

#### **Komitet Redakcyjny**

Redaktor Naczelny – Józef Horabik  
Zastępca Redaktora Naczelnego – Grzegorz Józefaciuk  
Sekretarz Redakcji – Wanda Woźniak

#### **Rada Redakcyjna**

Dorota Witrowa-Rajchert – przewodniczący

Ryszard Dębicki	Jerzy Lipiec
Bohdan Dobrzański	Piotr P. Lewicki
Danuta Drozd	Stanisław Nawrocki, czł. rzecz. PAN
Franciszek Dubert	Edward Niedźwiecki
Tadeusz Filipek	Viliam Novák, Słowacja
Józef Fornal	Josef Pecen, Czechy
Jan Gliński, czł. rzecz. PAN	Jan Siewiesiuk
Eugeniusz Kamiński	Witold Stępniewski
Andrzej Kędziora	Bogusław Szot
Tadeusz Kęsik	Zbigniew Ślipek
Krystyna Konstankiewicz	Jerzy Weres
Janusz Laskowski	

#### **Opiniowali do druku**

prof. dr hab. Małgorzata Ewa Borówko  
prof. dr hab. Franciszek Dubert

#### **Adres redakcji**

Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN, Wydawnictwo  
ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, tel. (81) 744-50-61, [www.ipan.lublin.pl](http://www.ipan.lublin.pl)

**Streszczenia i pełne teksty prac dostępne są na stronie internetowej czasopisma**  
[www.acta-agrophysica.org](http://www.acta-agrophysica.org)

#### **Czasopismo jest umieszczone w następujących bazach:**

Thomson Scientific Master Journal List  
Polish Scientific Journals Contents – Life Sci.  
Biblioteka Główna i Centrum Informacji Naukowej Akademii Rolniczej w Poznaniu  
Instytut Bibliotekoznawstwa i Informacji Naukowej Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach  
Lonicera – serwis botaniczny

©Copyright by Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN, Lublin 2010

Badania częściowo wykonane w ramach Projektów Badawczych Nr 5 PO6B 051 19 i Nr N310 017 32/1297  
finansowanych ze środków na naukę w latach 2000-2002 i 2007-2010  
oraz w działalności statutowej IA PAN

**ISSN 1234-4125**

Acta Agrophysica są do nabycia w dziale Wydawnictw Instytutu Agrofizyki PAN w Lublinie. Prenumeratę instytucjonalną można zamawiać w dziale Wydawnictw Instytutu Agrofizyki PAN w Lublinie oraz w oddziałach firmy Kolporter S.A. na terenie całego kraju. Informacje pod numerem infolinii 0801-205-555 lub na stronie internetowej <http://www.kolporter-spolka-akcyjna.com.pl/prenumerata.asp>

Wydanie I. Nakład 250, egz. Ark. 9,7  
Skład komputerowy: Wanda Woźniak, Druk: ALF-GRAF, ul. Abramowicka 6, 20-391 Lublin

## SPIS TREŚCI

WYKAZ OZNACZEŃ .....	5
1. WSTĘP I CEL PRACY .....	7
2. MATERIAŁ BADAWCZY I OPIS DOŚWIADCZENIA .....	13
2.1. Wzrost roślin .....	13
2.2. Schemat przeprowadzonych badań .....	14
3. FITOTOKSYCZNY WPŁYW GLINU I MIEDZI NA BADANE ROŚLINY ....	16
3.1. Długość i średnica korzeni .....	19
3.2. Sucha masa korzeni i części nadziemnych .....	22
3.3. Zawartość wybranych makro i mikroelementów oraz glinu w roślinach ....	24
4. WŁAŚCIWOŚCI ADSORPCYJNE KORZENI .....	33
4.1. Metody adsorpcji-desorpcji w charakterystykach powierzchni korzeni .....	33
4.2. Opis metod adsorpcji-desorpcji pary wodnej i azotu stosowanych w badaniach korzeni roślin jedno i dwuliściennych .....	34
4.3. Teoretyczne podstawy wyznaczania powierzchni właściwej i energii adsorpcji z metod adsorpcyjnych .....	35
4.3.1. Powierzchnia właściwa .....	35
4.3.2. Energia adsorpcji .....	36
4.4. Właściwości powierzchniowe korzeni badanych roślin jedno i dwuliściennych .....	37
4.5. Wpływ jonów glinu na właściwości powierzchniowe korzeni .....	41
4.6. Wpływ fitotoksycznych stężeń miedzi na właściwości powierzchniowe korzeni .....	50
5. MIKROPOROWATOŚĆ KORZENI .....	58
5.1. Mikroporowatość korzeni wyznaczana metodami adsorpcyjnymi .....	58
5.2. Charakterystyka mikroporowatości korzeni badanych roślin jedno i dwuliściennych .....	60

5.3. Wpływ jonów glinu na mikroporowatość .....	62
5.4. Wpływ jonów miedzi na mikroporowatość .....	68
6. WŁAŚCIWOŚCI JONOWYMIENNE KORZENI .....	74
6.1. Metoda miareczkowania potencjometrycznego w badaniach korzeni .....	74
6.2. Opis metody miareczkowania potencjometrycznego stosowanej w badaniach i teoretyczne podstawy wyznaczania badanych wielkości .....	75
6.3. Charakterystyka właściwości jonowymiennych korzeni badanych roślin jedno i dwuliściennych .....	77
6.4. Wpływ jonów glinu na właściwości jonowymienne badanych korzeni .....	81
6.5. Wpływ jonów miedzi na właściwości jonowymienne badanych korzeni ....	87
7. PODSUMOWANIE .....	94
8. WNIOSKI .....	106
9. PIŚMIENNICTWO .....	107
10. STRESZCZENIE .....	119
11. SUMMARY .....	120

## WYKAZ OZNACZEŃ

- $a$  – ilość substancji zaadsorbowanej ( $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ),  
 $a_i$  – ilość zaadsorbowana na danych centrach adsorpcyjnych rodzaju  $i$  ( $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ),  
 $a_m$  – pojemność monowarstwy adsorbenta ( $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ),  
 $a_{m,i}$  – pojemność monowarstwy  $i$ -tych centrów adsorpcyjnych ( $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ),  
 $C$  – stała energetyczna w równaniach adsorpcji,  
 $CEC$  – pojemność wymienna kationów ( $\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),  
 $E_a$  – energia adsorpcji ( $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$ ),  
 $E_{av}$  – średnia energia adsorpcji ( $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$ ),  
 $E_c$  – energią kondensacji adsorbentu ( $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$ ),  
 $E_i$  – średnia energia adsorpcji danych centrów adsorpcyjnych ( $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$ ),  
 $f(A_i)$  – frakcja  $i$ -tych centrów powierzchniowych obliczana względem wielkości  $A$  ( $A = E, pK_{app}$ ),  
 $K_{app}$  – pozorna stała dysocjacji powierzchniowych grup funkcyjnych,  
 $K_{app\ av}$  – średnia pozorna stałych dysocjacji,  
 $L$  – liczba Avogadro ( $\text{mol}^{-1}$ ),  
 $M$  – masa cząsteczkowa ( $\text{kg}\cdot\text{mol}^{-1}$ ),  
 $N_i$  – liczba powierzchniowych grup funkcyjnych rodzaju  $i$ ,  
 $N_{r-rów}$  – ilość zasady zużytej do miareczkowania roztworu równowagowego (mol)  
 $N_{zaw}$  – ilość zasady zużytej do miareczkowania zawiesiny (mol)  
 $N_t$  – całkowita ilość kwaśnych powierzchniowych grup funkcyjnych ( $\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),  
 $p$  – ciśnienie parcjale adsorbentu ( $\text{N}\cdot\text{m}^{-2}$ ),  
 $p_0$  – ciśnienie pary nasyconej adsorbentu ( $\text{N}\cdot\text{m}^{-2}$ ),  
 $Q_v$  – wielkość zmiennego ładunku powierzchniowego ( $\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),  
 $r$  – promień mikropora (nm),  
 $r_{av}$  – średni promień mikropora (nm),  
 $R$  – uniwersalna stała gazowa ( $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ ),  
 $S$  – powierzchnia właściwa ( $\text{m}^2\cdot\text{kg}^{-1}$ ),  
 $SCD$  – gęstość ładunku powierzchniowego ( $\text{C}\cdot\text{m}^{-2}$ ),  
 $SOH$  – liczba niezdisocjowanych powierzchniowych grup funkcyjnych ( $\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),  
 $SO^-$  – liczba zdisocjowanych powierzchniowych grup funkcyjnych ( $\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),  
 $T$  – temperatura (K),  
 $x$  – iloraz  $p/p_0$ ,  
 $v_t$  – objętość mikroporów ( $\text{m}^3\cdot\text{kg}^{-1}$ ),  
 $\alpha$  – stopień dysocjacji,  
 $\alpha_i$  – stopień dysocjacji powierzchniowych grup funkcyjnych rodzaju  $i$ ,  
 $\Theta$  – stopień pokrycia powierzchni,  
 $\omega$  – powierzchnia pojedynczej cząsteczki adsorbentu ( $\text{m}^2$ ),  
 $()$  – aktywność jonów ( $\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$ ).



## 1. WSTĘP I CEL PRACY

W ciągu całego cyklu rozwojowego rośliny pobierają zarówno pierwiastki organogenne jak też te, które określamy mianem makro- i mikroelementów. W roślinach występują również pierwiastki takie, jak Cr, Cd, As czy Pb, których fizjologiczna rola nie jest dostatecznie udokumentowana, a pobierane są przez rośliny tylko dlatego, że są obecne w ich środowisku. Do takich pierwiastków należy również glin, chociaż dla niektórych roślin może on pełnić funkcję stymulującą wzrost. Odnotowano również przypadki, w których glin ograniczał pobieranie miedzi i manganu w środowisku występowania dużych ilości tych pierwiastków (Ślaski 1989, Starck 2007ab). W roślinach o rozwiniętej tolerancyjności na ten metal, niewielkie stężenia glinu mogą aktywować niektóre enzymy oraz regulować fizyczny stan koloidów plazmy (Klimashevskij 1990, Kabata-Pendias i Pendias 1999), niemniej jednak glin jest generalnie pierwiastkiem niekorzystnym dla roślin. Jony glinu są głównym czynnikiem limitującym plonowanie roślin na glebach kwaśnych (Haug i Caldwell 1985, Ulrich 1990). Jest to szczególnie istotne w warunkach Polski, gdzie gleby kwaśne stanowią około 60% powierzchni uprawnej (Boguszewski 1980, Kern 1985, Dechnik i in. 1990). W literaturze przedmiotu dobrze udokumentowana jest również szkodliwość miedzi, zwłaszcza w glebach o niskim pH (Reddy i in. 1995, Andersen i in. 1994, Kabata-Pendias i Pendias 1999, Wójcik 2000, Siedlecka i in. 2001). Problem wzrostu kwasowości podłoża i zanieczyszczenia środowiska glinem czy metalami ciężkimi od wielu lat jest przedmiotem badań. Powstało wiele opracowań, raportów i publikacji. Większość z nich dotyczy zmian w środowisku glebowym (Dębicki i in. 1994, Dechnik i in. 1990, Kotowski i Kotowska 2000, Siuta i Kucharska 1997, Qian i in. 2003). Inne prace związane są z reakcją roślin na czynniki stresowe (Yapa i in. 1986, Matsumoto 1991, Tukiendorf 1993, Pellet i in. 1995, Taylor 1998, Dahmani i in. 2000, Kochian 2001, Poschenrieder i in. 2001).

W przypadku miedzi, która jest pobierana przez rośliny jako mikroelement i wykorzystywana w roślinach do aktywacji wielu enzymów (Buchanan i in. 2000, Szwejkowska 2000, Starck 2007a) większość prac dotyczy raczej niedoboru tego mikroelementu, niż wysokiej zawartości w roślinie (Ruszkowska i Wojcieszka-Wyskupajtys 1996, Weryszko-Chmielewska 1993).

Obserwowany aktualnie wzrost toksyczności środowiska glebowego związany ze wzrostem zanieczyszczeń przemysłowych, postępującym zakwaszaniem gleby oraz intensyfikacją rolnictwa (Blake i in. 1994, Kotowski i in. 1994, Reddy i in. 1995, Kabata-Pendias i Pendias 1999, Kabata-Pendias i in. 1993, McBiride i Martinez 2000, Józefaciuk i Szatanik-Kloc 2002) prowadzi do zakłócenia wzrostu i rozwoju roślin, a także spadku ilościowego i znacznego pogorszenia jakości plonów. Większość metali ciężkich pobierana jest przez rośliny jako mikroele-

menty i wykorzystywana w reakcjach enzymatycznych. Szkodliwy wpływ na rośliny tych pierwiastków ujawnia się przy ich określonych stężeniach w roztworze glebowym (Siedlecka i in. 2001, Baranowska-Morek 2003).

Wszelkie czynniki stresowe są sygnałem indukującym w komórkach roślinnych szereg różnych procesów biochemicznych jak zmiany pH cytoplazmy, potencjału elektrostatycznego błon komórkowych czy przepływu jonów, co indukuje zmiany procesów metabolicznych i transportowych, prowadząc do utraty homeostazy komórkowej, a nawet do obumierania rośliny (Wójcik i Tukiendorf 1995, Starck 2007b). Pod wpływem stresu obserwowane są zmiany anatomiczne, morfologiczne i fizjologiczne tkanki korzeniowej (Wagatsuma i in. 1987, Maksymiec 1997, Ślaski 1994, Alcantara i in. 2001, Darco i in. 2004) prowadzące do wyraźnego zahamowania podstawowej funkcji korzenia – transportu wody i jonów (Clarkson 1991, Wagatsuma i in. 1987, Jan 1991, 1993, Klimashevskij 1990). Z punktu widzenia fizykochemii, transport wody i jonów opisują dwie wielkości: pojemność kationowymienna (*CEC*) (Mouat 1983) oraz powierzchnia właściwa (*S*) (Nye i Tinker 1977). Stres powoduje zmiany tych wielkości (Szatanik-Kloc i Bowanko 2005, 2007, Szatanik-Kloc i in. 2007a, b, Hrebelna i in. 2007).

Począwszy od lat sześćdziesiątych (Helmy i Elgabaly 1958, Knight i in. 1961, Wagatsuma 1983), za główne czynniki decydujące o *CEC* korzenia przyjęto uważać grupy karboksylowe. Ujemny ładunek powierzchni korzenia powstaje w wyniku dysocjacji tych grup. Powierzchnię korzenia stanowią apoplastyczne części komórek tworzących tkanki zewnętrzne całego systemu korzeniowego, a więc przede wszystkim komórki epidermy i kory pierwotnej. Do apoplastu zaliczamy wolne przestwory międzykomórkowe i ściany komórkowe (Tretyn 2001). Ściana komórkowa (strukturalnie) jest układem dwufazowym. Składa się z homogenicznej krystalicznej fazy mikrofibryl celulozowych i fazy amorficznej (matriks) utworzonej z polisacharydów, białek i związków fenolowych (Szwejkowska i Szwejkowski 1999, Szwejkowska 2000, Wojtaszek 2001). Rośliny różnią się składem i strukturą matriks. Przykładowo w ścianie komórkowej (typu II) roślin jednoliściennych zawartość pektyn (10% s.m.) i białek (0,5% s.m.) jest znacznie mniejsza niż w ścianach komórkowych (typu I) pozostałych roślin wyższych, u których w suchej masie pektyny stanowią 35%, a białka 5% (Wojtaszek 2001). Różnice pomiędzy trawami a innymi roślinami występują również w przypadku ilości i rodzaju dominujących hemiceluloz. W ścianach typu II dominującymi hemicelulozami są arabinoksylany (ściany pierwotne roślin jednoliściennych), glukuronoarabinoksylany (ściany wtórne u jednoliściennych) oraz  $\beta$ -3-,  $\beta$ -1,4-glukany. W ścianach pierwotnych roślin dwuliściennych dominują ksyloglukany, a w ścianach wtórnych tych roślin głównymi hemicelulozami są glukuronoksylany (Buchanan i in. 2000, Wojtaszek 2001). Gęstość upakowania celulozowych nici fibrylarnych w homogenicznej fazie ściany komórkowej, również może być

różna w zależności od ilościowego stosunku w komórce ściany pierwotnej i wtórnej. Ponadto skład i struktura ściany komórkowej ulega zmianie. Może być inna dla różnych fragmentów ścian, w różnych typach komórek, na różnym etapie rozwoju rośliny. Elementy ścian komórkowych powiązane są ze sobą wiązaniami kowalencyjnymi lub wodorowymi oraz stabilizowane działaniami jonowymi. Istotne znaczenie ma także zmienna zawartość wody i substancji mineralnych, które w zasadniczy sposób wpływają na właściwości fizykochemiczne polimerów ścian i zakres ich wzajemnego oddziaływania, który jest różny dla różnych typów ściany komórkowej.

