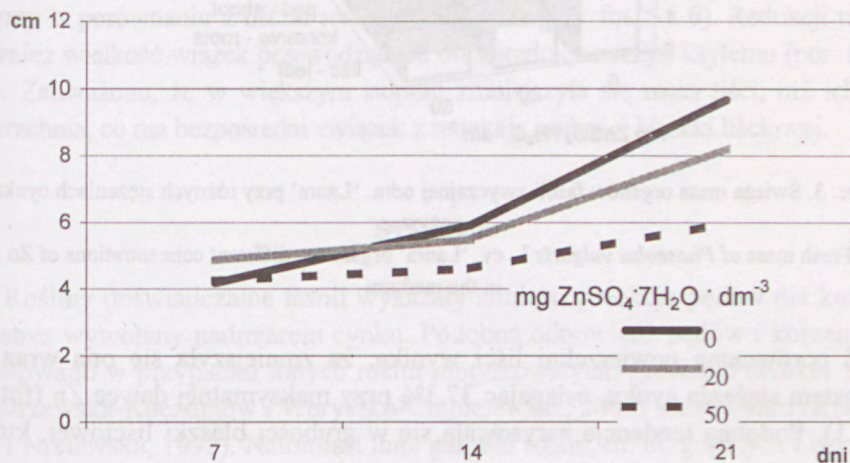
Zastosowane stężenia cynku silniej hamowały wzrost pędów niż korzeni fasoli zwyczajnej (fot. 1, 4). Negatywne oddziaływanie podwyższonych stężeń cynku na wzrost korzeni fasoli przejawiało się w późniejszych terminach badań (ryc. 1). Po 7 dniach eksperymentu nie stwierdzono hamowania wzrostu systemu



Ryc. 1. Tempo wzrostu korzeni fasoli zwyczajnej odm. 'Laura' przy różnych koncentracjach cynku w pożywce. NIR (0,01) = 3,55

Growth rate of *Phaseolus vulgaris* L. cv. 'Laura' roots vs. different concentrations of Zn in the medium. LSD (0.01) = 3.35

korzeniowego, natomiast najsilniejsza redukcja elongacji korzeni miała miejsce przy wyższej dawce cynku po 14 dniach – do 80,6% w porównaniu z kontrolą. W 21 dniu doświadczenia inhibicja wzrostu uległa niewielkiemu osłabieniu osiągając w obiekcie z maksymalnym stężeniem cynku 85,5% wartości występującej u roślin kontrolnych. Obliczenia statystyczne wskazują na istotność różnic w długości korzeni przy obu stężeniach cynku w stosunku do roślin kontrolnych (ryc. 1).



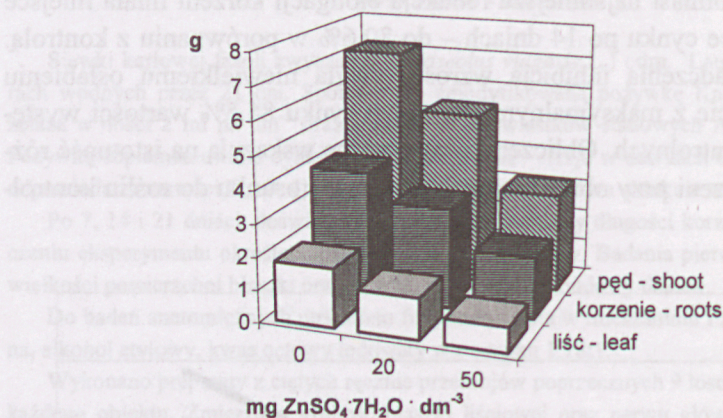
Ryc. 2. Tempo wzrostu pędów fasoli zwyczajnej odm. 'Laura' przy różnych koncentracjach cynku w pożywce. NIR (0,01) = 1,29

Growth rate of *Phaseolus vulgaris* L. cv. 'Laura' shoots vs. different concentrations of Zn in the medium. LSD (0.01) = 1.29

Różnice w tempie wzrostu pędów fasoli przy stresie cynkowym były znacznie większe niż w przypadku korzeni i pogłębiały się w kolejnych terminach badań (ryc. 2). Szczególnie silne oddziaływanie wykazywało wyższe stężenie cynku, przy którym wysokość pędów uległa redukcji do 61,9% w porównaniu z kontrolą. Wykazane różnice zostały potwierdzone statystycznie.

