

WPŁYW pH W WARUNKACH STRESU KADMOWEGO NA ŁADUNEK
POWIERZCHNIOWY KORZENI JĘCZMIENIA (*HORDEUM VULGARE* L.)

Alicja Szatanik-Kloc¹, Zofia Sokołowska¹, Natalia Hrebela^{2}*

¹Institut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN, ul. Doświadczalna 4, 20-144 Lublin
e-mail: akloc@demeter.ipan.Lublin.pl

²Wydział Ekologii i Biologii, Państwowy Uniwersytet Rolniczy we Lwowie
ul. V. Velukogo 1, Dublyany, Ukraina

Streszczenie. Obiekt badawczy stanowiły korzenie jęczmienia jarego odmiany Pejas (odmiana ukraińska). Wzrost roślin odbywał się w kulturach wodnych. Wegetację prowadzono w warunkach kontrolnych, w cyklu dobowym 16/8godz. (dzień-noc), w temperaturze 23°C (dzień) i 16°C (noc), w pożywce o pH = 7. Na początku fazy krzewienia, wprowadzono do pożywki CdCl₂ w ilości 30 mg·dm⁻³ pożywki. Równocześnie obniżono pH roztworu do 4,5 (pH kontroli pozostawiono nie zmienione, równe 7). Czas inkubowania roślin wynosił 10 dni. Po tym okresie wszystkie rośliny zebrano i wyznaczono ładunek powierzchniowy korzeni, metodą miareczkowania potencjometrycznego. Do miareczkowania wykorzystano titrator Titrino 702 MS (Tetrohem). Jako titranta użyto 0,1 M·dm⁻³ roztworu zasady sodowej (NaOH) opartej na 1 M·dm⁻³ roztworze NaCl. Pod wpływem jonów kadmu całkowity, zmienny, powierzchniowy ładunek (Q) korzeni obniżył się. Zmniejszyła się również pojemność kationo-wymienna PWK (CEC). Nie odnotowano istotnych zmian w ogólnej kwasowości powierzchni badanych korzeni (śr. pK_{app}), chociaż funkcje rozkładu stałych dysocjacji pokazały wyraźny spadek frakcji pK_{app} ~5-7. Nie odnotowano istotnych różnic pomiędzy korzeniami rosnącymi przy pH 7+Cd i pH 4,5+Cd.

Słowa kluczowe: CEC, kadm, korzeń, ładunek powierzchniowy, stałe dysocjacji

WSTĘP

Kadm dla roślin jest pierwiastkiem zbędnym. Jednak pobierany jest łatwo, zarówno przez system korzeniowy jak i przez liście. Na ogół rośliny pobierają kadm

*Autorka jest stypendystą projektu Interregionalnego Centrum Edukacji w Instytucie Agrofizyki PAN w Lublinie. Projekt jest współfinansowany przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego w ramach programu sąsiedztwa Polska-Białoruś-Ukraina INTERREG IIIA/TACIS CBS 2004-2006.

wprost proporcjonalnie do zawartości w środowisku. Transport kadmu w roślinie jest stosunkowo łatwy, niemniej jednak głównie kumuluje się on w korzeniach. Zanieczyszczenie gleb kadmem jest więc istotnym zagrożeniem skażenia roślin, zwłaszcza na glebach kwaśnych. Kwaśny odczyn gleby (pH 4,5-5,5) jest czynnikiem zwiększającym fitoprzywajalność tego metalu ciężkiego (Kabata-Pendias i Pendias 1999). Warunki stresowe dla rośliny są sygnałem indukującym w jej komórkach szereg różnych procesów biochemicznych (np. zmiany pH cytoplazmy, potencjału elektrostatycznego błon komórkowych, przepływu jonów) w wyniku czego ulegają zmianom, procesy metaboliczne i transportowe, co prowadzi do utraty homeostazy komórkowej, a nawet do obumierania rośliny. Od strony fizykochemicznej za procesy pobierania przez korzeń i dalej transportu jonów odpowiada przede wszystkim zmienny ładunek powierzchniowy korzenia. Zmiany anatomiczne i biochemiczne wywołane czynnikami stresowymi prowadzą do zmian charakterystyk fizykochemicznych korzenia, które mogą przejawiać się również, zmianami charakterystyk ładunku powierzchniowego.