Zatem powierzchnia właściwa korzeni roślin zależy przede wszystkim od struktury apoplastu, czyli od ilości i wielkości przestworów międzykomórkowych i właściwości ścian komórkowych. Natomiast ładunek korzenia determinowany jest ilością zdysocjowanych grup karboksylowych pektyn i protein ściany komórkowej (ujemny) oraz ilością grup aminowych protein (dodatni). Ponadto o ujemnym ładunku korzenia decydują również zdysocjowane grupy karboksylowe protein i fosforanowe fosfolipidów membran cytoplazmatycznych.

Wielkość pojemności kationowymiennej (*CEC*) korzenia jest również podstawowym fizykochemicznym wskaźnikiem tolerancji roślin na kwasowość glebową, gdyż wpływa na pobór składników mineralnych oraz na stosunek pobieranych kationów o różnej wartościowości (Brown 1955, Huffaker i Wallace 1958, Smith i Wallace 1954, 1955, 1957, Epstein i Leggett 1954). Im korzeń posiada mniejszą pojemność jonowymienną, tym mniej roślina pobiera kationów o większych wartościowościach w stosunku do tych o wartościowościach mniejszych. Rośliny dwuliścienne posiadają z reguły około dwukrotnie większą *CEC* korzeni niż rośliny jednoliścienne, pobierają więc kationy jednowartościowe we względnie mniejszych ilościach (Elgabaly i Wiklander 1959, Wiklander i Elgabaly 1956, Woodward i in. 1984). W siedliskach naturalnych, gdzie występuje istotny deficyt kationów jednowartościowych (głównie  $K^+$ ), rośliny jednoliścienne mogą eliminować rośliny dwuliścienne z populacji mieszanych (Woodward i in. 1984). Gdy istnieje niedobór jonów wielowartościowych, sytuacja odwraca się na korzyść roślin dwuliściennych (Gray i in. 1953, Amory i Dufey 1984). Może to mieć istotne znaczenie nie tylko dla ekosystemów naturalnych, ale również dla rolnictwa w stosowaniu wysiewu mieszanego, np. rośliny bobowate (motylkowe) i zboża lub inne trawy (Jasińska i Kotecki 2003). Roślina może modyfikować pojemność kationowymienną korzeni w zależności od zaopatrzenia w azot, fosfor, makro i mikroelementy, jak również pod wpływem czynników stresowych, zagęszczenia gleby, czy też zanieczyszczenia metalami ciężkimi i glinem.

Powierzchnia właściwa jest wielkością znacznie rzadziej stosowaną w fizjologii roślin, niemniej jednak jest również wykorzystywana w wielu modelach matematycznych opisujących pobieranie wody i jonów soli mineralnych przez

roślinę (Bouldin 1961, Olsen i Kemper 1968, Nye i Tinker 1977, Rinkis i Nollendorf 1982). Podobnie jak w przypadku pojemności kationowymiennej rośliny jednoliścienne i dwuliścienne mogą charakteryzować się różną wielkością powierzchni właściwej (Szatanik-Kloc 2006a, Szatanik-Kloc i in. 2009).

Stosowane dotychczas sposoby charakteryzowania zarówno całkowitej pojemności kationowymiennej (Williams i Coleman 1950, Helmy i Elgabaly 1958a,b, Heintze 1964, Morvan i in. 1979, Ritchie i Larkun 1982, Meychlik i Jermakov 2001) jak też powierzchni właściwej korzeni (Carley i Watson 1966, Dunham 1958, Bohm 1979, Ansari i in. 1995) nie biorą pod uwagę niejednorodności chemicznej i strukturalnej tkanki korzeniowej. Ponieważ praktycznie wszystkie sorbenty naturalne, w tym i korzenie roślin, są w wysokim stopniu niejednorodne (Buffle i in. 1990), dla lepszego opisu właściwości powierzchniowych korzeni, Szatanik-Kloc i Józefaciuk zastosowali metody teoretyczne, stosowane dla sorbentów heterogenicznych wykorzystując metodę odwrotnego miareczkowania potencjometrycznego do opisu ładunku powierzchniowego (Szatanik-Kloc 2000, Szatanik-Kloc i in 2001, Józefaciuk i Szatanik-Kloc 2004) oraz adsorpcji-desorpcji pary wodnej i azotu do opisu wielkości, energetyki oraz geometrii powierzchni (Szatanik-Kloc 2000, 2003a, 2006a, Szatanik-Kloc i Bowanko 2005, Szatanik-Kloc i Józefaciuk 1997, Józefaciuk i Szatanik-Kloc 2001, 2003). Te właśnie metody były zastosowane w niniejszej pracy.

Wpływ stresu na zmiany właściwości powierzchniowych i niejednorodności powierzchniowej korzeni jest dotychczas poznany w bardzo niewielkim zakresie. Pierwsze doniesienia dotyczące tego zagadnienia zawarte są w pracach pochodzących z macierzystej placówki autorki (Szatanik-Kloc 2006b, Szatanik-Kloc i Bowanko 2007, Szatanik-Kloc i Józefaciuk 2007, Szatanik-Kloc i in. 2007a,b; 2009) i dotyczą wpływu jonów glinu, cynku, ołowiu i kadmu na korzenie roślin zbożowych. Badania dotyczyły głównie zbóż jarych. Zaistniała zatem potrzeba zbadanie wpływu stresu na właściwości powierzchniowe również zbóż ozimych, a także poszerzenia badań o grupę roślin dwuliściennych, szczególnie że mogą one wykazywać znaczne różnice we właściwościach powierzchniowych korzeni. Z literatury (Amory i Dufey 1984) znany jest fakt, że rośliny dwuliścienne posiadają około dwukrotnie większą pojemność kationowymienną niż rośliny jednoliścienne. Rośliny posiadające mniejszą pojemność kationowymienną pobierają w mniejszym stopniu jony wielowartościowe, a więc charakteryzują się większą odpornością na glin, ale jednocześnie w mniejszym stopniu są zdolne do unieruchamiania w ścianie komórkowej jonów miedzi (Gliński i Lipiec 1990, Baker i Walker 1990, Ślaski 1992, Wójcik i Tukiendorf 1995). Z uwagi na szeroki zakres badań, wykorzystano tylko rośliny należące do rodziny bobowatych – *Fabaceae* (motylkowatych – *Papilionaceae*) i zboża ozime należące do rodziny wiechlinowate – *Poaceae* (trawy – *Gramineae*). Zarówno rośliny zbożowe jak i bobowate

charakteryzują się z reguły podwyższoną wrażliwością na miedź i glin (Kabata-Pendias i Pendias 1999), jak też charakteryzują się wysokim stopniem bioakumulacji tych metali, co oznacza, że mogą być źródłem szkodliwych ilości glinu i miedzi w diecie człowieka i zwierząt (Starska, 1993, Jędrzejczak i Ręczajska 1996, Nasiadek i Sapota 2004, Langauer-Lewowicka 2005).

Badania wpływu warunków stresowych na rośliny prowadzi się w środowisku naturalnym oraz w warunkach laboratoryjnych. W środowisku naturalnym szczególnie istotne są badania selekcyjne na dużych populacjach. Z uwagi na wielość czynników glebowych i klimatycznych, a także na dużą ich zmienność, metody te ograniczają możliwość wyodrębnienia zmian wywołanych tylko działaniem jednego czynnika toksycznego. Szereg badań prowadzi się zatem w szklarniach lub kulturach wazonowych czy piaskowych. W tych metodach miarą tolerancji na stres są zmiany właściwości biometrycznych roślin (masa korzeni i części nadziemnych, długość korzeni oraz ich grubość i zabarwienie). Ponadto długoterminowe kultury wazonowe stosuje się do określenia wpływu różnorodnych czynników stresowych na zawartość mikro- i makroelementów w roślinie, wielkość i jakość plonów, czy też intensywność występowania poszczególnych faz rozwoju. Największym jednak zainteresowaniem badaczy cieszą się metody kultur wodnych. Przede wszystkim dają one możliwość łatwego obserwowania systemu korzeniowego oraz pozwalają na bardzo dokładne kontrolowanie zarówno składu i odczynu pożywki, jak i innych czynników, np. natlenienia, temperatury, czy fotoperiodyzmu. W przeprowadzonych badaniach do uprawy roślin wybrano metodę hydroponiczną. Co prawda, w takich warunkach system korzeniowy roślin rozwija się odmiennie niż w warunkach glebowych (między innymi upośledzony jest proces wytwarzania włókników korzeniowych), niemniej jednak za wyborem hydroponicznej metody uprawy roślin przemawiały: łatwość kontroli warunków doświadczalnych, charakter porównawczy badań, możliwość nieniszczącego pobrania materiału korzeniowego (fitotoksyczność metali ciężkich w pierwszej kolejności wpływa na komórki merystemy wierzchołkowej korzenia, która w warunkach glebowych ulega najczęściej mechanicznemu uszkodzeniu podczas użytkowania materiału do dalszych badań). Często wyniki uzyskane w metodach laboratoryjnych nie pokrywają się z wynikami z badań polowych. Brak korelacji między powyższymi badaniami nie wskazuje jednak na błędy metodyczne. Różnice wynikają głównie z faktu współdziałania wielu czynników modyfikujących reakcję roślin w środowisku naturalnym (Blum 1988).

Rośliny jedno i dwuliścienne mogą różnić się wielkościami charakteryzującymi ich właściwości powierzchniowe. Różnie mogą również reagować (w pierwszej kolejności ich korzenie) na obecne w środowisku czynniki stresowe glin i miedź.

W niniejszych badaniach przyjęto hipotezę, że zmiany anatomiczne, morfologiczne i fizjologiczne związane z obecnością stresorów będą również wpływały na zmiany fizykochemicznych właściwości powierzchniowych korzeni roślin. Jako stresory wybrano jony glinu (pierwiastka balastowego) i miedzi (pobieranej jako mikroelement). W przypadku glinu i miedzi w pierwszej kolejności na stres narażone są korzenie roślin, zatem to one stanowiły główny materiał badawczy. Wpływ fitotoksycznych stężeń metali ciężkich i glinu na te właściwości jest stosunkowo mało poznany.

**Celem pracy było scharakteryzowanie właściwości powierzchniowych korzeni roślin jedno i dwuliściennych, a przede wszystkim zmian tych właściwości determinowanych obecnością stresorów – glinu i miedzi.**

Szczególną uwagę skupiono na zmianie powierzchni właściwej ( $S$ ) i całkowitej pojemności kationowymiennej ( $CEC$ ), czyli dwóch podstawowych fizykochemicznych wielkości charakteryzujących główną funkcję korzenia; pobieranie i transport wody oraz jonów przez korzeń rośliny.

Wykorzystane w badaniach metody adsorpcyjne oprócz wielkości powierzchni właściwej pozwoliły również na określenie wpływu glinu i miedzi na energię adsorpcji. Interpretowano ją jako funkcję rozkładu i średnią energią adsorpcji pary wodnej i azotu. Charakteryzowana energia adsorpcji jest energią oddziaływania adsorbentu (powierzchni korzeni) z adsorbentem (cząsteczki pary wodnej i azotu).

W oparciu o metody adsorpcyjne i fizyczne zjawisko kondensacji kapilarnej określono także wpływu glinu i miedzi na mikroporowatość tkanki korzeniowej, którą scharakteryzowano funkcją rozkładu mikroporów, całkowitą objętością i średnim promieniem mikroporów.

Użycie w metodzie adsorpcji-desorpcji dwóch rodzajów adsorbatów – polarnego (pary wodnej) i niepolarnego (azotu) – charakteryzujących różne centra adsorpcyjne, dało możliwość pełniejszej charakterystyki właściwości powierzchniowych i zmian tych właściwości pod wpływem stresorów w korzeniach badanych roślin jedno i dwuliściennych.

Zastosowana metoda miareczkowania potencjometrycznego, oprócz określenia  $CEC$  korzeni, pozwoliła również na zinterpretowanie zmian jonowymiennych korzeni w kategoriach całkowitego ładunku powierzchniowego ( $Q$ ), oraz scharakteryzowanie poprzez funkcję rozkładu stałych dysocjacji wpływu stresorów na liczbę powierzchniowych grup funkcyjnych o różnej mocy kwasowej, a więc generujących różny ładunek powierzchniowy. Ogólny charakter wpływu glinu i miedzi na właściwości powierzchniowe korzeni scharakteryzowano poprzez zmiany gęstości ładunku powierzchniowego ( $SCD$ ).

## 2. MATERIAŁ BADAWCZY I OPIS DOŚWIADCZENIA

Ze względu na duże zróżnicowanie (zarówno w obrębie gatunków, odmian, a nawet pojedynczych roślin) tolerancyjności roślin na podwyższone stężenie pierwiastków śladowych, trudno jest wymienić jednoznacznie rośliny w większym lub mniejszym stopniu odporne na szkodliwe ilości badanych pierwiastków. Ponieważ czynnikiem zwiększającym przyswajalność glinu i miedzi jest kwaśny odczyn podłoża, jednym z kryteriów doboru roślin w niniejszych badaniach były ich wymagania co do pH środowiska. Badania przeprowadzono na roślinach żyta (*Secale cereale* L.) ozimego odmiany Rostockie i na roślinach pszenicy (*Triticum vulgare* L.) ozimej odmiany Tonacja. Rośliny te zaliczamy do grupy roślin jednołściennych. Drugą grupę roślin wykorzystanych w badaniach stanowiły rośliny dwuliścienne reprezentowane przez łubin wąskolistny (*Lupinus angustifolius* L.) odmiany Zeus i koniczynę łąkową (*Trifolium pratense* L.) odmiany Jubilatka. Nasiona pochodziły z laboratorium oceny jakości nasion Hodowli Roślin w Smolicach. Żyto i łubin są roślinami, których wzrost i rozwój może prawidłowo przebiegać przy niskim odczynie gleby. Z reguły wysiewa się je na glebach lekkich, piaszczystych o małej zasobności w składniki pokarmowe i zwykle kwaśnym odczynie. Gleby te słabo sorbuje metale ciężkie, niemniej jednak na tych glebach już niskie stężenie metali ciężkich i glinu może działać na rośliny toksycznie. Pszenica i koniczyna do prawidłowego wzrostu i rozwoju wymagają odczynu obojętnego i gleb o wysokiej zasobności w składniki pokarmowe. Gleby te najczęściej zawierają dużo minerałów ilastych (montmorylonitu, illitu) i dużo substancji organicznej. Takie gleby sorbuje i wiążą znaczne ilości pierwiastków śladowych. Ograniczenie fitoprzyswajalności metali ciężkich na tych glebach jest jednak pozorne, wystarczy bowiem wzrost kwasowości, spadek zawartości substancji organicznych, a także zróżnicowanie flory aby zwiększyć mobilność metali ciężkich i glinu na tych glebach.

### 2.1. Wzrost roślin

Wzrost i rozwój korzeni prowadzono w hydroponice przy ściśle kontrolowanym składzie i pH pożywki, w cyklu dobowym 16/8 godzin (dzień/noc), temperaturze pomieszczenia  $23 \pm 2^\circ\text{C}$  w ciągu dnia i  $16 \pm 2^\circ\text{C}$  w nocy. Do oświetlenia roślin zastosowano lampy sodowe typu WLS 400. Natężenie światła (z jednej lampy) wynosiło  $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Pożywkę przygotowano, według zmodyfikowanej pożywki Hoaglanda (uzupełnionej o pełny zestaw mikroelementów) z następujących odczynników o stopniu czystości cz.d.a. makroelementy (w  $\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztworu pożywki):  $0,95 \text{ Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ;  $0,45 \text{ MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ;  $0,14 \text{ KH}_2\text{PO}_4$ ;  $0,51 \text{ KNO}_3$ ;  $0,21 \text{ NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  oraz mikroelementy (w  $\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$  wody destylowanej):  $3,12 \text{ NaCl}$ ;

2,83  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ; 0,28  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,10  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ; 1,10  $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ; 0,10 wersenian żelaza; 0,02  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ . Ilość roztworu sporządzonego z mikroelementów dodana do pożywki wynosiła  $1 \text{ ml} \cdot \text{dm}^{-3}$  (Marschner 1986, Starck 2007a). 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 ( $5 \text{ dm}^3$ ) wysiano około 1 g nasion roślin drobnonasiennych (koniczyna) i po 80 nasion dla pozostałych badanych roślin. Po skielkowaniu pozostawiono po 40 roślin, usuwają jednocześnie bibułę filtracyjną. Miedź (jako dodatkową aplikację) dodawano do pożywki w formie roztworu  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  w stężeniach 20, 50, 100  $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ , a glin w formie roztworu  $\text{AlCl}_3$  w stężeniach 0, 5, 10, 20, 40 i 100  $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  pożywki. W stosowanych w pracy oznaczeniach liczba przed symbolem pierwiastka (stresora) oznacza jego stężenia w  $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  pożywki. Poziom pożywki kontrolowano co 24 godziny i w razie potrzeby uzupełniano wodą destylowaną, a co 7 dni pożywkę wymieniano całkowicie. Wartość pH pożywki doprowadzana była codziennie do wartości  $\text{pH} = 7 \pm 0,2$  dla materiału kontrolnego oraz  $\text{pH} = 4,5 \pm 0,2$  dla stresu wywołanego niskim pH i obecnością badanych metali ciężkich. Odczyn pożywki regulowano za pomocą  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztworu  $\text{KOH}$  i  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztworu  $\text{HCl}$ . Różnicowanie pH i dodatek jonów glinu i miedzi stosowano po czterech tygodniach od wschodów roślin. Okres inkubacji w warunkach stresu wynosił 14 dni. Doświadczenie przeprowadzono w trzech powtórzeniach. Zebrane korzenie roślin zostały przepłukane  $0,01 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  roztworem kwasu solnego i trzykrotnie wodą destylowaną w celu odmycia zaadsorbowanych wymiennie jonów powierzchniowych (standaryzacja próbki), a następnie oddzielone od części nadziemnych.