Masa pędów fasoli zwyczajnej znacznie przewyższała masę korzeni we wszystkich obiektach badań (ryc. 3). Przy wzrastających dawkach cynku świeża masa pędów uległa silniejszej redukcji niż masa korzeni. Wartości te osiągały po 21 dniach przy maksymalnej koncentracji Zn odpowiednio 42,4% oraz 47,8% tych parametrów u roślin kontrolnych.

Silną reakcję na oddziaływanie wysokiego stężenia cynku (50 mg · dm⁻³ ZnSO₄) wykazały blaszki liściowe, których masa zmniejszyła się do 35% w porównaniu z kontrolą. Na dolnej powierzchni tych liści stwierdzono nekrotyczne plamy, które obejmowały odosiową epidermę oraz miękisz gąbczasty (fot. 2).



Ryc. 3. Świeża masa organów fasoli zwyczajnej odm. 'Laura' przy różnych stężeniach cynku w pożywce

Fresh mass of *Phaseolus vulgaris* L. cv. 'Laura' organs vs. different concentrations of Zn in the medium

Z porównania powierzchni liści wynika, że zmniejszyła się ona wraz ze wzrostem stężenia cynku, osiągając 37,3% przy maksymalnej dawce Zn (fot. 3, tab. 1). Podobna tendencja zarysowała się w grubości blaszki liściowej, której

Tab. 1. Wyniki pomiarów blaszki liściowej fasoli zwyczajnej odm. 'Laura' przy różnych koncentracjach cynku w pożywce

Results of leaf blade measurements of *Phaseolus vulgaris* L. cv. 'Laura' at different concentrations of Zn in the medium

Badane cechy Traits under study	Stężenia $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$)			NIR
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ concentra- tions ($\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$)			LSD
	0	20	50	P = 0,01
B – świeża masa liścia – fresh mass of the leaf (g)	0,60	0,41	0,21	-
A – powierzchnia liścia – leaf surface area (dm^2)	0,327	0,234	0,122	0,50
B / A	1,834	1,752	1,721	-
Grubość nerwu głównego – main vein thickness (μm)	1315,6	1086,8	1007,6	72,3
Grubość blaszki liściowej – leaf blade thickness (μm)	228	159,5	143,5	17,8
Grubość warstwy miękiszu palisadowego – thickness of Palisade parenchyma layer (μm)	125	86,5	70,5	9,7
Grubość warstwy miękiszu gąbczastego – thickness of Spongy parenchyma layer (μm)	107,5	72,5	72,5	13,3
Szerokość komórek miękiszu palisadowego – width of Palisade parenchyma cells layer (μm)	22,56	17,34	15,51	1,73

wymiary zmniejszyły się do 62,9% przy $50 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ ZnSO}_4$ w stosunku do kontroli. W mniejszym stopniu (do 76%) uległa redukcji grubość nerwu głównego (tab. 1, por. fot. 5, 6). Zmniejszeniu grubości blaszki liściowej towarzyszyła redukcja miąższości warstw miększu palisadowego i gąbczastego (tab. 1). Wyraźniejsze zmiany dotyczyły mezofilu w górnej części blaszki liściowej. W obrębie miększu palisadowego zanotowano także ograniczenie szerokości komórek. (tab. 1). W tkankach nerwu głównego liści po traktowaniu Zn zaobserwowano występowanie znacznie mniejszych i zniekształconych komórek parenchymy w porównaniu z liśćmi roślin kontrolnych (por. fot. 5 i 6). Redukcji uległa również wielkość wiązek przewodzących oraz średnica naczyń ksylemu (por. fot. 7 i 8). Zauważono, że w większym stopniu zmniejszyła się masa liści, niż ich powierzchnia, co ma bezpośredni związek z redukcją grubości blaszki liściowej.

DYSKUSJA

Rośliny doświadczalne fasoli wykazały silniejszą reakcję pędów niż korzeni na stres wywołany nadmiarem cynku. Podobną odpowiedź pędów i korzeni obserwowano w przypadku innych roślin motylkowatych: grochu (Päivöke, 1983; Kostrzevska-Kuczumow i Weryszko-Chmielewska, 2000) oraz bobiku (Kucharski i Niklewska, 1992). Natomiast inne gatunki roślin, m. in. gorczyca i słonecznik (Kostrzevska-Kuczumow i Weryszko-Chmielewska, w druku) odznaczały się wyraźniejszą reakcją korzeni niż pędów.