Celem przeprowadzonych badań było określenie wpływu kwasowości i stężenia kadmu na ładunek powierzchniowy i pojemność kationowymienną (CEC) korzeni.

MATERIAŁY I METODY

Warunki wzrost roślin

Do badań wykorzystano korzenie jęczmienia jarego odmiany Pejas. Wzrost roślin odbywał się w kulturach wodnych w pożywce według Marschnera i Remhelda (1983). Wegetację prowadzono w warunkach kontrolnych, w cyklu dobowym 16/8godz. (dzień-noc), w temperaturze 23°C (dzień) i 16°C (noc), w pożywce o pH = 7. Na początku fazy krzewienia, wprowadzono do pożywki CdCl₂ w ilości 30 mg·dm⁻³ pożywki. Równocześnie obniżono pH roztworu do 4,5 (pH obiektu kontrolnego pozostawiono nie zmienione, równe 7). Czas inkubowania roślin wynosił 10 dni. Odczyn pożywki kontrolowano, co 24 godz. Po tym okresie wszystkie rośliny zebrano. Korzenie roślin oddzielono od części nadziemnych. Zebrane korzenie przepłukano 0,01 M·dm⁻³ roztworem kwasu solnego i trzykrotnie wodą destylowaną w celu odmycia zaadsorbowanych wymiennie jonów powierzchniowych.

Pomiar krzywych miareczkowania potencjometrycznego

Pomiary krzywych miareczkowania potencjometrycznego stosowano już w badaniach ładunku powierzchniowego materiałów pochodzenia biologicznego w tym korzeni, ścian komórkowych czy liści. Interpretowano je głównie w kategoriach pojemności wymiennej kationów (CEC), a także jej zmian w wyniku zmian pH środo-

wiska. Na podstawie pomiarów krzywych miareczkowania potencjometrycznego możliwe jest określenie wielkości CEC (pojemności kationowymiennej), a także stopnia niejednorodności zmiennego ładunku powierzchniowego. Ładunek powierzchniowy opisywany jest w kategoriach reakcji dysocjacji powierzchniowych grup funkcyjnych, charakteryzowanych poprzez funkcje rozkładu stałych dysocjacji tych grup, a więc określenie względnej ilości grup o różnej mocy kwasowej (generujących różny ładunek). Względna ilość powierzchniowych grup funkcyjnych o zróżnicowanej kwasowości może ulegać zmianom pod wpływem czynników stresowych (m.in. niskie pH środowiska, stężenie metali ciężkich) (Józefaciuk i Szatanik-Kloc 2004).

Miareczkowanie potencjometryczne przeprowadzono następująco: jednakowe naważki ($0,0500 \pm 0,0001\text{g}$) korzeni (wstępnie suszonych przez 48 godzin w 30°C) zanurzono w $20\text{ ml } 1\text{ M}\cdot\text{dm}^{-3}$ roztworze NaCl na 24 godziny. Po upływie tego czasu zawiesiny doprowadzono do $\text{pH} = 2,9$ tak, aby pH nie zmieniało się przez 5 minut, po czym miareczkowano $0,1\text{ M}\cdot\text{dm}^{-3}$ roztworem zasady sodowej (NaOH) opartej na $1\text{ M}\cdot\text{dm}^{-3}$ roztworze NaCl. Do miareczkowania wykorzystano titrator Titrino 702 MS (Tetrohem). Punkty eksperymentalne rejestrowano, co $0,01\text{V}\cdot\text{ml}$ zużytej zasady. W celu uzyskania informacji o danej objętości titranta przy jednakowych pH dla wszystkich krzywych pomiarowych korzystano z autorskiego programu do interpolacji danych miareczkowania INTO307.