## 2.2. Schemat przeprowadzonych badań

Na tak pozyskanym materiale przeprowadzono badania pod kątem charakterystyk biologicznych i fizykochemicznych. Dla korzeni i części nadziemnych określono suchą masę i zawartość wybranych makro i mikroelementów oraz glinu. Ponadto określono długość i średnicę korzeni. Badania fizykochemiczne wykonano na korzeniach roślin.

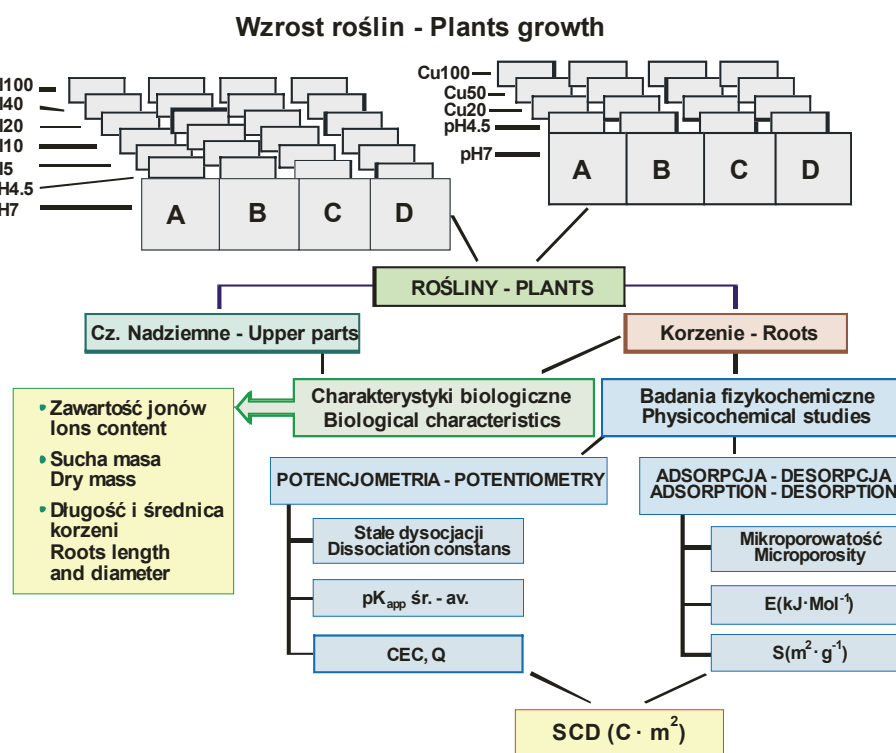
Metodą adsorpcji-desorpcji pary wodnej (adsorbat polarny) i azotu (adsorbat niepolarny) scharakteryzowano: mikroporowatość tkanki korzeniowej, funkcję rozkładu mikroporów, całkowitą objętość i średni promień mikroporów, powierzchnię właściwą ( $S$ ) oraz energię adsorpcji pary wodnej i azotu. Energię adsorpcji ( $E$ ) przedstawiono jako funkcję rozkładu centrów adsorpcyjnych o różnej

energii adsorpcji oraz jako średnią energię adsorpcji adsorbatów na powierzchni badanych korzeni.

W oparciu o metodę miareczkowania potencjometrycznego wyliczono: funkcję rozkładu stałych dysocjacji, charakteryzującą powierzchniowe grupy funkcyjne o różnej mocy kwasowej (generujące różny ładunek), średnie z pozornych stałych dysocjacji ( $pK_{app \text{ } \bar{s}r}$ ), przedstawiające ogólne zmiany kwasowości powierzchni, całkowity zmienny ładunek powierzchniowy ( $Q_v$ ) w funkcji pH i całkowitą pojemność kationowymienną ( $CEC$ ).

Z wielkości powierzchni właściwej i wielkości ładunku powierzchniowego wyliczono gęstość ładunku na powierzchni ( $SCD$ ).

Schemat przeprowadzonych doświadczeń przedstawiono na rysunku 1.



**Rys. 1.** Schemat doświadczenia: A – Żyto, B – Łubin, C – Pszenica, D – Koniczyna. Opis pozostałych oznaczeń w tekście

**Fig. 1.** Scheme of the experiment: A – Rye, B – Lupine, C – Wheat, D – Clover. Other symbols in the text above

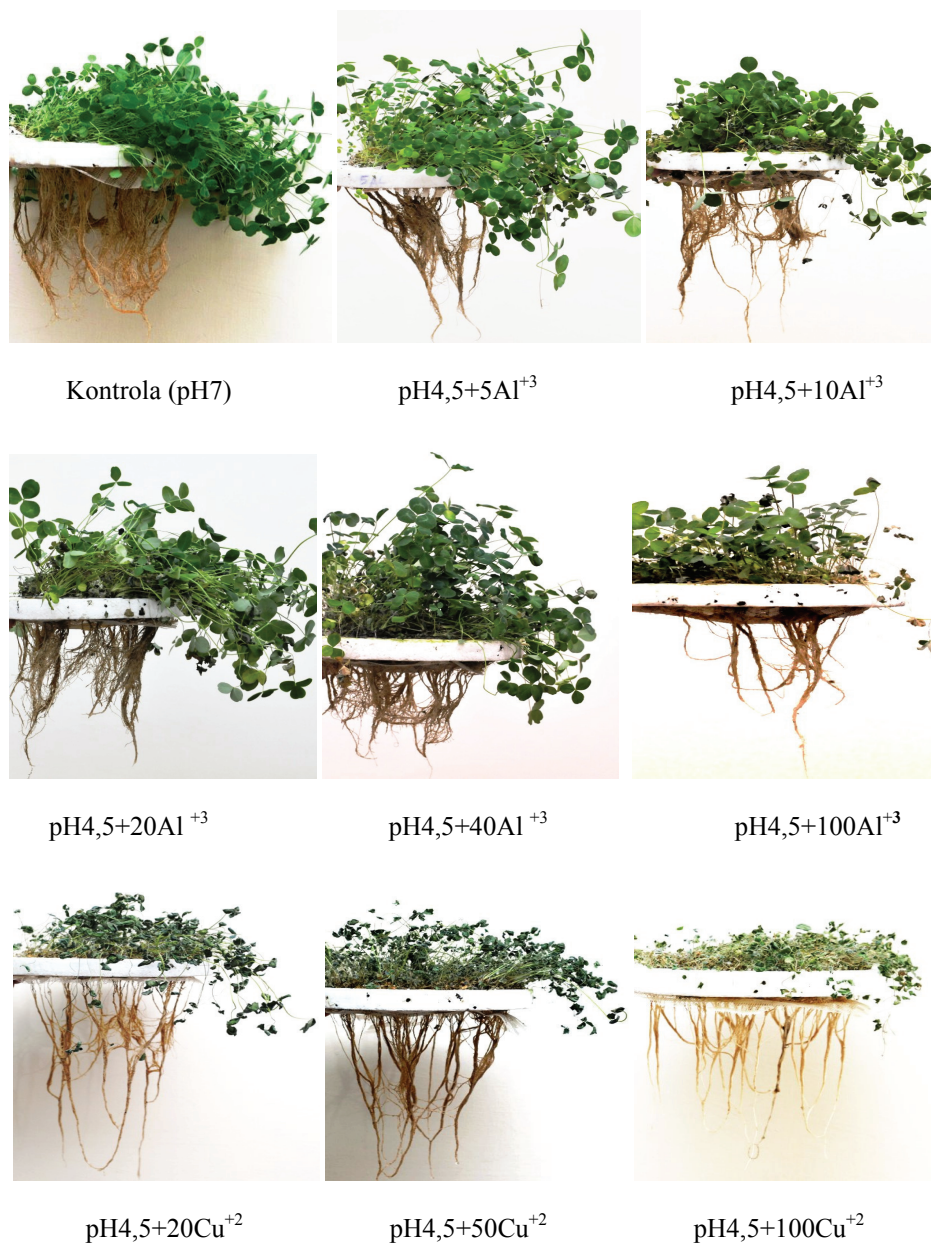
### 3. FITOTOKSYCZNY WPŁYW GLINU I MIEDZI NA BADANE ROŚLINY

W warunkach naturalnych, w ciągu całego okresu wegetacji, rośliny ciągle narażone są na stres. W znaczeniu biologicznym termin ten oznacza zarówno czynnik środowiskowy (stresor) działający na komórkę i/ lub cały organizm, jak i reakcję tego organizmu, która jest odpowiedzią na czynnik stresotwórczy, a z której wynika również stan dostosowania się organizmu do nowych warunków (Levitt 1980, Salsbury i Ross 1995, Kacperska 2007b). Innymi słowy stresorem będziemy nazywać wszystkie czynniki środowiska, które obniżają funkcje życiowe rośliny (poniżej jej potencjalnych, uwarunkowanych genetycznie możliwości) i powodują niekorzystne dla niej zmiany strukturalne. Czynniki stresowe dzielimy ogólnie na biotyczne i abiotyczne. Stres związany z fitotoksycznością glinu i miedzi należy do grupy czynników stresowych abiotycznych.

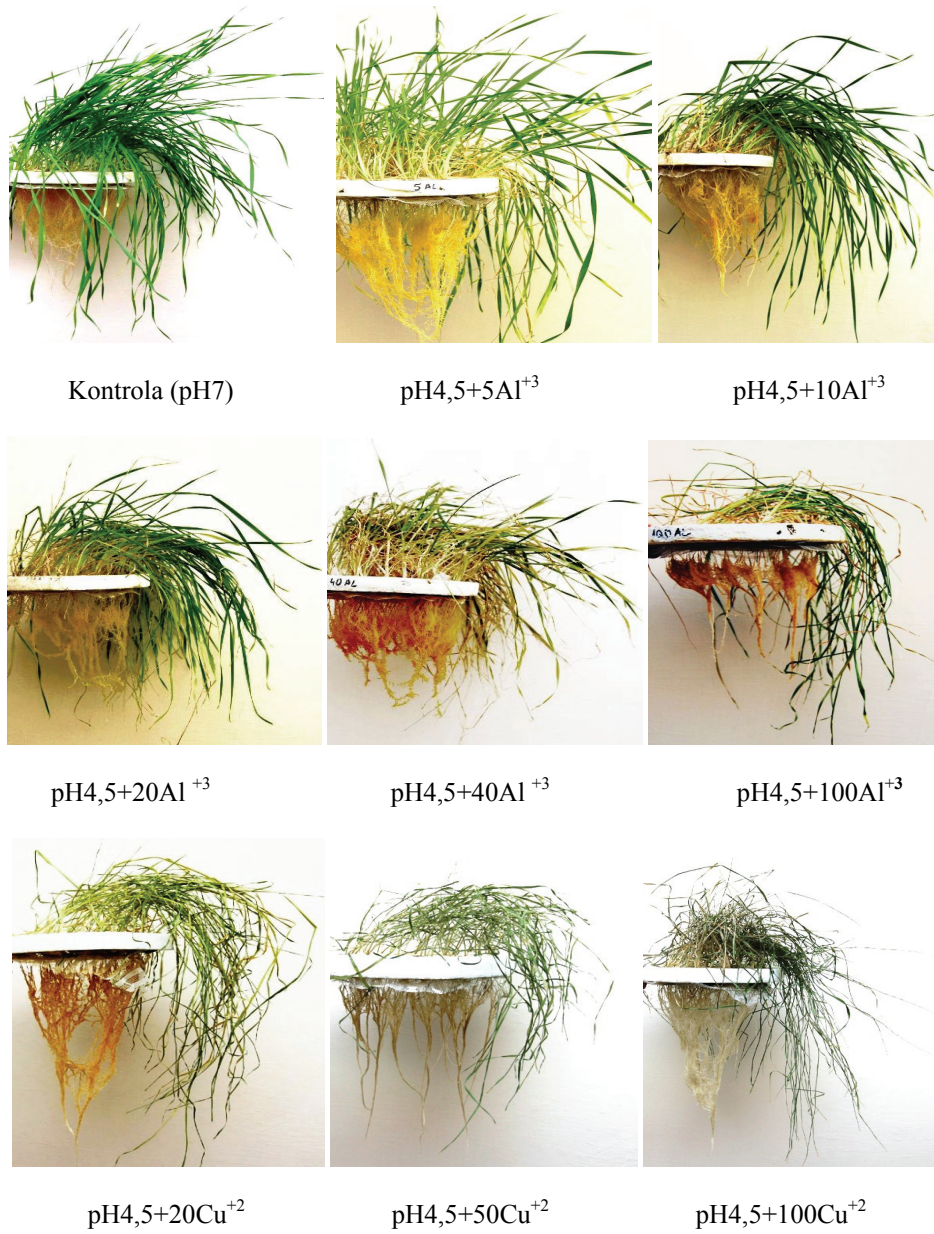
Obecność w środowisku wzrostu i rozwoju korzeni, fitotoksycznych stężeń miedzi i glinu, prowadzi do zwiększenia kumulacji tych pierwiastków w tkance roślinnej. Subletalne i letalne stężenia metali ciężkich i glinu powodują inaktywację wielu enzymów zaangażowanych w regulację metabolizmu komórek korzenia. Zakłócone zostają procesy metaboliczne i fizjologiczne roślin. Ograniczone zostają również procesy oddychania i fotosyntezy (Okhi 1986, Kabata-Pendias i Pendias 1999, Mossor-Pietruszewska 2001). Wpływa to zdecydowanie na gorszy rozwój korzeni i części nadziemnych roślin, co przykładowo przedstawiono na fotografiach 1 i 2.

Fitotoksyczne działanie jonów glinu i miedzi na system korzeniowy ma charakter pierwotny. Jednym z pierwszych objawów fitotoksycznego wpływu glinu i miedzi na rośliny jest zaburzenie rozwoju i ograniczenie wzrostu elongacyjnego korzeni (Foy 1988, Keltjens 1990, Szymańska i Molas 1996, Szatanik-Kloc 1999, Kabata-Pendias i Pendias 1999).

Zarówno glin jak i miedź kumulują się przede wszystkim w częściach wierzchołkowych korzenia (w strefie merystematycznej i wydłużania) powodując tym samym zaburzenia różnicowania się tkanki merystematycznej. Ograniczona zostaje między innymi zdolność tworzenia korzeni bocznych co również widoczne było na przykładzie korzeni łubinu stresowanego glinem (fot. 3). Toksyczny wpływ glinu i metali ciężkich na szereg procesów metabolicznych i fizjologicznych, a także na cechy anatomiczne i morfologiczne roślin wykazano w wielu badaniach poświęconych tym zagadnieniom (Wagatsuma i in. 1987b, Klimashevskij 1990, Matsumoto 1991, Wierzbicka 1995, Siedlecka i in. 2001, Gonelli i in. 2000, Józefaciuk i Szatanik-Kloc 2003). W niniejszej pracy przedstawiono niektóre reakcje roślin na badane czynniki stresowe.