Drastyczne zmniejszenie powierzchni blaszek liściowych fasoli w obecności Zn pociągało za sobą znaczne zmniejszenie ich świeżej masy. Silnej redukcji uległa także grubość blaszki liściowej oraz miąższość miększu palisadowego i gąbczastego. Kastori i wsp. (1992) stwierdzili również występowanie zmian w liściach w obecności Zn polegających na redukcji wielkości oraz zwiększeniu liczby aparatów szparkowych na jednostce powierzchni liścia słonecznika. W pracach innych autorów wykazano zmniejszenie rozmiarów chloroplastów oraz zmiany w ich ultrastrukturze (Wang i wsp. 1993).

Występowanie wyraźnych zaburzeń w budowie części nadziemnych roślin w warunkach nadmiaru Zn wiąże się ściśle z przemieszczaniem znacznych ilości tego pierwiastka do pędów, co stwierdzili Łyszcz i Ruszkowska (1991) oraz Kastori i wsp. (1992).

WNIOSKI

1. Pędy fasoli zwyczajnej odm. 'Laura' wykazały silniejszą reakcję na nadmierne dawki cynku niż korzenie.

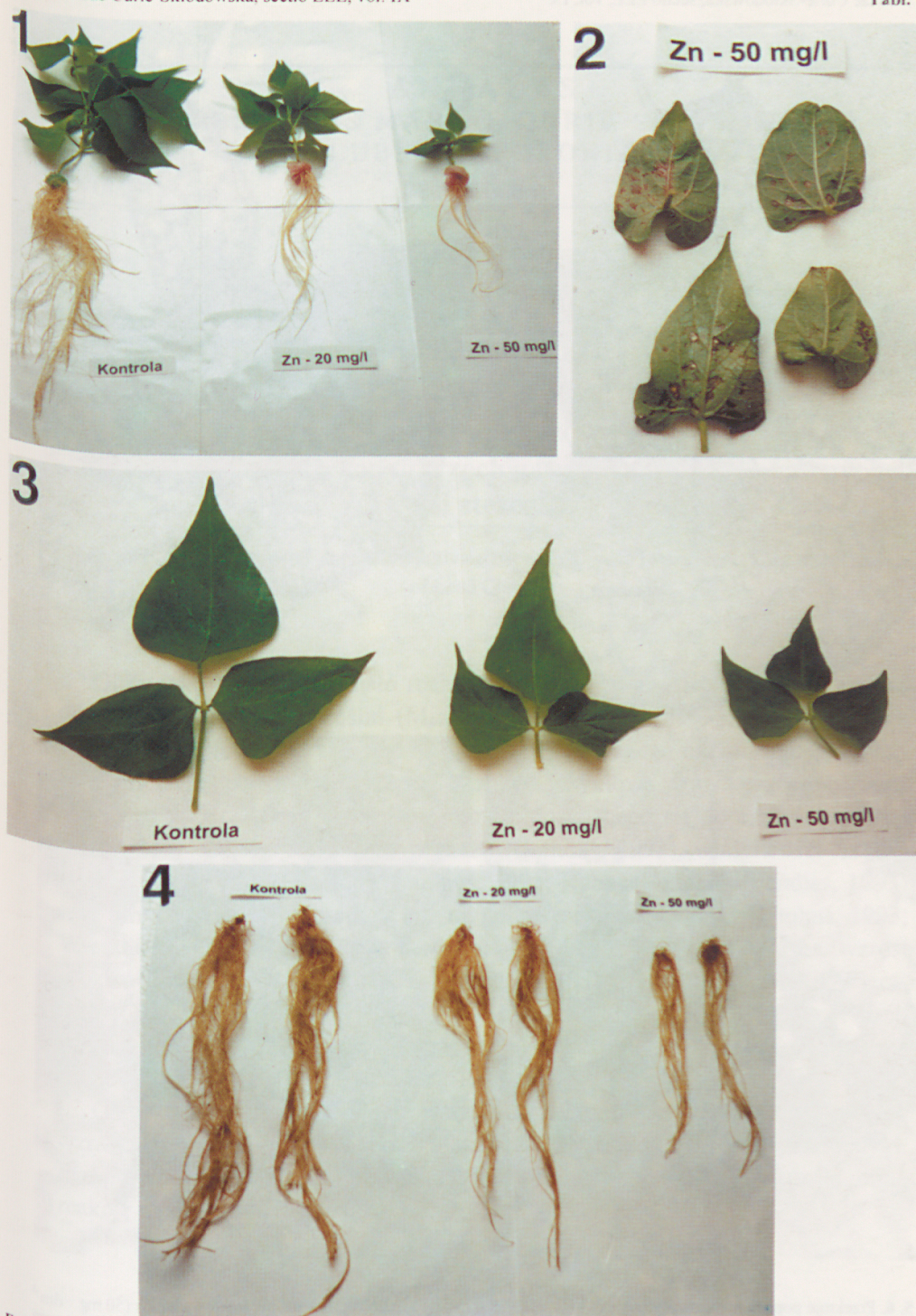
2. Znacznej redukcji powierzchni blaszek liściowych fasoli po traktowaniu roślin Zn towarzyszyło zmniejszenie grubości liści oraz zmiany w budowie tkanek miękiszowych i przewodzących.