Proponowana metoda miareczkowania potencjometrycznego, polega na powolnym miareczkowaniu materiału badawczego w formie sprotonowanej, w zawieszynie wodnej oraz w stężonym, $1\text{ M}\cdot\text{dm}^{-3}$ roztworze NaCl. Miareczkowanie prowadzi się od $\text{pH} = 3$ do $\text{pH} = 9$. Oddzielnemu miareczkowaniu poddaje się również odpowiedni roztwór równowagowy. Jako krzywą miareczkowania roztworu równowagowego zawiesiny przyjmuje się krzywą miareczkowania $1\text{ M}\cdot\text{dm}^{-3}$ roztworu NaCl o $\text{pH} = 3$ i masie równej masie zawiesiny pomniejszonej o masę korzeni. Doświadczenie przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

Teoria

Krzywe miareczkowania potencjometrycznego interpretowano w kategoriach niejednorodności (heterogeniczności) ładunku powierzchniowego spowodowaną obecnością na powierzchni różnych grup funkcyjnych o różnych właściwościach kwasowo-zasadowych. Stopień niejednorodności zmiennego ładunku powierzchniowego określono poprzez funkcję rozkładu stałych dysocjacji (De Wit i in. 1990). Krzywą miareczkowania fazy stałej, pokazującą zależność zmian ładunku powierzchniowego od $\text{pH } \Delta Q_v(\text{pH})$ (Nederlof i in. 1993) obliczano następująco:

$$\Delta Q_v(\text{pH}) = N_{\text{susp}} - N_{\text{sol}} \quad (1)$$

gdzie: N_{susp} – ilość moli zasady skonsumowanej podczas miareczkowania zawiesiny (korzeń + roztwór), N_{sol} – ilość moli zasady skonsumowanej podczas miareczkowania roztworu równowagowego.

Wzrost ujemnego ładunku powierzchniowego fazy stałej w wyniku konsumpcji zasady podczas miareczkowania spowodowany jest zobojętnianiem protonów powierzchniowych grup funkcyjnych o charakterze kwaśnym, SOH, przez jony hydroksylowe dodanej zasady $\text{SOH} + \text{OH}^- \leftrightarrow \text{SO}^- + \text{H}_2\text{O}$.

Na powierzchni niejednorodnej może istnieć wiele różnego rodzaju grup funkcyjnych o różnej kwasowości, SOH_i . Reakcje dysocjacji poszczególnych grup mogą być opisane równaniami reakcji $\text{SOH}_i \leftrightarrow \text{SO}_i^- + \text{H}^+$

Stałe równowagi powyższych reakcji, pK_i , (stałe dysocjacji) wynoszą odpowiednio:

$$pK_i = (\text{SO}_i^-)(\text{H}^+)/(\text{SOH}_i) \quad pK_i = (\text{H}^+) \quad (2)$$

gdzie (SO_i^-) i (SOH_i) oznaczają aktywności powierzchniowe grup dysocjowanych i niezdysocjowanych, a (H^+) aktywność protonów w roztworze. Aby obliczyć rzeczywiste stałe dysocjacji, należałoby zamiast aktywności protonów w roztworze użyć ich aktywności powierzchniowej, która jest większa ze względu na elektrostatyczne przyciąganie dodatnio naładowanych protonów przez ujemnie naładowaną powierzchnię korzenia.

Stopień dysocjacji i -tych grup przy danej wartości pH, $\alpha_i(K_i, \text{pH})$, równy jest stosunkowi aktywności grup dysocjowanych do niezdysocjowanych i wynosi:

$$\alpha_i(pK_i, \text{pH}) = (\text{SO}_i^-)/(\text{SOH}_i) = pK_i[\text{p}K_i + (\text{H}_i^+)]^{-1} \quad (3)$$