**Fot. 1.** Wpływ jonów Al<sup>+3</sup> i Cu<sup>+2</sup> na rośliny koniczyny odmiany Jubilatka  
**Photo 1.** Effect of Al<sup>+3</sup> and Cu<sup>+2</sup> ions on plants of clover cv. Jubilatka



**Fot. 2.** Wpływ jonów Al<sup>+3</sup> i Cu<sup>+2</sup> na rośliny pszenicy ozimej odmiany Tonacja  
**Photo. 2.** Effect of Al<sup>+3</sup> and Cu<sup>+2</sup> ions on plants of winter wheat cv. Tonacja



**Fot. 3.** Wpływ jonów glinu na rośliny łubinu odmiany Zeus  
**Photo. 3.** Effect of aluminium ions on plants of lupine cv. Zeus

Scharakteryzowano: długość i średnicę korzeni, zmiany (pod wpływem stresorów) suchej masy korzeni i części nadziemnych oraz zawartość wybranych makro i mikroelementów i glinu w korzeniach i częściach nadziemnych badanych roślin. W badaniach wykorzystano znane i stosowane w fizjologii roślin metody.

### 3.1. Długość i średnica korzeni

Z każdego wariantu doświadczenia wybrano korzenie z trzech roślin i określono ich długość i średnicę. Korzenie umieszczano na szalkach Petriego, zalewano 0,001 M roztworem alkoholu oraz skanowano ich obraz za pomocą skanera Epson Perfection 3200 Photo. Długość oraz średnicę poszczególnych korzeni określano za

pomocą analizy obrazu programem Scan Image NIH według Kimura i in. (1999) oraz Kimura i Yamasaki (2001, 2003). Długość i średnicę korzeni przedstawiono jako średnią z trzech powtórzeń, po trzy rośliny w każdym powtórzeniu.

Pod wpływem fitotoksycznych stężeń glinu i miedzi, średnia sumaryczna długość korzeni w przeliczeniu na jedną roślinę zmniejszała się wraz z nasileniem czynników stresowych (tab. 1). W przypadku fitotoksycznych stężeń jonów glinu w pożywce, w największym stopniu zmniejszyła się sumaryczna długość korzeni koniczyny, dalej łubinu i pszenicy. Najmniejszymi zmianami sumarycznej długości korzeni stresowanych glinem w odniesieniu do korzeni kontrolnych, charakteryzowało się żyto ozime odmiany Rostockie, u którego również wystąpiły najmniejsze zmiany długości korzeni stresowanych miedzią. Najmniejszą długość korzeni inkubowanych w fitotoksycznych stężeniach miedzi, odnotowano dla badanych odmian pszenicy i koniczyny. W przypadku dodatkowej aplikacji miedzi w pożywce zmiany sumarycznej długości korzeni są znacznie mniejsze, niż w przypadku korzeni stresowanych glinem. Niemniej jednak miedź także wpłynęła na skrócenie korzeni roślin stresowanych, co również odnotowano już w literaturze (Kabata-Pendias i Pendias 1999, Kacperska 2007b). Obecność stresorów w środowisku wzrostu i rozwoju korzeni wpłynęło także na zmianę średnicy korzeni roślin stresowanych w stosunku do średnicy korzeni roślin kontrolnych (tab. 2).

**Tabela 1.** Sumaryczna długość korzeni badanych roślin stresowanych glinem i miedzią (śr. z 9 roślin  $\pm 95\%$  przedział ufności)

**Table 1.** Summary length of roots of the studied plants under aluminium and copper stress (av. of 9 plants  $\pm 95\%$  confidence intervals)

Długość Length (cm)	Żyto Rye	Pszenica Wheat	Łubin Lupine	Koniczyna Clover
pH7	207,8 $\pm$ 0,3	173,4 $\pm$ 0,2	139,6 $\pm$ 0,1	475,8 $\pm$ 2,5
pH4,5	208,1 $\pm$ 0,2	171,7 $\pm$ 0,4	138,5 $\pm$ 0,1	473,3 $\pm$ 0,3
pH4,5+5Al	192,5 $\pm$ 1,1	170,9 $\pm$ 0,4	87,5 $\pm$ 6,7	155,1 $\pm$ 0,2
pH4,5+10Al	189,1 $\pm$ 0,2	145,8 $\pm$ 1,5	59,9 $\pm$ 1,8	121,8 $\pm$ 0,2
pH4,5+20Al	176,1 $\pm$ 0,3	91,1 $\pm$ 0,2	49,2 $\pm$ 4,1	115,4 $\pm$ 3,8
pH4,5+40Al	140,8 $\pm$ 0,1	89,5 $\pm$ 0,2	51,8 $\pm$ 3,1	43,5 $\pm$ 0,1
pH4,5+100Al	139,3 $\pm$ 5,5	76,1 $\pm$ 1,2	50,3 $\pm$ 3,3	39,6 $\pm$ 0,4
pH4,5+20Cu	268,2 $\pm$ 2,7	156,8 $\pm$ 0,5	138,1 $\pm$ 0,5	460,3 $\pm$ 0,8
pH4,5+50Cu	205,5 $\pm$ 4,8	151,4 $\pm$ 1,2	129,6 $\pm$ 0,1	446,1 $\pm$ 5,2
pH4,5+100Cu	173,7 $\pm$ 0,5	116,6 $\pm$ 1,6	110,9 $\pm$ 2,0	348,1 $\pm$ 13,6

**Tabela 2.** Średnica korzeni badanych roślin stresowanych glinem i miedzią (śr. z 9 roślin ± odchylenie standartowe)

**Table 2.** Diameters of roots of the studied plants under aluminium and copper stress (av. of 9 plants ± standard deviation)

Średnica Diameter (mm)	Żyto Rye	Pszenica Wheat	Łubin Lupine	Koniczyna Clover
pH7	0,898±0,3	0,723±0,03	1,136±0,2	0,368±0,1
pH4,5	0,897±0,3	0,724±0,03	1,135±0,2	0,357±0,01
pH4,5+5Al	0,891±0,2	0,668±0,01	1,113±0,1	0,350±0,2
pH4,5+10Al	0,892±0,1	0,777±0,01	1,116±0,2	0,342±0,2
pH4,5+20Al	1,169±0,2	0,849±0,01	1,155±0,1	0,480±0,1
pH4,5+40Al	1,094±0,1	0,814±0,03	1,041±0,1	0,470±0,1
pH4,5+100Al	0,721±0,3	0,706±0,01	1,051±0,2	0,385±0,2
pH4,5+20Cu	0,876±0,5	0,621±0,05	1,131±0,01	0,343±0,1
pH4,5+50Cu	0,668±0,3	0,647±0,01	1,130±0,2	0,345±0,1
pH4,5+100Cu	0,634±0,3	0,627±0,04	1,021±0,02	0,315±0,2

Dodatkowa aplikacja jonów  $\text{Cu}^{+2}$  w pożywce zmniejszyła średnicę korzeni badanych roślin. Tendencje zmian średnicy korzeni stresowanych miedzią były podobne jak w przypadku zmian ich sumarycznej długości to znaczy, w największym stopniu zmniejszała się średnica korzeni pszenicy i koniczyny w mniejszym stopniu korzeni żyta i łubinu. Natomiast w przypadku glinu odnotowano wyraźne zwiększenie średnicy korzeni stresowanych glinem o stężeniu 20 i 40  $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  pożywki i wyraźne zmniejszenie się średnicy korzeni inkubowanych w ekstremalnych (100  $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) stężeniach glinu. Nie odnotowano wpływu obniżenia odczynu pożywki do pH 4,5 (bez stresora) na długość i średnicę korzeni. Wzrost i rozwój systemu korzeniowego jest uwarunkowaną genetycznie cechą gatunkową i odmianową. Zahamowanie wzrostu często wiąże się z wyczerpaniem w środowisku substancji odżywczych i/lub ograniczeniem dostępu tych substancji do komórek oraz akumulacją metabolitów wtórnych i inhibitorów wzrostu (Tretyn 2007). Jednym z istotnych hormonów wzrostu, stymulującym wzrost wydłużeniowy korzeni jest auksyna.

W przypadku kiedy transport auksyn przez tkanki korzenia zostanie zakłócony lub kiedy zaopatrzenie tkanek korzenia w auksyny jest większe niż możliwość ich (polarnego) transportu, auksyny przechodzą przez boczne ściany komórkowe,

co prowadzi do zwiększenia średnicy komórek i było już odnotowane w przypadku stresu glinowego (Klimashevskij 1990).

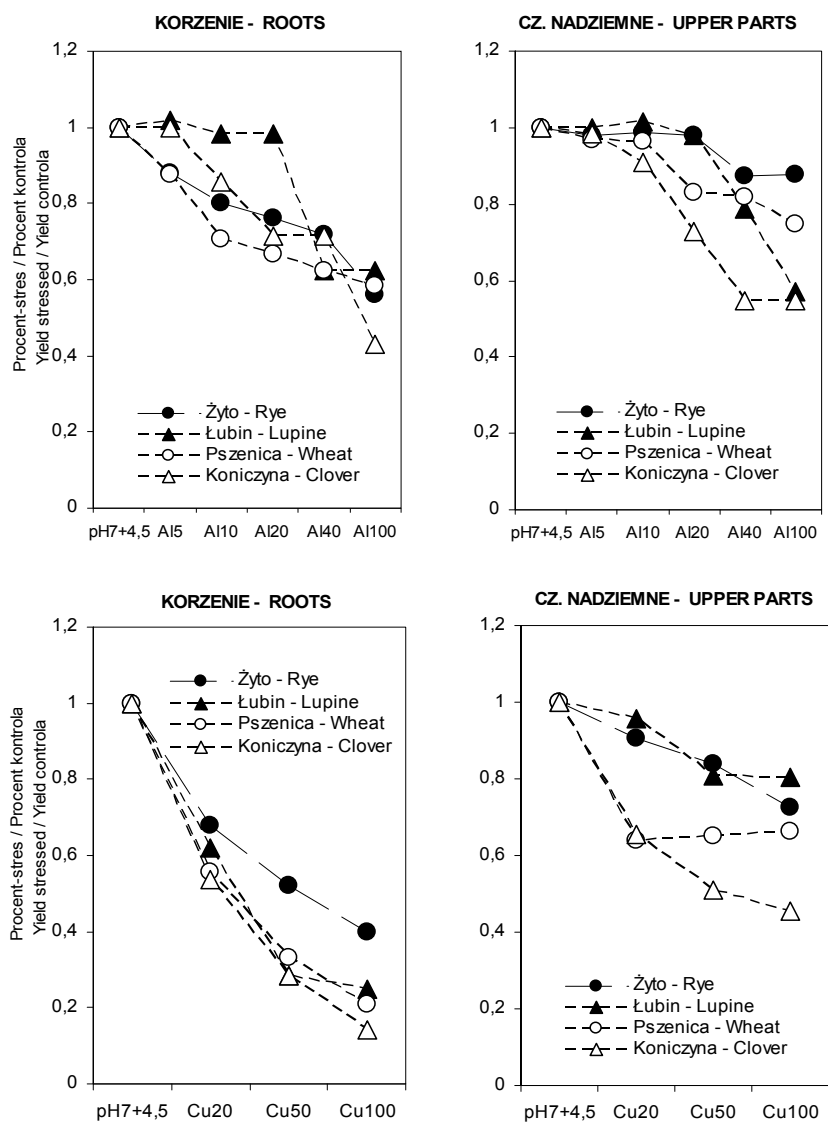
Być może więc między innymi w zmianie przewodzenia auksyn można dopatrywać się zwiększenia średnicy niektórych badanych korzeni i jednocześnie zmniejszenia ich długości. Ponadto w ostatnich latach odkryto również białka, które stymulują wydłużanie się komórek. Są to niskocząsteczkowe polipeptydy nazwane ekspansyną. Aktywność genów kodujących ekspansynę stymuluje obecność auksyn. Wykazano również, że niewielkie stężenia jonów glinu i miedzi hamują aktywność ekspansyny, zatem mogą pośrednio wpływać również na wzrost korzeni (Tretyn 2007). Na ograniczenie wzrostu i rozwoju korzeni mogą wpływać także zmiany anatomiczne związane z obecnością stresorów. Zmiany te obejmują przede wszystkim uszkodzenie tkanek w strefie merystematycznej i strefie wzrostu. Zniszczeniu w pierwszej kolejności ulegają komórki epidermy, natomiast w wewnętrznych warstwach pojawiają się zagłębienia i szczeliny sięgające kory pierwotnej. W skrajnych przypadkach nekroza endodermy prowadzi do oddzielenia się walca osiowego (Wagatsuma 1983, Matsumoto i Morimura 1980, Maksymie 1997, Kabata-Pendias i Pendias 1999, Szatanik-Kloc 1999, Józefaciuk i Szatanik-Kloc 2001). Uszkodzony i/lub słabo rozwinięty system korzeniowy ogranicza pobieranie składników pokarmowych co prowadzi do zmian biochemicznych i morfologicznych w roślinach, a te z kolei mogą być między innymi przyczyną spadku masy korzeni i części nadziemnych.

### **3.2. Sucha masa korzeni i części nadziemnych**

Dla określenia suchej masy korzeni i części nadziemnych z każdego wariantu doświadczenia wzięto po 10 roślin. Korzenie oddzielono od części nadziemnych. Następnie korzenie i części nadziemne suszono w 303 K przez 24 godziny (w celu uzyskanie tzw. powietrznie suchej masy) i przez następne 24 godziny w 378 K (w celu uzyskania suchej masy) po czym określono masę korzeni i części nadziemnych.

W badanych roślinach, pod wpływem stresu związanego z obecnością w pożywce jonów glinu i miedzi, zaobserwowano spadek suchej masy korzeni i części nadziemnych. Względne zmiany suchej masy korzeni i części nadziemnych roślin stresowanych w stosunku do roślin rosnących bez czynnika stresowego przedstawiono na rysunku 2. Otrzymane wyniki, szczególnie przy wysokich stężeniach glinu (20, 40 i 100 mg·dm<sup>-3</sup>) i praktycznie dla wszystkich stosowanych w doświadczeniu stężeń miedzi, potwierdziły szeroko omawiane w literaturze tendencje spadku masy korzeni roślin pod wpływem stresu związanego z obecnością metali ciężkich i glinu (Rees i Sidrak 1961, Alam 1981, Keltjens 1990, Kabata-Pendias i Pendias, 1999, Mantovi i in. 2003). Szczególnie negatywnie zareagowały pszenica i koniczyna, a w mniejszym stopniu żyto i łubin. Niemniej jednak

zmiany badanych wielkości (długości korzeni, ich średnicy i suchej masy) nie były statystycznie istotne.



**Rys. 2.** Zmiany suchej masy korzeni i części nadziemnych roślin stresowanych w stosunku do rosnących bez czynników stresowych

**Fig. 2.** Relative values of dry mass of the roots and upper parts of the plants. Stressed plants/control

U większości roślin intensywność wzrostu korzeni przypada na początkowe stadia rozwoju. Zatem, więc czternastodniowy stres związany z obniżeniem odczynu pożywki i toksycznym działaniem obecnych w niej stresorów po czterech tygodniach od wschodów, mógł nie wpłynąć znacząco na spadek masy korzeni czy intensywną zmianę ich długości. Zmniejszenie masy korzenia i ich wzrostu następuje głównie w wyniku zahamowania poboru wody i substancji pokarmowych. Pobieranie składników pokarmowych uwarunkowane jest zapotrzebowaniem rośliny na pierwiastki biogenne środowiska zewnętrznego. Zapotrzebowanie to zmienia się pod względem ilościowym i jakościowym w różnych okresach ontogenezy rośliny. Najintensywniejsze wchłanianie składników pokarmowych na jednostkę masy lub objętości przypada na okres kiełkowania. W tym okresie jednak roślina czerpie składniki pokarmowe głównie z tkanki zapasowej. Maksimum zapotrzebowania rośliny na makro i mikroelementy przypada na fazę kwitnienia i tworzenia ziarniaków czy nasion. Młode rośliny pobierają szczególnie dużo fosforu, następnie zwiększają zapotrzebowanie na potas, a w końcu na azot. Zapotrzebowanie na inne jony związane jest również z poszczególnymi fazami rozwoju i intensywnością zachodzących w roślinie procesów metabolizmu.

### **3.3. Zawartość wybranych makro i mikroelementów oraz glinu w roślinach**

W celu oznaczenia całkowitej zawartości wybranych mikro i makroelementów (oprócz azotu) zebrany materiał roślinny poddano mineralizacji. W parownicach kwarcowych umieszczono po 0,5 g suchego, zmielonego materiału roślinnego. Próbkę spalano na sucho w piecu muflowym FCF 12 SP w temperaturze 723 K przez 3-4 godziny. Po wyłączeniu pieca parownice pozostawiono do wystygnięcia. Następnie popiół (o barwie szarobiałej lub szarej) zwilżono odrobiną wody destylowanej. W celu rozkładu węglanów dodano 10 ml wody królewskiej (HCl i HNO<sub>3</sub> w stosunku 3:1). Ekstrakt przesączono na twardych sączkach, do kolb miarowych o pojemności 25 cm<sup>3</sup> i dopełniono wodą destylowaną do żądanej objętości. Równoległe przygotowano dwie próby kontrolne (bez popiołu) dodając do kwarcowych parownic jedynie wodę i kwas. Wykorzystując Emisyjny Sekwencyjny Spektrometr ICP D-820 Hilger Analytical (Anglia), oznaczono zawartość glinu i fosforu. Zawartość miedzi, wapnia, magnezu, żelaza i potasu oznaczono Absorpcyjnym Atomowym Spektrometrem ASA Coutraa 300/700 Analytical Jena AG. Całkowitą zawartość azotu oznaczano metodą Kieldahla.