PIŚMIENNICTWO

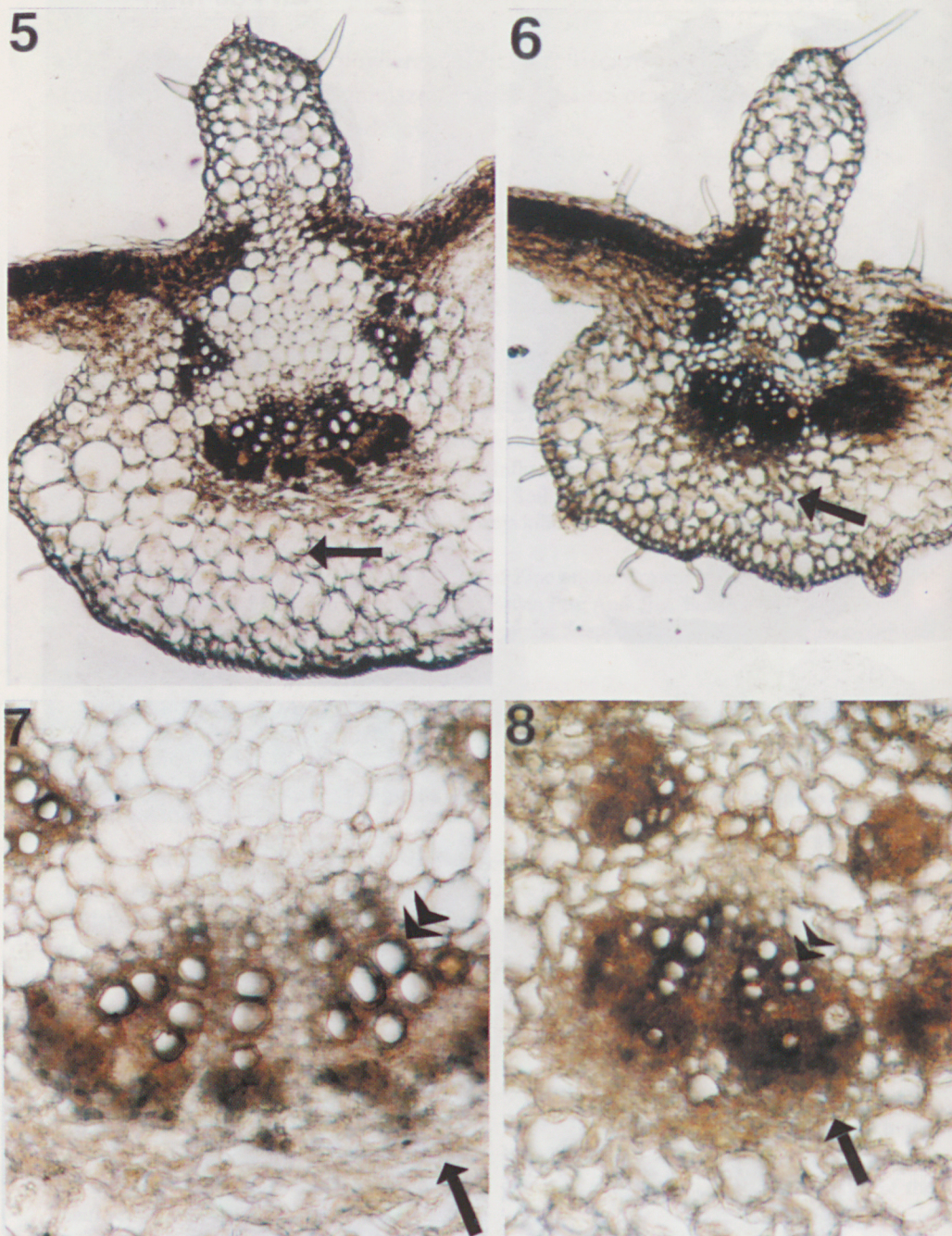
- Kastori R., Petrovic M., Petrovic N., 1992. Effect of Excess Lead, Cadmium, Copper and Zinc on Water Relations in Sunflower. Jour. Plant. Nutr. 15,11: 2429-2439.
- Kostrzewska-Kuczumow J., Weryszko-Chmielewska E., 2000a. Zmiany histologiczne w łodygach grochu (*Pisum sativum* L.) w warunkach nadmiaru cynku. Biul. Magnezol. 5,1: 30-36.
- Kostrzewska-Kuczumow J., Weryszko-Chmielewska E., (2000b). Reakcja trzech gatunków roślin uprawnych na nadmierne stężenia cynku. Biul. Magnezol.
- Kucharski J., Niklewska T. 1992. The Influence of Zinc on the Yields of Broadbean and Microbiological Activity of Soil. Polish Journ. Soil Sci. 25,1: 71-77.
- Łyszcz S., Ruszkowska M., 1991. Reakcja kilku gatunków roślin na nadmiar cynku. Pam. Puławski, Prace IUNG, 99:163-178.
- Päivöke A., 1983. The Long Term Effects of Zinc on the Growth and Development, Chlorophyll Content and Nitrogen Fixation of the Garden Pea. Ann. Bot. Fennici 20: 205-213.
- Polson D. E., Adams M. W., 1970. Differential Response of Navy Beans (*Phaseolus vulgaris* L.) to Zinc. Agronomy Journ. 62: 557-560.
- Wang Z. L., Shen C.G., Yu S. L., 1993. The Effect of Zinc Nutrition on Leaf Structure and Chloroplast Ultrastructure in Winter Wheat. Acta Agronom. Sinica 19,6: 553-557.