Ładunek powierzchniowy pochodzący od grup rodzaju i równy jest ich ilości (N_i) pomnożonej przez stopień ich dysocjacji, natomiast ilość ładunku powierzchniowego pochodzącego z dysocjacji wszystkich grup powierzchniowych (N_i) przy danej wartości pH, $Q_v^-(\text{pH})$, jest sumą wkładów pochodzących od każdej z grup (N_i):

$$Q_v^-(\text{pH}) = \sum_{i=1}^n N_i \alpha_i(pK_i, \text{pH}) \quad (4)$$

Po podzieleniu obu stron powyższego równania przez całkowitą ilość wszystkich grup funkcyjnych (N_t) otrzymujemy:

$$Q_v(\text{pH})/N_t = \alpha_t(\text{pH}) = \sum_{i=1}^n \alpha_i(pK_i, \text{pH}) N_i/N_t = \sum_{i=1}^n \alpha_i(pK_i, \text{pH}) f(pK_i). \quad (5)$$

Z równania (5) wynika, że całkowity stopień dysocjacji powierzchni jest sumą stopni dysocjacji poszczególnych grup powierzchniowych, ważonych przez ich frakcje ($f(pK_i)$).

Równanie powyższe opisuje krzywą miareczkowania fazy stałej. Na podstawie tego równania, nawet, gdy nie znamy wartości N_t , możemy obliczyć rozkład stałych dysocjacji pozornych powierzchniowych grup funkcyjnych (pKapp). Korzystając z przybliżenia kondensacyjnego oraz stosując współrzędne logarytmiczne (Nederlof i in. 1993) mamy:

$$f(pKapp,i) = [\Delta Q(pH_{i+1}) - \Delta Q(pH_i)] / (pKapp_{i+1} - pKapp,i) \quad pKapp_i = pH_s \quad (6)$$

gdzie $pKapp = -\log pKapp$, a $pH_s = pH$ i spełniony jest warunek, że suma udziałów wszystkich grup równa jest jedności:

$$\sum_{i=1}^n f(pKapp,i) = 1 \quad (7)$$

Na podstawie znajomości wielkości odpowiednich frakcji, oblicza się średnią wartość $pKapp$ dla badanego zakresu ($pKapp_{av}$):

$$pKapp_{av} = \sum_{i=1}^n pKapp_i f(pKapp,i) \quad (8)$$

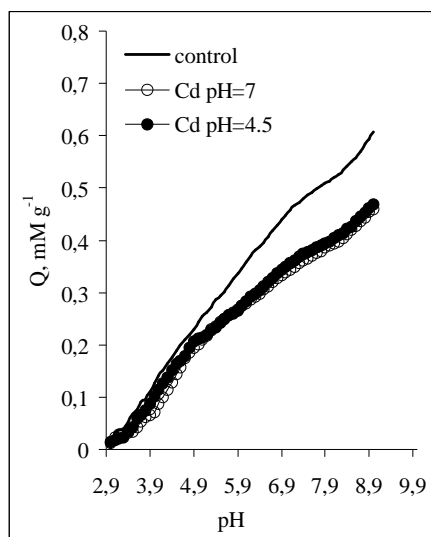
Średnia wartość $pKapp_{av}$ w badanym zakresie pKapp (od pH = 3 do pH = 9) ma bezpośredni związek ze średnią energią wiązania protonów przez powierzchnię korzenia.

Całkowita pojemność kationowymienna PKW (CEC)

Do określenia PKW (CEC) badanych korzeni, stosowano znaną z literatury metodę, (Drake i in. 1951, Smith i Wallace 1955) polegającą na miareczkowaniu zasadą KOH lub NaOH do wartości pH = 7 korzeni roślin wstępnie przemytych 0,01 M roztworem HCl a następnie kilkakrotnie wodą destylowaną. Jako wielkość PKW (CEC) przyjmuje się ilość moli zużytej zasady.

WYNIKI I DYSKUSJA

Krzywe miareczkowania potencjometrycznego dla korzeni badanych roślin przedstawiono na rysunku 1. Obecność jonów kadmu w pożywce wpłynęła na zmiany krzywych zależności ładunku od pH. Dla korzeni badanej odmiany jęczmienia całkowity ładunek powierzchniowy maleje pod wpływem jonów kadmu w pożywce. Nie odnotowano istotnych różnic w przebiegu krzywych miareczkowania potencjometrycznego, pomiędzy korzeniami stresowanymi kadmem z obniżonym odczynem pożywki i przy pH = 7 + Cd²⁺. Większość źródeł literaturowych potwierdza związek pomiędzy wzmożonym przyswajaniem kadmu przez rośliny wraz ze spadkiem pH gleby (Alcantara i in 2001, Helmy i Elgabaly 1958). Wiąże