Zarówno obniżenie wartości pH pożywki jak i obecność jonów glinu oraz wysokich stężeń jonów miedzi w środowisku wzrostu i rozwoju korzeni zmniejszyły zawartość oznaczanych pierwiastków w korzeniach i częściach nadziemnych roślin (tab. 3 i 4).

Wśród badanych roślin stresowanych glinem, zdecydowany spadek zawartości szczególnie wapnia w suchej masie roślin, zaobserwowano w łubinie odmiany Zeus i w koniczynie odmiany Jubilatka. W korzeniach tych roślin ilość wap-

nia przy wysokich stężeniach glinu (20, 40 i 100 mg·dm<sup>-3</sup>) zmniejszyła się około 6-7 razy, a w częściach nadziemnych 2-3 razy. W korzeniach pszenicy (Tonacja) i żyta (Rostockie) inkubowanych w tych stężeniach glinu, zawartość wapnia zmniejszyła się 4-5 krotnie a w częściach nadziemnych około 3-krotnie. Wyraźnemu ograniczeniu uległa też zawartość potasu, która w korzeniach i częściach nadziemnych spadła 2-3-krotnie u wszystkich badanych roślin. Stężenie magnezu w powyższych roślinach spadło od 2 do 3 razy zarówno w korzeniach jak i w częściach nadziemnych. Wszystkie badane odmiany reagowały spadkiem zawartości fosforu w częściach nadziemnych, natomiast zawartości fosforu w korzeniach były zbliżone do roślin kontrolnych (korzenie koniczyny) lub 3-krotnie wyższe w porównaniu z nimi. Prawdopodobnie wiązanie fosforu przez glin na powierzchni korzeni w wolnych przestrzeniach międzykomórkowych oraz w ścianie komórkowej jest na tyle duże, że ogólna zawartość fosforu w korzeniach jest znaczna, natomiast zahamowany jest transport fosforu do części nadziemnych rośliny. Zmniejszyła się również zawartość manganu i żelaza szczególnie w korzeniach badanych roślin. Największy spadek zawartości manganu zaobserwowano w korzeniach łubinu. Jednocześnie w miarę nasilania się czynnika stresowego, odnotowano wzrost zawartości glinu w korzeniach badanych roślin i tylko nieznaczne zwiększenie się tego metalu w częściach nadziemnych. U wszystkich badanych roślin zawartość glinu w częściach nadziemnych (bez względu na intensywność stresu glinowego) wyniosła od 0,1 do 0,2 g·kg<sup>-1</sup> suchej masy. Jedynie w przypadku koniczyny inkubowanej w stężeniu Al<sup>+3</sup> 100 mg·dm<sup>-3</sup> pożywki, zawartość glinu w częściach nadziemnych wyniosła 1,3 g·kg<sup>-1</sup> s.m. W większości badań przedstawionych w literaturze, zawartość glinu w roślinach nie jest dodatnio skorelowane z genetycznie uwarunkowaną tolerancją na ten metal. Wysoka zawartość glinu w korzeniach żyta nie musi być dla niego letalna, natomiast nieco niższe lub takie same zawartości glinu dla innych roślin mogą wywołać nieodwracalne uszkodzenia zarówno strukturalne jak i funkcjonalne (Anioł 1985a,b, 1992, Anioł i Madej 1996, Masłowski 1993).

Wiadomym jest, że w glebach kwaśnych i bardzo kwaśnych spada stężenie składników pokarmowych, przede wszystkim wapnia, magnezu i potasu oraz ich pobieranie przez rośliny. Ograniczenie poboru kationów przez rośliny w obecności podwyższonego stężenia jonów glinu stwierdzono w wielu badaniach zarówno w warunkach glebowych jak i hydroponicznych (Keltjens 1988, Filipek 1990, 1994, Filipek i Badora 1993, Badora i Filipek 1994a,b, Dechnik i in. 1990, 1991, Alva i Edwards 1990, Szatanik-Kloc 2000, 2001, 2003b). Zdaniem niektórych badaczy, ograniczenie poboru głównie Ca<sup>+2</sup>, Mg<sup>+2</sup> i K<sup>+</sup> wiąże się bądź z antagonizmem tych pierwiastków i glinu, bądź ze zmianą reakcji biochemicznych zachodzących w cytoplazmie, indukowanych obecnością jonów glinu (Kinraide i in. 1991, Linberd i in. 1991, Olivetti i Etherton 1991, Wagatsuma i in. 1995).

**Tabela 3.** Wpływ  $Al^{+3}$  na zawartość wybranych pierwiastków w badanych roślinach w  $g \cdot kg^{-1}$  suchej masy (średnie z 3 powtórzeń, odchylenia pomiędzy pomiarami nie przewyższały 20%)

**Table 3.** Effect of  $Al^{+3}$  on the content of selected elements in studied plants, in  $g \cdot kg^{-1}$  dry mass (average from 3 measurements, the deviations between individual data did not exceed 20%)

Wariant Variant	Al	Ca	Mg	Mn	Fe	K	P	N
Pszenica cz. nadz – Wheat upper parts								
pH7		3,02	5,62	0,074	0,59	46,5	2,77	32,2
pH4,5		2,94	3,85	0,071	0,39	45,7	1,97	31,9
A15	0,08	2,77	3,83	0,069	0,34	45,1	1,48	31,1
A110	0,12	2,18	3,24	0,058	0,23	44,5	1,44	30,8
A120	0,13	1,91	3,1	0,055	0,22	36,7	1,33	27,6
A140	0,14	1,77	3,06	0,039	0,21	35,7	1,12	25,1
A1100	0,21	1,76	2,96	0,028	0,21	33,3	0,79	20,4
Pszenica korzenie – Wheat roots								
pH7		5,93	4,1	0,067	8,93	24,1	2,58	25,2
pH4,5		5,91	3,26	0,624	7,61	23,9	2,41	24,5
A15	0,06	2,44	2,9	0,019	3,27	23,1	1,97	20,6
A110	32,7	2,21	2,69	0,013	2,83	20,6	2,43	19,2
A120	39,5	1,44	2,62	0,008	2,48	18,9	2,48	17,8
A140	42,5	1,33	2,58	0,007	2,27	17,5	2,53	15,6
A1100	52,2	1,27	2,27	0,006	2,92	14,3	2,58	13,9
Żyto cz. nadz – Rye upper parts								
pH7		9,11	5,09	0,12	1,57	90,6	3,33	33,6
pH4,5		8,7	4,86	0,11	1,02	90,1	3,21	32,7
A15	0,15	7,9	4,03	0,11	0,62	89,4	2,37	32,5
A110	0,17	6,6	3,87	0,09	0,61	85,3	2,26	32,2
A120	0,18	5,4	3,32	0,08	0,59	36,2	2,15	31,3
A140	0,26	4,3	3,17	0,02	0,52	35,9	2,13	31,1
A1100	0,55	4,2	2,89	0,02	0,36	31,4	2,11	20,4
Żyto korzenie – Rye roots								
pH7		8,7	7,97	0,36	3,69	19,1	1,36	24,1
pH4,5		8,1	7,12	0,07	3,57	18,9	2,17	24,2
A15	7,4	5,9	4,82	0,05	2,23	18,5	2,63	23,4
A110	11,1	4,4	2,87	0,04	1,97	18,1	3,37	22,9
A120	24,4	3,3	2,73	0,02	1,42	15,6	3,85	22,6
A140	39,8	2,9	2,42	0,02	1,21	9,82	3,94	20,2
A1100	58,7	2,4	2,25	0,01	1,03	8,41	4,11	18,1

Łubin cz. nadz – Lupine upper parts								
pH7		12,5	5,15	0,099	0,77	71,4	3,19	37,1
pH4,5		11,1	4,48	0,088	0,59	68,9	2,97	36,9
A15	0,09	10,8	4,41	0,068	0,5	58,7	2,57	35,1
A110	0,13	10,4	4,28	0,064	0,47	43,9	2,55	34,8
A120	0,16	7,7	4,19	0,061	0,44	40,6	2,03	34,6
A140	0,17	7,1	3,37	0,058	0,41	38,3	1,82	30,1
A1100	0,17	4,9	1,44	0,036	0,39	35,2	1,48	25,4
Łubin korzenie – Lupine roots								
pH7		14,2	5,81	1,02	2,63	31,5	2,01	25,1
pH4,5		14,0	4,25	0,05	2,59	30,9	2,13	24,8
A15	0,18	8,6	4,25	0,05	2,31	27,5	2,57	22,6
A110	49,03	7,2	3,69	0,036	2,02	21,8	2,91	20,2
A120	50,02	3,3	2,45	0,035	0,97	16,8	2,91	18,8
A140	52,77	1,96	2,15	0,032	0,59	13,3	2,93	17,6
A1100	57,57	1,84	2,11	0,008	0,44	11,1	5,11	15,9
Koniczyna cz. nadz – Clover Upper parts								
pH7		13,4	14,8	0,08	2,1	90,6	4,5	39,4
pH4,5		12,9	14,1	0,08	1,9	90,1	3,9	39,1
A15	0,17	8,63	13,4	0,07	1,7	89,9	2,8	38,7
A110	0,18	7,56	12,9	0,05	1,7	77,5	1,8	35,6
A120	0,22	4,73	11,7	0,05	1,7	59,2	1,8	33,8
A140	0,26	4,35	10,2	0,04	0,9	54,9	1,7	33,1
A1100	1,28	2,79	6,9	0,03	0,8	38,9	1,6	29,7
Koniczyna korzenie – Clover roots								
pH7		14,4	9,1	0,16	4,8	41,9	3,2	27,1
pH4,5		13,4	8,7	0,12	4,1	40,1	3	27
A15	0,24	7,9	7,3	0,046	3,6	39,9	2,7	26,3
A110	1,37	6,5	6,6	0,042	3,4	37,5	2,6	25,7
A120	51,1	4,5	6,3	0,034	3,3	29,2	2,5	24,8
A140	58,4	1,82	4,9	0,033	3,1	24,9	2,4	24,2
A1100	59,3	1,77	2,1	0,032	2,8	18,9	2,04	23,8

**Tabela 4.** Wpływ  $\text{Cu}^{+2}$  na zawartość wybranych pierwiastków w badanych roślinach w  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  suchej masy (średnie z 3 powtórzeń, odchylenia pomiędzy pomiarami nie przewyższały 20%)

**Table 4.** Effect of  $\text{Cu}^{+2}$  on the content of selected elements in studied plants, in  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  dry mass (average from 3 measurements, the deviations between individual data did not exceed 20%)

Wariant Variant	Cu	Ca	Mg	Mn	Fe	K	P	N
Pszenica cz. nadz – Wheat upper parts								
pH7	0,09	3,02	5,62	0,074	0,59	46,5	2,77	32,2
pH4,5	0,08	2,94	3,85	0,071	0,39	45,7	1,97	31,9
Cu 20	0,21	2,37	3,58	0,046	0,37	40,6	1,43	31,5
Cu 50	0,61	2,26	3,49	0,044	0,32	34,8	1,29	31,1
Cu 100	3,99	2,21	3,24	0,038	0,31	31,6	1,19	30,1
Pszenica korzenie – Wheat roots								
pH7	0,06	5,93	4,1	0,067	8,93	24,1	2,58	25,2
pH4,5	0,05	5,91	3,85	0,624	7,61	23,9	2,41	24,5
Cu 20	1,7	3,25	3,45	0,018	5,92	11,3	2,52	23,1
Cu 50	2,7	2,71	3,45	0,015	4,18	10,2	1,85	20,9
Cu 100	4,5	1,88	3,44	0,012	2,93	9,23	1,64	19,3
Żyto cz. nadz – Rye Upper parts								
pH7	0,12	9,11	5,09	0,12	1,57	90,6	3,33	33,6
pH4,5	0,11	9,03	4,86	0,11	1,02	90,1	3,21	32,7
Cu 20	0,97	7,24	0,84	0,015	0,92	52,1	2,41	32,1
Cu 50	1,04	7,04	0,81	0,011	0,71	49,6	2,03	30,4
Cu 100	4,11	6,7	0,63	0,004	0,59	40,6	1,23	29,2
Żyto korzenie – Rye roots								
pH7	0,27	8,7	7,97	0,36	3,69	19,1	4,11	24,1
pH4,5	0,25	8,1	7,12	0,07	3,57	18,9	3,94	24,2
Cu 20	1,66	6,1	3,55	0,016	3,35	10,5	3,31	23,5
Cu 50	3,79	4,5	3,19	0,022	2,64	9,31	2,74	22,1
Cu 100	4,81	3,9	3,12	0,031	1,35	6,81	1,61	20,2
Łubin cz. nadz – Lupine upper parts								
pH7	0,03	12,5	5,66	0,064	0,77	71,4	3,33	37,1
pH4,5	0,04	12,1	4,48	0,088	0,59	68,9	3,21	36,9
Cu 20	0,13	10,4	4,92	0,063	0,53	29,1	3,62	33,5
Cu 50	0,27	9,2	4,81	0,058	0,5	28,6	3,61	30,1
Cu 100	0,75	8,3	4,48	0,057	0,46	28,4	3,34	29,9

Łubin korzenie – Lupine roots								
pH7	0,29	14,2	5,81	0,036	2,63	31,5	5,11	25,1
pH4,5	0,3	14,0	4,25	0,05	2,59	36,9	2,13	24,8
Cu 20	5,71	8,9	5,19	0,032	2,48	13,3	2,71	23,1
Cu 50	8,94	5,9	4,96	0,025	1,02	10	1,99	21,9
Cu 100	16,46	4,9	4,35	0,024	0,94	7,3	1,81	20,3
Koniczyna cz. nadz – Clover Upper parts								
pH7	0,17	13,4	14,8	0,08	2,1	90,6	4,5	39,4
pH4,5	0,18	12,9	14,1	0,08	1,9	90,1	3,9	39,1
Cu 20	0,61	9,9	9,9	0,04	1,3	59,4	2,6	34,5
Cu 50	1,11	9,5	8,8	0,04	1,0	58,5	2,4	32,1
Cu 100	8,92	8,3	5,7	0,04	0,4	39,4	2,2	28,1
Koniczyna korzenie – Clover roots								
pH7	0,17	14,4	9,1	0,16	4,8	41,9	3,2	27,1
pH4,5	0,19	13,4	8,7	0,12	4,1	40,1	3,0	27
Cu 20	1,27	6,5	6,9	0,04	4,8	39,7	2,1	26,4
Cu 50	2,15	5,8	6,7	0,04	3,6	14,8	1,4	25,9
Cu 100	6,54	3,2	6,4	0,1	2,8	12,9	0,7	24,1

Zmienia się również potencjał elektrostatyczny membran plazmatycznych i zakłócona zostaje zdolność rośliny do zrównoważonej wymiany jonowej (Kochian 1985, Miyasaka i in. 1989, Horst i in. 1983, 1991). Kinraide i Ryan (1991) w swoich badaniach uszeregowali kationy według skuteczności ich konkurowania z jonami glinu:  $H^+ = Me^{+3} > Me^{+2} > Me^+$ . Szereg ten dla czterech kationów badanych przez Grauera i Horsta (1991) przedstawia się następująco  $H^+ \gg Ca^{+2} > Mg^{+2} \gg K^+$ . Maksimum wypierania wapnia, magnezu i potasu przez glin ma miejsce przy  $pH = 4,4 \pm 0,4$ . Zdaniem wielu autorów przy tym pH występują najbardziej toksyczne formy glinu  $Al^{+3}$  i  $AlO_4Al_{12}(OH)_{20}(H_2O)^{+7}$  potocznie nazywany  $Al_{13}$  (Alva i in. 1986, Kinraide 1989, Rengel i Elliot 1992, Rengel i Juric 1992, Wagatsuma i Ezo 1985, Wagatsuma 1987a, Parker i Bertsch 1992 a,b, Bertsch 1989, Bertsch i Parker 1996). Przy dalszym spadku pH dochodzi między innymi do protonizacji powierzchniowych grup karboksylowych, na skutek czego następuje ograniczenie zdolności korzeni do adsorpcji innych kationów (Foy 1974, 1988). Wynika to prawdopodobnie z faktu, że powierzchnie komórek roślinnych (ściana komórkowa, a także plazmalema) mają przewagę ładunków ujemnych, z większą energią wiążą więc kationy o wyższej wartościowości takie, jak  $Al^{+3}$  i  $Al_{13}$  (Taylor 1988a,b, 1998, Wagatsuma i Kaneko 1987, Kinraide i Parker 1987, 1989, Pokoj-

ska 1994). Ponadto miejsca adsorpcji  $\text{Ca}^{+2}$  (kanały jonowe) pokrywają się w dużym zakresie z miejscami wiązania glinu (Horst i in. 1991, Kochian, 1985). Od stężenia jonów wapnia zależy aktywność kalmoduliny, która tworzy aktywny kompleks Ca-kalmodulina. Kompleks Al-kalmodulina jest nieaktywny i tym samym blokuje funkcje białka jako regulatora. Ma więc pośredni wpływ na aktywność procesów metabolizmu i niedobór substancji pokarmowych (Matsumoto i Chung 1988, Ślaski 1989, 1990, Arazi i in. 2000). Obecność glinu wpływa również na dostępność anionów, głównie fosforanów (Chen i Shen 2008, Petersen i in. 1989). Tworzenie trudno rozpuszczalnych związków fosforu z glinem na powierzchni korzeni i w ich wnętrzu prowadzi do niedoboru fosforu w roślinie. Hamuje to niektóre procesy metabolizmu jak syntezę kwasów nukleinowych i aktywność enzymatyczną. Od obecności fosforu zależny jest jedyny znany enzym NAD – kinaza (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. Zdaniem Veltrupe (1983) glin wpływa bezpośrednio na enzym H-ATP-azę, ograniczając jego aktywność, a więc zmniejszając ilość protonów wydzielanych do apoplastu. W ten sposób ograniczona zostaje aktywność pompy protonowej, ważnego mechanizmu aktywnego transportu jonów przez błony cytoplazmatyczne.