SUMMARY

The studies compared root and stem traits of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. 'Laura' at different zinc concentrations (0, 20, 50 mg ZnSO₄ · 7H₂O dm⁻³). Plants were grown for 21 days in water cultures. Root and stem length measurements were made after 7, 14 and 21 days of the experiment. Fresh matter weight of roots and stems was also recorded. In the first-leaf measurements, the area, fresh matter and the thickness of blade and main vein, as well as palisade and spongy parenchyma layers were taken into account. Reduction of root and stem growth rate has been proportional to the zinc concentration in the medium and to the time course. Stems showed stronger growth inhibition than roots. After 21 days, the mean stem length of bean at the highest zinc dose was 61.9% of the control and root length reached 85.5% of control plants. Significant reduction of stem (up to 42.4%) and root (up to 47.8%) fresh matter in comparison to the control was found. The leaf weight decreased more than its area. The leaf thickness was reduced at the increase of zinc dose, but leaf blade tissues displayed a stronger response than those of the main vein. Decrease of vascular bundle size in leaves as well as parenchyma cell and xylem vessel diameters was also observed.



Fot. 1. Siewki fasoli zwyczajnej odm. 'Laura' z obiektów o różnych stężeniach cynku: 0, 20, 50 mg · dm⁻³ ZnSO₄ · 7H₂O; Seedlings of common bean cv. 'Laura' at different concentrations of Zn: 0, 20, 50 mg · dm⁻³ ZnSO₄ · 7H₂O. **Fot. 2.** Liście traktowanych Zn roślin fasoli z nekrotycznymi plamami na odosiowej powierzchni blaszki liściowej; Leaves of Zn treated bean plants with necrosis on the abaxial surface of the leaf blade. **Fot. 3.** Liście fasoli zwyczajnej po zastosowaniu różnych dawek Zn. Leaves of common bean after treating of different Zn concentrations; **Fot. 4.** Korzenie fasoli wytworzone przy różnych poziomach Zn; Roots of common bean formed at different levels of Zn.



Fot. 5, 6. Przekroje poprzeczne nerwu głównego liści fasoli: 5 – rośliny kontrolnej, 6 – rośliny traktowanej Zn ($50 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$); widoczne zmniejszenie i zniekształcenie komórek parenchymy w porównaniu z kontrolą (strzałki). Mean vein cross section of bean leaves: 5 – control plant, 6 – plant treated Zn. **Fot. 7, 8.** Fragmenty nerwu głównego liści fasoli z widocznymi wiązkami przewodzącymi. 7 – rośliny kontrolnej 8 – rośliny traktowanej Zn ($50 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$); widoczne wiązki przewodzące o zredukowanej wielkości w porównaniu z kontrolą (strzałki) oraz naczynia ksylemu o znacznie zmniejszonej średnicy (głoty strzałki). Fragments of main vein of bean leaves with vascular bundles. 7 – control plant, 8 – plant treated Zn ($50 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$); visible reduction of vascular bundles dimension (arrows) and xylem vessels (head arrows) ($50 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$); visible reduction and deforming of parenchyma cells (arrows)