Rys. 1. Zależność ładunku powierzchniowego badanych korzeni od pH

Fig. 1. Variable surface charge vs. pH dependencies for studied roots

wierzchniowy, PKW (CEC), pozorne stałe dysocjacji (tab. 1), czy funkcję rozkładu stałych dysocjacji (rys. 2). Niemniej jednak sama obecność fitotoksycznych stężeń kadmu w pożywce w istotny sposób wpłynęła na badane właściwości jonowymienne korzeni jęczmienia. Pod wpływem jonów Cd^{+2} całkowity zmienny ładunek powierzchniowy badanych korzeni jęczmienia zmniejszył się, podobnie jak całkowita pojemność kationowymienna (CEC).

W obronę roślin przed toksycznym działaniem metali ciężkich zaangażowane jest wiele mechanizmów mogących decydować o poziomie tolerancji danej rośliny w stosunku do określonego metalu. Z dotychczasowych badań wynika, że głównym mechanizmem obronnym roślin w stosunku do kadmu, jest detoksykacja przy udziale fitochelatyn² i akumulacja w ścianie komórkowej (Baranowska-Morek 2003). W niektórych gatunkach roślin akumulacja PCs (fitochelatyny) wyraźnie wzrasta szczególnie w korzeniach wraz ze wzrostem fitotoksycznych dawek kadmu (Wójcik i in. 2006).

Pierwszą barierą jaką napotykają metale ciężkie po wnikięciu do systemu przestworów międzykomórkowych jest ściana komórkowa. Pory w ścianie ko-

się to przede wszystkim z przechodzeniem z kompleksu sorpcyjnego gleby do roztworu glebowego (środowiska rzeczywistego korzeni roślin), form łatwo wymiennych, a więc i łatwo przyswajalnych dla roślin.

Kadm pobierany jest przez korzeń rośliny wprost proporcjonalnie do stężenia w roztworze glebowym czy pożywce (Kabata-Pendias i Pendias 1999, Wójcik i Tukiendorf 2005). Stosowany w doświadczeniu kadm w formie CdCl_2 jest formą łatwo wymienną, a więc pobieraną przez korzenie wprost proporcjonalnie do stężenia w pożywce. Dlatego też nie odnotowano wyraźnego wpływu odczynu pożywki na przebieg krzywych miareczkowania, a dalej na wielkości (liczone w oparciu o te krzywe) takie jak: ładunek po-

²Fitochelatyn są metalotiolowymi polipeptydami, zakwalifikowanymi do III grupy metalotionein (bogate w cysteinę białka o niskiej masie cząsteczkowej, wiążące metale w kompleksy).

mórkowej zbudowane są z pektyn³ i hemiceluloz zawierających kwasy galakturanowe i glukuronowe. Grupy karboksylowe pektyn uznawane są za główny czynnik decydujący o wartości PKW (CEC) (Helmy i Elgabaly 1958, Knight i in. 1961, Wagatsuma 1983). Ujemny ładunek powierzchni korzenia powstaje w wyniku dysocjacji tych grup.

Rysunek 2 przedstawia rozkład pozornych stałych dysocjacji powierzchniowych grup funkcyjnych badanych korzeni. Dla korzeni poddanych stresowi kadmowemu spadła ilość frakcji pozornych stałych dysocjacji w $pK_{app} \sim 5-7$. W trójwymiarowej strukturze apoplastu pozorne stałe dysocjacji ~ 5 charakteryzują grupy funkcyjne (głównie grupy karboksylowe) pochodzące od kwasu galakturanowego, pK_{app} ok. 6,5-7,5 to grupy karboksylowe lub fosforanowe i pK_{app} ok. 8 to grupy fenolowe (Mejczik i in. 1999). Spadek frakcji $pK_{app} \sim 5$ związany jest prawdopodobnie z blokowaniem przez jony kadmu grup karboksylowych pektyn i hemiceluloz (pK_{app} ok.7). To spostrzeżenie potwierdzałoby również zmniejszenie PKW (CEC) korzeni inkubowanych w środowisku skażonym jonami kadmu. Pod wpływem jonów Cd^{+2} zaobserwowano również spadek całkowitego zmiennego ładunku powierzchniowego. Przy czym nie odnotowano istotnych różnic pomiędzy ładunkiem korzeni rosnących przez okres 10 dni przy $pH = 7 + Cd^{+2}$ i $pH = 4,5 + Cd^{+2}$. Nie zauważono istotnych różnic w zmianach ogólnej kwasowości powierzchni badanych korzeni, charakteryzowanej przez średnie stałe dysocjacji (tab.1).