Obecność fitotoksycznych stężeń jonów miedzi w środowisku wzrostu badanych roślin, wpłynęła również na zmniejszenie się zawartości wybranych mikro i makroelementów w korzeniach i częściach nadziemnych roślin (tab. 4). Podobnie jak w przypadku glinu obecność wysokich stężeń miedzi w pożywce, szczególnie istotnie wpłynęła na zmniejszenie się zawartość wapnia w roślinach. Trzy razy mniej wapnia w porównaniu z korzeniami roślin rosnących bez dodatkowej aplikacji miedzi odnotowano w korzeniach pszenicy, żyta i łubinu. W korzeniach koniczyny zawartość wapnia zmniejszyła się 5-krotnie w porównaniu z korzeniami rosnącymi bez dodatkowej aplikacji miedzi. Części nadziemne roślin stresowanych miedzią charakteryzowały się spadkiem zawartości wapnia 1,5-2 razy w porównaniu z częściami nadziemnymi roślin kontrolnych. Nadmiar miedzi w środowisku szczególnie antagonistycznie wpływa na pobieranie przez rośliny żelaza i fosforu (Kabata-Pendias i Pendias 1990, Dahmani i in. 2000). W przeprowadzonych badaniach odnotowano także zmniejszenie się zawartości żelaza około 3-krotnie w korzeniach pszenicy, żyta i łubinu i 2-krotnie w korzeniach koniczyny.

Części nadziemne tych roślin zawierały około dwa razy mniej żelaza w porównaniu z częściami nadziemnymi roślin kontrolnych. Antagonizm pomiędzy jonami miedzi i żelaza prowadzi do wtórnej chlorozy, co objawia się niedoborem chlorofilu, a dalej blednięciem i żółknięciem części nadziemnych. Zawartość

fosforu w korzeniach i częściach nadziemnych roślin jednoliściennych, stresowanych miedzią zmniejszyła się dwukrotnie. W korzeniach koniczyny i łubinu inkubowanych w dodatkowej aplikacji miedzi odnotowano trzy razy mniej fosforu. Natomiast w częściach nadziemnych koniczyny zawartość fosforu zmniejszyła się dwukrotnie i praktycznie pozostała bez zmian w częściach nadziemnych łubinu. Obniżenie zawartości fosforu w korzeniach roślin, zwłaszcza inkubowanych w fitotoksycznych stężeniach miedzi, często związane jest ze zmianą przepuszczalności błon komórkowych, zwiększających wydzielanie niektórych jonów, między innymi  $\text{PO}_4^{3-}$  i  $\text{K}^+$  (Kabata-Pendias i Pendias 1999, Poschenrieder i in. 2001, Kacperska 2007b). Zawartość innych badanych kationów, również zmniejszyła się w roślinach stresowanych w porównaniu z roślinami rosnącymi bez dodatkowej aplikacji miedzi w pożywce. Najczęściej występujące antagonizmy z miedzią to: Cu-Ca, Cu-P, Cu-Fe, Cu-Zn. W przypadku innych pierwiastków, interakcje z miedzią nie są specyficzne i często pośrednie (Kabata-Pendias i Pendias 1999, Lipoth i Schoenau 2007). Zawartość miedzi w roślinach ulega dużemu zróżnicowaniu w zależności od części rośliny i stadium jej rozwoju, a także od odmiany, gatunku i stężenia w środowisku. Dla większości roślin zawartość 20 mg miedzi na kg suchej masy jest zawartością toksyczną (Ruszkowska i Wojcieszka-Wyskupajtyś 1996, Kabata-Pendias i Pendias 1999) i tylko niektóre rośliny (drzewa cytrusowe, krzewy kawowe i herbaciane rośliny z grupy hyperkumulatorów), rosnące na terenach skażonych mogą zawierać znaczne ilości miedzi (Abratowska 2006, Antosiewicz 1992, Clemens i in. 2001, Ma i in. 2001, McBiride i Martinez 2000, Lombini i in. 2001, Wong i in. 1998). W badanych roślinach odnotowana zawartość miedzi w przeliczeniu na ich suchą masę była toksyczna.

### ***Podsumowanie rozdziału***

W oparciu o wyniki przeprowadzonych badań można stwierdzić, że w porównaniu do wpływu fitotoksycznych stężeń jonów glinu i miedzi, wpływ samych jonów wodorowych na zmiany anatomiczne w roślinie był mniejszy niż na zmiany fizjologiczne (głównie procesy metaboliczne).

Zarówno obecność jonów glinu jak i wysokich stężeń jonów miedzi w pożywce wpłynęła na zmniejszenie się długości korzeni badanych roślin. W przypadku stresu glinowego w większym stopniu zmniejszyła się sumaryczna długość korzeni roślin dwuliściennych. Przy stresie miedziowym jedną grupę (gdzie zmniejszenie długości korzeni było większe) stanowiły korzenie pszenicy i koniczyny, a drugą żyto i łubin. Podobne tendencje zaobserwowano w badaniach biometrycznych charakteryzujących zmiany średnicy korzeni stresowanych

miedzią, gdzie bardziej wyraźnie pod wpływem stresu zmniejszyła się średnica korzeni pszenicy i koniczyny. Dla tych roślin pod wpływem stresorów zmniejszyła się również w większym stopniu niż dla łubinu i żyta sucha masa korzeni i części nadziemnych. Jony glinu w stężeniach rzędu 20 i 40 mg·dm<sup>-3</sup> pożywki wpłynęły na zwiększenie się średnicy korzeni badanych roślin. Na zmiany charakterystyk biometrycznych prawdopodobnie wpłynęły przede wszystkim: maceracja tkanki korzeniowej (szczególnie uszkodzenie komórek merystemy wierzchołkowej i strefy wydłużania), zaburzenia w przewodzeniu auksyn i być może w ograniczenie aktywności ekspansyny.

Jony glinu i miedzi zatrzymywane były głównie w korzeniach badanych roślin. Charakterystyka zawartości wybranych pierwiastków wykazała przede wszystkim zdecydowane zmniejszenie się pod wpływem stresorów zawartości wapnia, szczególnie w roślinach dwuliściennych stresowanych glinem.

Z różną intensywnością zmniejszyła się również zawartość pozostałych badanych pierwiastków w roślinach stresowanych zarówno glinem jak i miedzią. Ograniczone pobieranie tych makro i mikroelementów przez roślinę wynika głównie ze zmian reakcji metabolicznych i/lub z antagonizmu pomiędzy glinem i miedzią a pozostałymi charakteryzowanymi pierwiastkami. Antagonizm ten najbardziej uwidocznił się przy wysokich stężeniach miedzi, która w optymalnych warunkach wzrostu roślin pobierana jest jako mikroelement i wykorzystywana przez rośliny (podobnie jak wiele innych mikroelementów) jako inhibitor reakcji enzymatycznych. Dlatego zaburzenia w równowadze jonowej tych pierwiastków prowadzą do utraty homeostazy komórkowej i śmierci rośliny.

Różne reakcje roślin na obecność w podłożu miedzi czy glinu, wynikają z dużego zróżnicowania ich genotypów z punktu widzenia tolerancji na skażenie środowiska. Genetycznie uwarunkowaną tolerancję na metale stwierdzono i opisano w przypadku fitotoksycznych stężeń glinu, cynku, miedzi, arsenu (Anioł 1980, 1983, 1985a,b, 1989, 1990, 1995, Anioł i Kączkowski 1979, Anioł i Madej 1996, Gustawson i Ross 1990, Wierzbička 1995, Schat i Vooijs 1997, Gonelli i in. 2001, Kochian 2001, Van Hoof i in. 2001). Od tolerancji lub wrażliwości roślin zależeć będzie stopień ich destrukcji pod wpływem stresorów, a także obecność mechanizmów obronnych, a to z kolei będzie miało niewątpliwie odzwierciedlenie w zmianach właściwości fizykochemicznych korzeni roślin.

#### 4. WŁAŚCIWOŚCI ADSORPCYJNE KORZENI

##### 4.1. Metody adsorpcji-desorpcji w charakterystykach powierzchni korzeni

Metoda adsorpcji-desorpcji z wykorzystaniem adsorbatów: polarnego – pary wodnej oraz niepolarnego – azotu, jest dość często stosowana do badań wielu procesów i zmian zachodzących w fazie stałej różnych sorbentów naturalnych. Izoterma adsorpcji jest funkcją charakteryzującą ilość wiązanego gazu lub pary (adsorbatu) przez ciało stałe (adsorbent) przy wzroście stężenia (ciśnienia) adsorbentu w stałej temperaturze. Izoterma desorpcji jest analogiczną funkcją określaną podczas obniżania stężenia adsorbentu. Metody adsorpcji-desorpcji pary wodnej i azotu znalazły szerokie zastosowanie w badaniach gleb, minerałów, materii organicznej (Chiou i in. 1990, Petersen i in. 1996, Józefaciuk 1998, Józefaciuk i in. 1993, Matyka-Sarzyńska i Sokołowska 2005, Pachepsky i in. 1995, Sokołowska 1989, Sokołowska i Matyka-Sarzyńska 2002, Sokołowska i in. 2004). Pomiar adsorpcji-desorpcji najczęściej przeprowadza się w oparciu o Polską Normę PN-Z-19010-1(1997).

Ponieważ korzenie roślin są dość specyficznym materiałem badawczym procedura pomiarów, a szczególnie etap przygotowania próbki wymagały szczegółowych badań metodycznych, które przedstawiono w pracach Szatanik-Kloc (2000, 2003a, 2006a). Jednym z wymogów metody pomiarów izoterm adsorpcji-desorpcji jest usunięcie z adsorbentów wody, co osiąga się najczęściej w procesie wstępnego suszenia adsorbentów w temperaturze 378 K przez 24 godziny. W fizjologii roślin jest to również temperatura, przy której otrzymujemy tzw. suchą masę, czyli usuwamy wodę nie związaną chemicznie (Zurzycki i Michniewicz 1990). Niemniej jednak tak drastyczny proces suszenia korzeni może powodować nieodwracalne zmiany badanego materiału korzeniowego (między innymi denaturację białek i zmiany strukturalne związków organicznych) i w konsekwencji wpływać na zmiany właściwości adsorpcyjnych tkanki korzeniowej. Potwierdza to fakt, że zarówno izotermy adsorpcji wyznaczone przy użyciu adsorbentu polarnego (pary wodnej), jak i niepolarnego (azotu), dla korzeni wstępnie suszonych w temperaturze 303 K przebiegają wyżej niż izotermy dla korzeni wstępnie suszonych w temperaturze 378 K. Do badań należy suszyć korzenie roślin w łagodniejszych warunkach (w temperaturze 303 K przez 48 godzin).

W przeciwieństwie do wielu adsorbentów nieorganicznych, stopień rozdrobnienia materiału korzeniowego nie wpływa istotnie na przebieg izoterm. Izotermy adsorpcji dla korzeni całych usytuowane są nieco niżej niż te dla korzeni rozdrobnionych. Natomiast izotermy adsorpcji dla korzeni ciętych i mielonych różnią się stosunkowo nieznacznie. Brak wpływu stopnia rozdrobnienia na izotermy adsorpcji może być związany z faktem, że wyjściowe powierzchnie korzeni są

stosunkowo duże i ewentualne różnice wynikające z rozdrobnienia adsorbenta są niewielkie w stosunku do całej powierzchni. Brak znaczącego wpływu stopnia rozdrobnienia korzeni na przebieg izoterm adsorpcji-desorpcji pary wodnej i azotu, a co za tym idzie i na badane wielkości fizykochemiczne sugeruje, aby w badaniach wykorzystywać korzenie cięte uzyskując tym samym materiał badawczy wysoce homogeniczny. Jednocześnie daje to możliwość badania wierzchołków korzeni, a więc przede wszystkim tkanek merystemy wierzchołkowej i strefy wydłużania, które najintensywniej reagują na czynniki stresowe środowiska.

Osiągnięcie równowagi adsorpcyjnej jest dłuższe dla korzeni roślin niż dla większości adsorbentów nieorganicznych, jednakże standardowy 48-godzinny czas ustalania równowagi w pomiarach adsorpcji pary wodnej jest wystarczający za wyjątkiem pierwszego punktu pomiarowego (przy najniższej prężności adsorbentu korzenie należy dosuszać nad stężonym kwasem siarkowym co najmniej przez 4 doby). Czas ustalania równowagi adsorpcji azotu jest w metodzie instrumentalnej kontrolowany automatycznie.

#### **4.2. Opis metod adsorpcji-desorpcji pary wodnej i azotu stosowanych w badaniach korzeni roślin jedno i dwuliściennych**

Korzenie badanych roślin wstępnie suszono przez 48 godzin w temperaturze 303 K. Następnie materiał korzeniowy rozdzielono na dwie części. Jena część badanych korzeni wykorzystano w metodzie adsorpcji-desorpcji pary wodnej, drugą część w metodzie adsorpcji-desorpcji azotu.

Pomiar izoterm adsorpcji-desorpcji pary wodnej przeprowadzono w temperaturze  $293 \pm 0,1$  K. Korzenie badanych roślin umieszczono w naczynkach wagowych (masa próbki  $0,3 \pm 0,001$  g) w komorze próżniowej nad stężonym kwasem siarkowym i ważono co 24 godziny, aż do momentu uzyskania stałej wagi (masa próbek nie zmieniała się co najmniej przez kolejne trzy dni). Następnie postępowano zgodnie z procedurą zalecaną przez Polską Normę PN-Z-19010-1. Naczynka wagowe wraz z korzeniami umieszczono w próżni nad roztworami kwasu siarkowego o kolejno malejącej gęstości (adsorpcja), a następnie o kolejno wzrastającej gęstości (desorpcja). Po 48 godzinach pobytu w komorze określano masę próbek poprzez ważenie ich oraz równowagową względną prężność pary wodnej w komorze  $p/p_0$ , poprzez pomiary gęstości kwasu siarkowego. Ilość zaadsorbowanej pary wodnej przy danym  $p/p_0$  obliczano z różnicy masy próbki ważonej przy danym  $p/p_0$  i suchej masy danej próbki, określanej po zakończeniu pomiarów, po 24 godzinach suszenia próbek w temperaturze 378 K. Pomiar izoterm adsorpcji-desorpcji pary wodnej przeprowadzono w trzech powtórzeniach. Różnice pomiędzy izotermami z kolejnych powtórzeń nie przekraczały 5%, czyli dopuszczalnego błędu pomiarowego metody.

Izotermy adsorpcji-desorpcji azotu wyznaczano w temperaturze wrzenia ciekłego azotu przy wykorzystaniu firmowego aparatu Sorptomatic 1990 firmy CE FISOONS i programu Milestone 200. Wstępnie suszony w 303K przez 48 godzin materiał korzeniowy o masie  $0,3 \pm 0,001$  g przeniesiono do biurety pomiarowej i poddano procesowi odgazowywania do momentu osiągnięcia próżni. Biuretę pomiarową z próbką umieszczono w łaźni z ciekłym azotem i przeprowadzono analizę adsorpcji, a następnie desorpcji azotu.