Ściana komórkowa może zatrzymywać ok. 90% pobranego metalu. Oprócz polisacharydów kwaśnych w wiązaniu metali ciężkich w ścianie komórkowej uczestniczą również białka. Metale ciężkie mogą być wiązane w apoplaste w postaci fosforanów, węglanów i krzemianów (Baranowska-Morek 2003).

Ponadto potencjalnymi ligandami jonów metali mogą być kwasy organiczne (cytrynowy, jabłkowy szczawiowy). Przypuszcza się, że w przypadku kadmu rośliny reagują zwiększonym wydzielaniem kwasu cytrynowego (Siedlecka i in. 2001). Chociaż badania na roślinach hyperkumulatorach (*Thlaspi caerulescens*) wykazały, zwiększoną produkcję kwasu jabłkowego i nie zmienioną (istotnie) zawartość kwasu cytrynowego (Wójcik i in. 2006). Być może to rodzaj, gatunek, a może i odmiana rośliny decyduje o rodzaju i ilości produkowanego kwasu w warunkach dla nich toksycznych.

Niemniej jednak są to kwasy, których stałe dysocjacji przypadają na $pK \sim 3,06$; 3,74; 5,11 i być może obserwowany na rysunku 2 pik przy $pK_{app} \sim 3-4,5$ (dla korzeni z kadmem) związany jest z obecnością któregoś, lub wszystkich w/w kwasów organicznych.

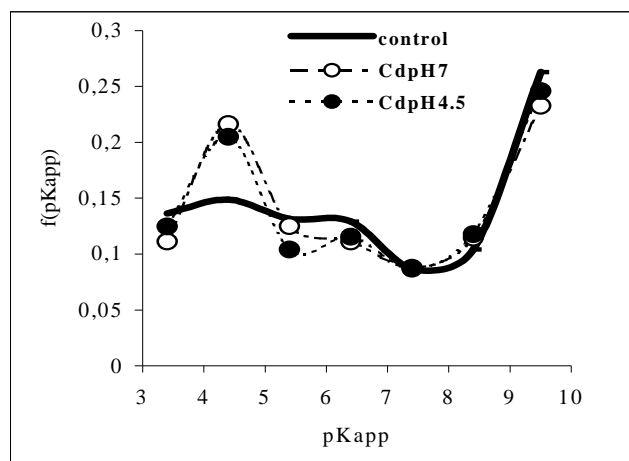
³Pektyny to reszty kwasu galakturanowego połączone wiązaniami $\alpha(1-4)$, które tworzą polisacharydy kwaśne. Ich anionowy charakter powoduje, że są one silnie uwodnione i mocno wiążą kationy.

Tabela 1.⁴ Zmiany pod wpływem kadmu: pojemności kationowymiennej (PKW), ładunku powierzchniowego (Q), średnich pozornych stałych dysocjacji (pKapp) w badanych korzeniach jęczmienia. (śr. z trzech powtórzeń, $\pm 95\%$ ufność)

Table. 1.⁴ Changes under the effect of cadmium: cation exchange capacity (CEC), surface charge (Q), average surface dissociation constants (pKapp) of studied barley roots (av. of free replicates, $\pm 95\%$ confidence)