### 4.3. Teoretyczne podstawy wyznaczania powierzchni właściwej i energii adsorpcji z metod adsorpcyjnych

Do opisu danych doświadczalnych adsorpcji-desorpcji zastosowano najczęściej używany model BET (Ościk 1983). Model ten zakłada tworzenie się wielocząsteczkowych warstw adsorpcyjnych bez wakatów i w postaci liniowej wyraża się równaniem:

$$y/a = 1/(a_m C) + x(C - 1)/(a_m C) \quad (1)$$

gdzie:  $y = x/(1-x)$ ,  $x = p/p_0$ ,  $p_0$  (Pa) jest ciśnieniem pary nasyconej w temperaturze pomiaru  $T$  (K),  $a$  ( $\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ) jest ilością adsorbentu (pary wodnej lub azotu) zaadsorbowanego przy danym ciśnieniu pary  $p$  (Pa),  $a_m$  ( $\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ) jest statystyczną pojemnością monowarstwy,  $C = \exp[(E_a - E_c)/RT]$  jest stałą zależną od energii adsorpcji  $E_a$  ( $\text{J} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) oraz energii kondensacji  $E_c$  ( $\text{J} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) adsorbentu, a  $R$  ( $\text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ ) jest stałą gazową.

#### 4.3.1. Powierzchnia właściwa

Na podstawie równania BET, dla danych desorpcji z zakresu względnych ciśnień adsorbentu  $p/p_0$  pomiędzy 0,5-0,35 wyznaczono statystyczną pojemność monowarstwy ( $a_m$ ), w oparciu o którą wyliczono powierzchnię właściwą  $S$ :

$$S = L \cdot \omega \cdot a_m / M \quad (2)$$

gdzie  $\omega$  jest powierzchnią zajmowaną przez jedną molekułę adsorbentu (wody lub azotu),  $L$  ( $\text{mol}^{-1}$ ) liczbą Avogadro,  $M$  ( $\text{kg} \cdot \text{mol}^{-1}$ ) masą cząsteczkową adsorbentu,  $a_m$  pojemnością monowarstwy ( $\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ).

**POWIERZCHNIĘ WŁAŚCIWĄ** możemy zdefiniować jako rzeczywistą, biorącą udział w adsorpcji powierzchnię adsorbentu, przypadającą na jednostkę masy, którą należy traktować jako względną wielkość powierzchni adsorbentu i rozumieć jako powierzchnię adsorbentu z jej nieregularnościami o wymiarach większych lub porównywalnych z wielkościami cząstek adsorbentu (Ościk 1983).

Teoria adsorpcji BET wyprowadzona była dla adsorbentów o wyraźnej granicy pomiędzy procesem adsorpcji a absorpcji. Dla adsorbentów organicznych granica ta jest trudna od oznaczenia. Dlatego też Chiou i współautorzy (1990) zaproponowali w przypadku adsorbentów organicznych stosowanie zamiast terminu **surface area** (powierzchnia właściwa) terminu **apparent surface area (pozorna powierzchnia właściwa)** dla powierzchni oznaczanych polarnym adsorbentem (parą wodną) i terminu **free surface area (swobodna powierzchnia właściwa)** dla powierzchni oznaczanych azotem.

#### 4.3.2. Energia adsorpcji

Niejednorodność energetyczną badanych adsorbentów wyznaczono z danych eksperymentalnych adsorpcji na podstawie teorii adsorpcji na powierzchniach heterogenicznych (Jaroniec i in. 1975, Jaroniec i Brauer 1986, Józefaciuk i Shin 1996a, Sokołowska i in 1999). Według tych teorii, adsorpcje na powierzchniach heterogenicznych przy danym ciśnieniu adsorbentu, można przedstawić jako sumę adsorpcji na różnych lokalnych centrach adsorpcyjnych o różnej energii adsorpcji.

Niejednorodność energetyczną charakteryzuje funkcja rozkładu energii adsorpcji, pokazująca względny udział (frakcje) poszczególnych centrów adsorpcyjnych w całkowitej powierzchni adsorbenta w zależności od wartości energii. Funkcję rozkładu energii adsorpcji obliczono za pomocą następującej formuły:

$$f(E_i) = [(1 - x_{i+1})^{-1} \Theta_1(E_{i+1}) - (1 - x_i)^{-1} \Theta_1(E_i)] / (E_{i+1} - E_i) \quad (3)$$

gdzie  $x_i$  = dane  $p/p_0$ ,  $x_{i+1}$  – kolejna wartość  $p/p_0$ , izoterma lokalna  $\Theta_1 = a(p/p_0)/a_m$ ,  $a$  – ilość zaadsorbowanego adsorbentu przy danym  $p/p_0$  i  $a_m$  ( $\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ) – statystyczna pojemność monowarstwy,  $E_i = E_{a,i} - E_c$  jest energią adsorpcji i-tych centrów adsorpcyjnych oraz  $E_{i+1}$  kolejna frakcja. Energia adsorpcji związana jest z ciśnieniem adsorbentu w sposób:

$$\exp(E_i/RT) = (p/p_0)^{-1} \quad (4)$$

Funkcja  $f(E_i)$  musi spełniać warunek normalizacji,  $\sum f(E_i) = 1$

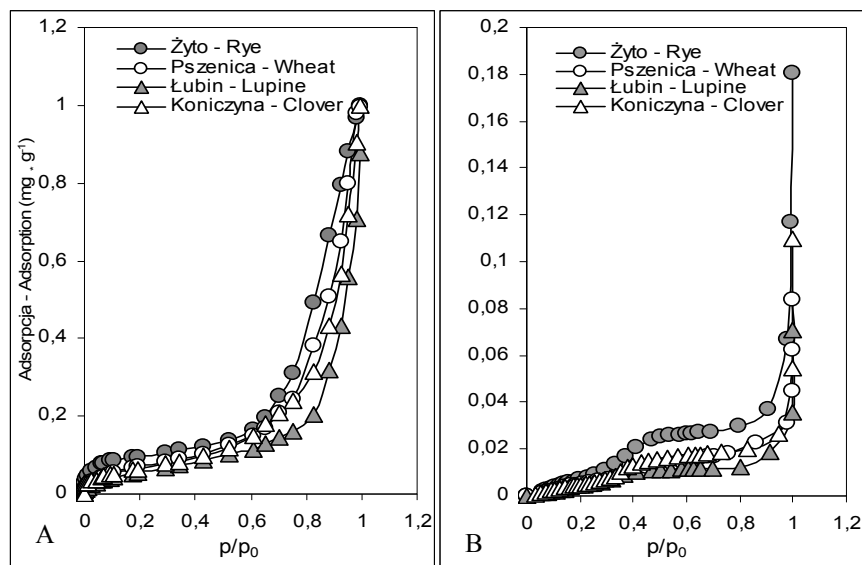
W oparciu o wartości  $f(E_i)$  obliczono średnią energię adsorpcji  $E_{av}$ :

$$E_{av} = \sum E_i f(E_i). \quad (5)$$

Średnia energia adsorpcji jest średnią statystyczną dla danej powierzchni adsorbenta. Funkcja rozkładu energii adsorpcji oparta na danych doświadczalnych wielkości adsorpcji i charakteryzująca układ adsorbent-adsorbent daje informacje o względnej niejednorodności energetycznej powierzchni.

#### 4.4. Właściwości powierzchniowe korzeni roślin jedno i dwuliściennych

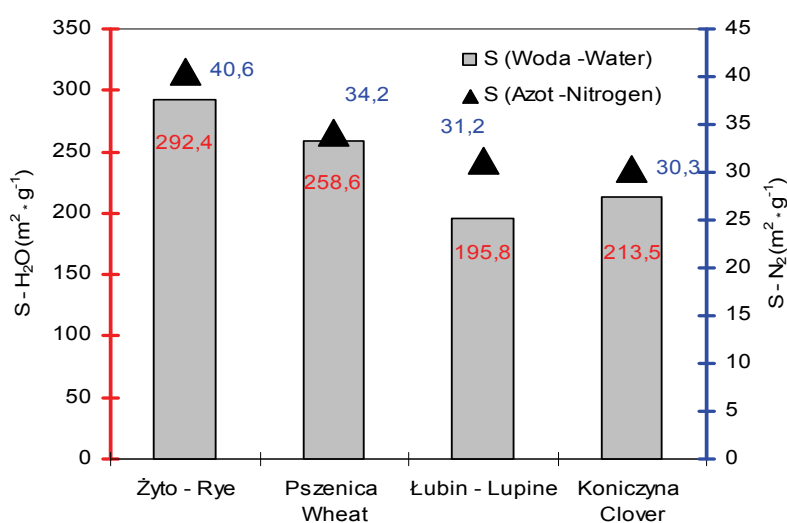
Na rysunku 3 przedstawiono izotermy desorpcji, wyznaczone parą wodną i azotem dla korzeni badanych roślin jedno i dwuliściennych rosnących przy  $pH = 7$ .



**Rys. 3.** Izotermy desorpcji na korzeniach badanych roślin ( $pH7$ ); A – H<sub>2</sub>O, B – N<sub>2</sub>  
**Fig. 3.** Desorption isotherms on the plant roots studied ( $pH7$ ); A – H<sub>2</sub>O, B – N<sub>2</sub>

Zarówno w przypadku izoterm wyznaczanych parą wodną, jak i w przypadku izoterm wyznaczanych azotem, izotermy desorpcji dla korzeni żyta przebiegają najwyżej. Najmniej adsorbatów zaadsorbowały a następnie zdesorbowały korzenie łubinu. Natomiast nie było wyraźnych różnic pomiędzy izotermami desorpcji dla pszenicy i koniczyny w przypadku izoterm wyznaczanych azotem. Ilościowe różnice w adsorpcji-desorpcji pomiędzy korzeniami poszczególnych badanych roślin charakteryzują wielkości ich powierzchni. Wielkości powierzchni właściwych korzeni obliczone na podstawie izoterm desorpcji pokazuje rysunek 4. Powierzchnie właściwe (pozorne – wyznaczone parą wodną) korzeni żyta i pszenicy były wyraźnie większe od pozornych powierzchni właściwych korzeni badanych dwuliściennych roślin bobowatych. Powierzchnie właściwe wyznaczone z desorpcji pary wodnej były znacznie większe od powierzchni tych samych korzeni wyznaczanych azotem. Obliczone na podstawie izoterm desorpcji pary wodnej wielkości pozornej powierzchni właściwej korzeni mogą mieć wyraźny związek z ich powierzchnią rzeczywistą. Całkowita powierzchnia korzeni (wraz

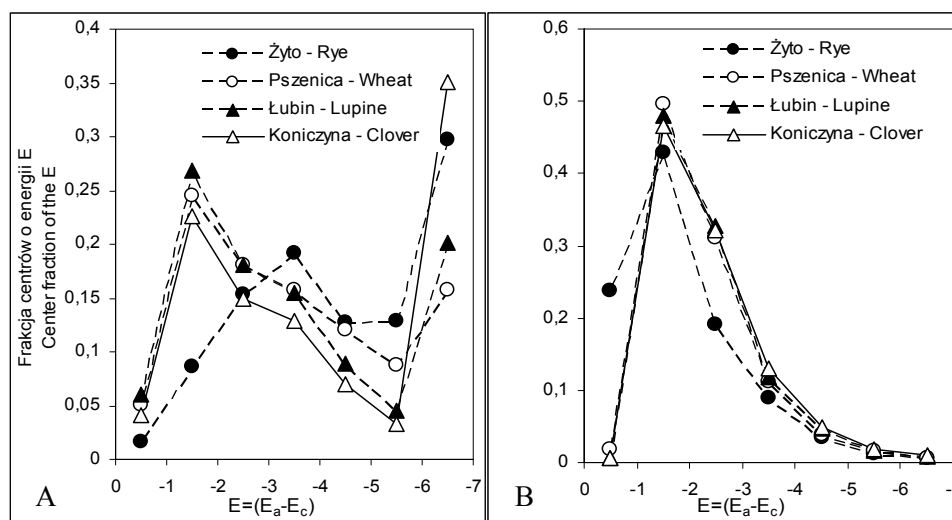
z włosnikami) jest bardzo duża i sięga, według obliczeń Dittmera cytowanych w „Biologii” Vilego (Vilee 1978) oraz przez Kacperską (2007a) około  $765 \text{ m}^2$  na pojedynczą roślinę żyta, w tym  $480 \text{ m}^2$  przypada na same włosniki. Cytowana wielkość szacowana jest dla roślin rosnących przez cztery tygodnie w warunkach wazonowych. Rośliny takie wykształcają więcej włosników niż rośliny rosnące w pożywkach hydroponicznych.



**Rys. 4.** Pozorna i swobodna powierzchnia właściwa dla badanych korzeni  
**Fig. 4.** Apparent and free surface area of the roots studied

Różnice pomiędzy wielkością pozorną powierzchnii właściwej a swobodną powierzchnią właściwą oznaczaną azotem mogą wynikać między innymi z budowy biochemicznej i anatomicznej różnorodnych komponentów komórek korzenia (m.in. ściany komórkowej) tworzących tkanki. Geometria adsorbentu ma duże znaczenie dla wielkości swobodnej powierzchni właściwej. Jak wynika z definicji powierzchni właściwej przedstawionej przez Ościka (1983), powierzchnię właściwą (zarówno pozorną jak i swobodną) należy traktować jako powierzchnię adsorbentu z jej nieregularnościami o wymiarach większych lub porównywalnych z wielkościami cząstek adsorbentu. Stąd też wielkość wyznaczonej powierzchni właściwej może zależeć od pola powierzchni cząsteczki adsorbentu; pole powierzchni cząsteczki wody wynosi  $10,8 \cdot 10^{-20} \text{ m}^2$ , a pole powierzchni cząsteczki azotu wynosi  $16,2 \cdot 10^{-20} \text{ m}^2$ . Wielkość powierzchni właściwej jest determinowana przez porowatą strukturę adsorbentu. Im mniejsze rozmiary porów tym mniej

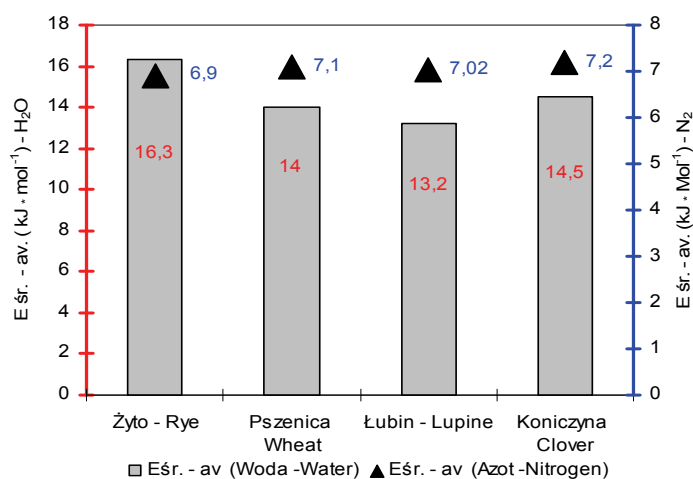
większych cząsteczek może pokryć nieregularności powierzchni. Dlatego też często powierzchnię właściwą oznaczaną azotem nazywa się tzw. powierzchnią właściwą zewnętrzną adsorbenta, a powierzchnie właściwą oznaczaną molekułami pary wodnej określa się mianem tzw. powierzchni właściwej całkowitej (Dechnik i Stawiński 1974). Rodzaj stosowanego adsorbentu ma też wpływ na kinetykę procesu adsorpcji. Według niektórych autorów (De Jonge i Mittelmeier-Hazeleger 1996, Sokołowska i in. 1999) jeżeli zwiększymy czas ustalania się równowagi adsorpcyjnej, to wówczas rodzaj adsorbentu będzie znacznie mniej wpływał na kinetykę procesu adsorpcji, zwłaszcza w przypadku adsorbentów naturalnych. Zróżnicowanie wielkości swobodnych powierzchni właściwych (wyznaczanych azotem) pomiędzy korzeniami badanych roślin jedno i dwuliściennych było znacznie mniejsze niż w przypadku powierzchni korzeni tych roślin wyznaczanych parą wodną, co wskazuje na to, że prawdopodobnie geometria (szczególnie wielkość przestworów międzykomórkowych) tkanek tych korzeni nie różni się istotnie od siebie. W przypadku powierzchni właściwych wyznaczanych azotem wielkość powierzchni determinowana jest przede wszystkim ich geometrią. Geometria i heterogeniczność powierzchni decydują również o jej charakterze energetycznym. Dla badanych korzeni, funkcja rozkładu energii adsorpcji pary wodnej jest bardziej zróżnicowana niż funkcja rozkładu energii adsorpcji azotu (rys. 5).