Parametry Parameter	Kontrola + pH4,5* Control + pH4,5*	pH7+Cd ⁺²	pH4,5 + Cd ⁺²
PKW(CEC) $\mu\text{M g}^{-1}$	437 \pm 9,1	334 \pm 5,2	340 \pm 7,8
Q $\mu\text{M g}^{-1}$	595 \pm 12,5	464 \pm 6,6	468 \pm 6,5
pKapp (śr. – av.)	6,4 \pm 0,4	6,2 \pm 0,4	6,2 \pm 0,4

*Nie odnotowano statystycznie istotnych różnic pomiędzy korzeniami kontrolnymi (pH7) i rosnącymi w pH 4,5 – No statistical significant differences were obtained for control roots (pH7) and those growing at pH 4.5.



Rys. 2. Funkcja rozkładu pozornych stałych dysocjacji dla korzeni jęczmienia
Fig. 2. Distribution functions of apparent dissociation constants for barley roots

⁴t-Test (test Studenta): dwuśladowy, typ-2 – wariacje ze śr. próby nie różnią się istotnie między sobą (średnie są jednakowe w $\pm 95\%$ przedziale ufności); 1 – prawda, 0 – fałsz.

⁴t-Test (Student-T): Two-tailed, Type-2 – Variances for averages of samples do not differ significantly from themselves (averages are the same for $\pm 95\%$ of confidence interval); 1 – truth, 0 – false.

PKW (CEC)	pH7	pH7 +Cd ⁺²	pH4,5 +Cd ⁺²	Q	pH7	pH7 +Cd ⁺²	pH4,5 +Cd ⁺²
pH7	1	0	0	pH7	1	0	0
pH7+Cd ⁺²	0	1	1	pH7+Cd	0	1	1
pH4,5+Cd ⁺²	0	1	1	pH4,5+Cd	0	1	1

PODSUMOWANIE

Istnienie różnych mechanizmów tolerancji (działających najczęściej jednocześnie z różną intensywnością, zależną od wrażliwości rośliny) w stosunku do jednego metalu uniemożliwia w jednoznaczny sposób wyjaśnienie przyczyn zmian badanych właściwości fizykochemicznych. Z przeprowadzonych badań wynika jednoznacznie, że pod wpływem toksycznych stężeń jonów kadmu ($30 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$) obniżyła się zarówno pojemność jonowymienna PKW (CEC), jak i całkowity, zmienny powierzchniowy ładunek (Q) korzeni jęczmienia jarego odmiany Pejas, w początkowej fazie wzrostu.

Podziękowanie

Autorzy dziękują panu mgr inż. Krzysztofowi Kloc za napisanie programu INTO307, którym analizowano dane doświadczalne miareczkowania potencjometrycznego badanych korzeni roślin.

PIŚMIENNICTWO

- Alcantara A., Ginhaus A. M., Ojeda M. A., Benitez M. J., Benlloch M., 2001. Metal accumulation by different plant species grown in contaminated media. W.J. Horst *et. al.* (Eds.) Plant nutrition – Food security and sustainability of agro-ecosystems, 460-461.
- Baranowska-Morek A., 2003. Roślinne mechanizmy tolerancji na toksyczne działanie metali ciężkich. Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych, T. 52, Nr 2-3, 283-298.
- De Wit J.C.M., Van Riemsdijk W.H., Nederlof M.M., Kinniburgh D.G., Koopal L.K., 1990. Analysis of ion binding on humic substances and the determination of intrinsic affinity distributions. *Analitica Chimica Acta*, 232, 189-207.
- Drake M., Vengris J., Colby W., 1951. Cation-exchange capacity of plant roots. *Soil Sci.*, 72, 139-147.
- Helmy A.K., Elgabaly M.M., 1958. Exchange capacity of plant roots. I. Factors affecting the titration value. *Plant and Soil*, 1, 78-92
- Józefaciuk G., Szatanik-Kloc A., 2004. Decrease in variable charge and acidity of root surface under Al treatment are correlated with Al tolerance of cereal plants. *Plant and Soil*, 260, 137-145
- Kabata-Pendias A., Pendias H., 1999. *Biogeochemia pierwiastków śladowych*. Wydawnictwo PWN, Warszawa.
- Knight A.H., Croke W.H., Nikson R.H., 1961. Cation Exchange capacities of tissues of higher and lower plants and their related uronic acid contents. *Nature*, 192, 142-144.
- Marschner H. Remheld V., 1983. In vivo measurement of roots induced pH changes at the soil-root interface; effect of plant species and nitrogen source. *Z. Pflanzl. Physiol.*, 111, 249-254.
- Mejczik N.R., Jermakow I. P., Sawwatiewa M.W., 1999. Jonogenne Grupy ściany komórkowej korzeni pszenicy. *Fizjologia Roślin*, T. 46, Nr. 5, 742-747 (in Russian).
- Nederlof M.M., De Wit J.C., Riemsdijk W.H., Koopal L.K., 1993. Determination of proton affinity distributions for humic substances. *Environ. Sci. Technol.*, 27, 846-856.
- Siedlecka A., Tukiendorf A., Skórzyńska-Polit E., Maksymiec W., Wójcik M., Baszyński T., Krupa Z., 2001. *Angiosperms. [W:] Metals in the environment. Analysis by biodiversity*. Prasad M. N. V. (red). Marcel Dekker, Inc. New York, Hyderabad, India, 171-217.

- Smith R.L., Wallace A., 1955. Cation-exchange capacity of roots and its relation to calcium and potassium content of plants. *Soil Sci.*, 81, 97-109.
- Wagatsuma T., 1983. Characterisation of absorption sites for aluminium in the roots. *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 29, 499-515.
- Wójcik M and Tukiendorf A., 2005. Cadmium uptake, localization and detoxification in *Zea mays*. *Biology Plantarum*, 49(2), 237-245.
- Wójcik M., Skórzyńska-Polit E., Tukiendorf A., 2006. Organic acid accumulation and antioxidant enzyme activities in *Thlaspi carelessness* under Zn and Cd stress. *Plant Growth Regulation*, 48, 145-155.

EFFECT OF pH UNDER Cd-STRESS ON SURFACE CHARGE OF BARLEY (*HORDEUM VULGARE* L.)

Alicja Szatanik-Kloc¹, Zofia Sokołowska¹, Natalia Hrebelna^{2*}

¹Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin
e-mail: akloc@demeter.ipan.lublin.pl

²Department of Ecology and Biology, Lviv State Agrarian University
ul. V. Velukogo 1, Dublyany, Ukraine

Abstract. The object of research were roots of spring barley, variety Peyas (ukrainian variety). Plants growth was conducted in hydroponics, under controlled conditions, in nutrient medium with pH = 7, in the diurnal cycle of 16/8 hours (day-night), at temperatures of 20°C (day) and 16°C (night). At the beginning of the tillering stage, CdCl₂ was added to the nutrient medium, in the concentration of 30 mg dm⁻³ of nutrient medium. At the same time the pH of the solution was lowered to 4.5 (leaving the pH of the control unchanged at 7.0). Plants incubation period under stress conditions was 10 days. After that all the plants were collected and the surface charge of the roots was determined with the titration method. The titration was performed using the Titrino 702 MS titrator (Tetrohem). As the titrate 0.1 M dm⁻³ solution of NaOH was used, based on 1 M dm⁻³ NaCl solution. Under the influence of cadmium ions, the total variable charge (Q) of roots decreased, as did the cation-exchange capacity (CEC). No significant change was observed in the total acidity of the surface of the studied roots (pK_{app} av.), although the distribution functions of the dissociation constants showed a notable decrease of the expressive fraction pK_{app}~5-7. Decrease in the CEC can result in blocking of negative charge groups -COO⁻ with Cd²⁺ ions. No significant differences were observed between roots growing at pH7 + Cd and at pH4.5 + Cd.

Key words: CEC, cadmium, root, surface charge, dissociation constants

*The author wish to express their appreciation to the International Research and Education Centre in the Institute of Agrophysics PAS in Lublin. The Project is co-financed by the European Regional Development Fund within the Neighbourhood Programme Poland-Belarus-Ukraine INTERREG IIIA/TACIS CBC 2004-2006.