**Rys. 5.** Funkcje rozkładu energii adsorpcji A – pary wodnej i B – azotu dla badanych korzeni

**Fig. 5.** Adsorption energy distribution functions of A – water vapour and B – nitrogen of the roots studied

Różnice funkcji rozkładu energii mogą wynikać z różnic charakteru chemicznego centrów adsorpcyjnych; dla wody są to centra polarne dla azotu niepolarne. W korzeniach roślin zdecydowanie dominują polarne centra adsorpcyjne, głównie grupy karboksylowe, hydroksylowe oraz aminowe (Szwejkowska 2000). Grupy te wchodzi w skład pektyn, fosforanów, peptydów, łańcuchów alifatycznych i aromatycznych, z których zbudowane są tkanki roślinne, a więc w dużej mierze właściwości energetyczne powierzchni są pochodną właściwości powierzchniowych grup polarnych. Ogólny charakter energetyczny powierzchni (charakter oddziaływania adsorbentu z adsorbentem) charakteryzują ich średnie energie adsorpcji (rys. 6).



**Rys. 6.** Średnia energia adsorpcji pary wodnej i azotu dla korzeni badanych roślin  
**Fig. 6.** Average adsorption energy of water vapour and nitrogen from plant roots studied

Średnie energie adsorpcji azotu są niższe od średnich energii adsorpcji pary wodnej. Nie odnotowano wyraźnych różnic średnich energii adsorpcji azotu dla obydwu grup badanych korzeni, co również potwierdziły analizy statystyczne (tab. 5). W przypadku pary wodnej, średnie energie adsorpcji dla korzeni pszenicy, łubinu i koniczyny były prawie identyczne, natomiast średnia energia adsorpcji korzeni żyta była nieco większa. Na podstawie prezentowanych wyników możemy stwierdzić, że badane korzenie niewiele różnią się wielkościami swobodnych powierzchni właściwych (wyznaczanych azotem) i prawie wcale nie różnią się charakterystykami energetycznymi tych powierzchni. Bardziej wyraźne różnice widoczne są w wielkościach swobodnej powierzchni właściwej wyznaczonej parą wodną będącą adsorbentem polarnym. Adsorpcja polarnych adsorbatów na korzeniach roślin determinowana jest obecnością (ilością i jakością) polarnych centrów adsorpcyjnych, czyli przede wszystkim związana będzie z obecnością

grup karboksylowych (głównie pektyn), grup hydroksylowych, a także aminowych ścian komórkowych korzenia. Pozorne powierzchnie właściwe korzeni roślin jednoliściennych wykorzystanych w badaniach są większe od pozornych powierzchni właściwych korzeni badanych roślin bobowatych.

**Tabela 5.** Analiza statystyczna badanych wielkości: Test-t (test Studenta), dwustronny, Typ-2 (homoscedastyczny), w którym zakłada się, że wariancje dla średnich z próby nie różnią się między sobą – średnie są jednakowe w  $\pm 95\%$  poziomie istotności. 1 – prawda, 0 – Fałsz

**Table 5.** Statistical analysis of obtained results: Student-t, Two tailed, Type 2 (homoscedastic), in which it is assumed that variances for average of samples do not differ significantly from each other – averages are the same for  $\pm 95\%$  confidence level. 1 – True, 0 – False

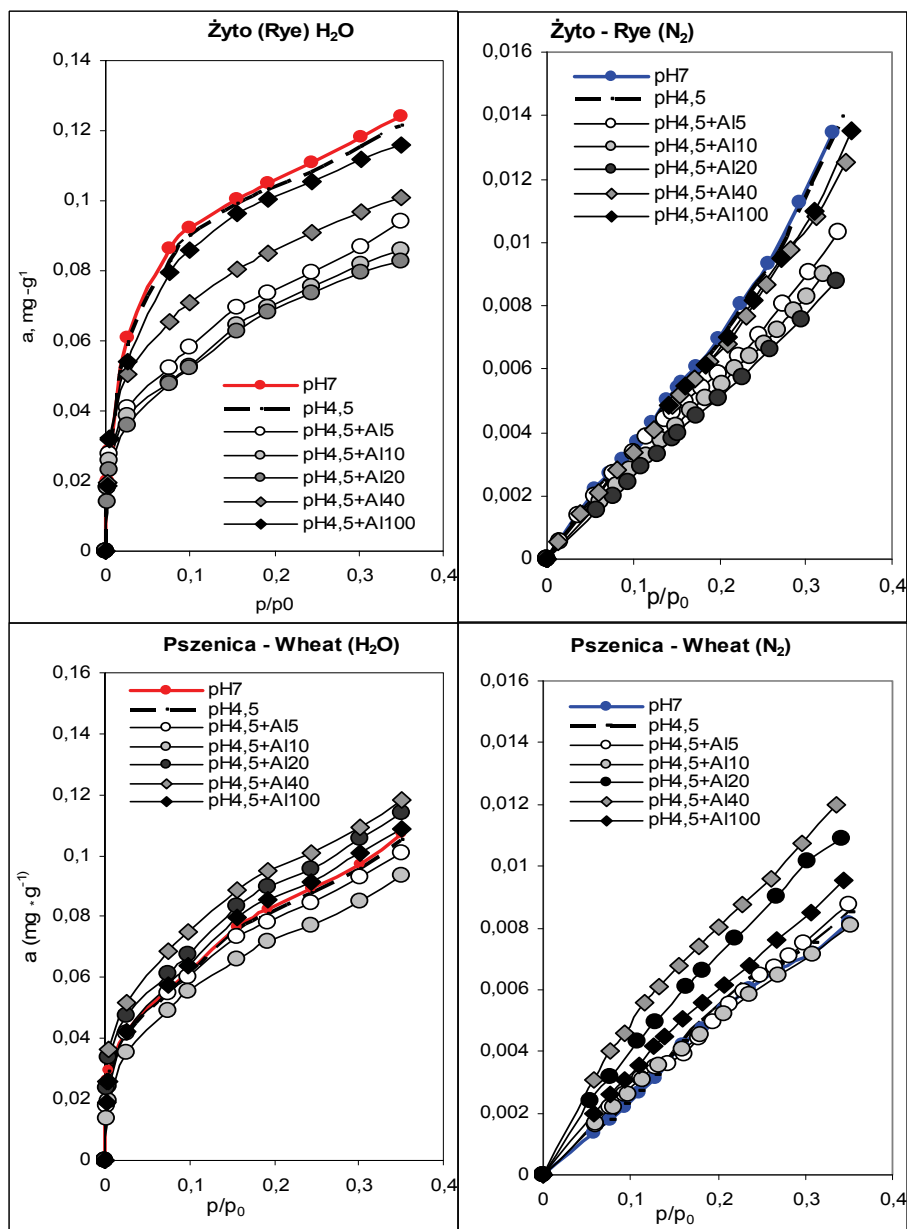
Wariant	A	B	C	D
Variant	S (H <sub>2</sub> O)			
A	1	0	1,4E-09	1,4E-09
B	0	1	0	6,47E-09
C	1,75E-05	0	1	0
D	1,95E-06	6,27E-05	0	1
	S (N <sub>2</sub> )			
A	1	0	0	0
B	0	1	1	1
C	0	1	1	1
D	0	1	1	1
	E (H <sub>2</sub> O)			
A	1	0	0	0
B	0	1	0	0
C	0	0	1	0
D	0	0	0	1
	E (N <sub>2</sub> )			
A	1	1	1	1
B	1	1	1	1
C	1	1	1	1
D	1	1	1	1

A – Żyto – Rye, B – Pszenica – Wheat, C – Łubin – Lupine, D – Koniczyna – Clover

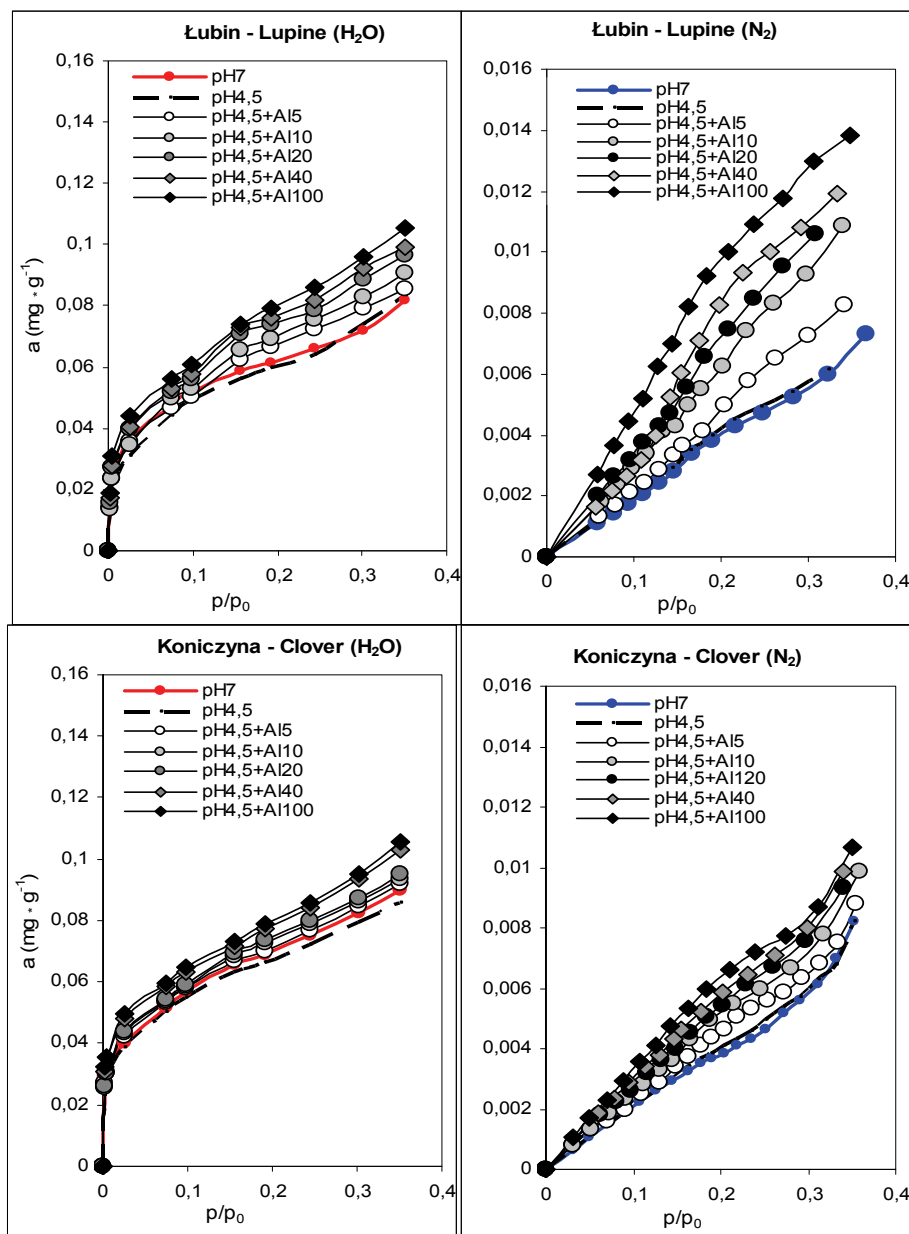
#### 4.5. Wpływ jonów glinu na właściwości powierzchniowe korzeni

Na rysunkach 7 i 8 przedstawione są izotermie desorpcji pary wodnej i azotu w zakresie względnych prężności adsorbatów ( $p/p_0$ ) od 0 do 0,35 dla korzeni rosnących w warunkach kontrolnych (pH7), przy obniżonym odczynie pożywki (pH4,5) bez jonów glinu oraz z dodatkiem jonów glinu w różnych stężeniach.

Izotermie desorpcji na korzeniach rosnących w warunkach kontrolnych (pH7) i dla korzeni roślin, rosnących w pożywce o pH4,5 nie różnią się wyraźnie od siebie, co wskazuje na to, że wpływ stężenia jonów wodorowych w małym stopniu wpłynął na właściwości adsorpcyjne korzeni. Potwierdzają to również doniesienia literaturowe.



**Rys. 7.** Izotermy desorpcji H<sub>2</sub>O i N<sub>2</sub> na korzeniach roślin jednoliściennych, stresowanych Al<sup>+3</sup>  
**Fig. 7.** H<sub>2</sub>O and N<sub>2</sub> desorption isotherms for roots of monocotyledonous plants under Al<sup>+3</sup> stress



**Rys. 8.** Izotermi desorpcji  $\text{H}_2\text{O}$  i  $\text{N}_2$  na korzeniach roślin dwuliściennych, stresowanych  $\text{Al}^{3+}$   
**Fig. 8.**  $\text{H}_2\text{O}$  and  $\text{N}_2$  desorption isotherms for roots of dicotyledonous plants under  $\text{Al}^{3+}$  stress

Już w 1918 roku Hartwell i Pember (1918) wykazali, że przyczyną spadku plonowania roślin na glebach kwaśnych jest nie tyle niskie pH, co wysokie stężenie mobilnych form glinu. Z kolei Arnon i Johnson (1942) stwierdzili, że jony wodorowe działają niekorzystnie na system korzeniowy dopiero przy pH poniżej 3. Przyjęto więc uważać, że to tzw. wtórne czynniki (wzrost stężenia glinu i manganu, niedobór wapnia, magnezu, potasu, spadek przyswajalności fosforu i molibdenianu oraz wymywanie składników pokarmowych z gleby) zakwaszenia środowiska, wywołują symptomy toksyczności u roślin (Houg i Caldwell 1985, Ulrich 1990, Dębicki i in. 1994).

Obecność glinu w pożywce spowodowała zmiany właściwości adsorpcyjnych badanych korzeni. Stężenia glinu w pożywce na poziomie 5 i 10 mg·dm<sup>-3</sup> obniżyły adsorpcję-desorpcję obu adsorbatów dla korzeni żyta ozimego (Rostockie) i pszenicy ozimej (Tonacja), przy czym izotermy desorpcji korzeni żyta w zasadzie dla wszystkich stężeń glinu w pożywce przebiegają poniżej izotermy desorpcyjnej korzeni kontrolnych. Adsorpcja-desorpcja na korzeniach pszenicy zwiększyła się praktycznie w całym zakresie  $p/p_0$  przy stężeniach glinu rzędu 20 i 40 mg·dm<sup>-3</sup>. Zarówno w przypadku żyta jak i pszenicy izotermy desorpcji dla korzeni inkubowanych w 100 mg·dm<sup>-3</sup> Al<sup>+3</sup> były zbliżone do izoterm desorpcji korzeni kontrolnych. W miarę wzrostu stężenia glinu desorpcja na korzeniach roślin dwuliściennych (rys. 8) wykazywała tendencje wzrostowe. Desorpcja azotu jest znacznie mniejsza w porównaniu z desorpcją pary wodnej. Inkubowanie korzeni w toksycznych stężeniach glinu wpłynęło w taki sam sposób na przebieg izoterm desorpcji azotu jak i na przebieg izoterm desorpcji pary wodnej. Tendencje tych zmian są podobne w przypadku obu adsorbatów. Ilościowe różnice w wielkości desorpcji na korzeniach stresowanych odzwierciedlają powierzchnie właściwe (pozorne i swobodne) tych korzeni, które przedstawiono w tabeli 6.<sup>1</sup> Pozorna powierzchnia właściwa korzeni żyta zmniejszyła się w całym zakresie stosowanych stężeń glinu w pożywce, przy czym nie ma istotnych różnic pomiędzy powierzchnią właściwą korzeni rosnących w pH7, pH4,5 i w pH4,5+100 mg·dm<sup>-3</sup> Al<sup>+3</sup>. W podobny sposób zmieniają się również swobodne (wyznaczane azotem) powierzchnie właściwe korzeni żyta, chociaż nieistotne są zmiany dla korzeni inkubowanych w 40 mg·dm<sup>-3</sup> glinu w pożywce. W przypadku korzeni pszenicy zmniejszenie się powierzchni odnotowano dla korzeni stresowanych 5 i 10 mg·dm<sup>-3</sup> glinu w pożywce. Przy wyższych stężeniach glinu, pozorne powierzchnie właściwe korzeni pszenicy wzrastały. Nieco mniej intensywnie zmieniała się powierzchnia „zewnątrzna” wyznaczana azotem. W ba-

---

<sup>1</sup>Do analizy statystycznej wykorzystano Test-t (test Studenta), dwustronny, Typ-2 (homeostatyczny) zakładającym, że wariancje ze średnich nie różnią się istotnie między sobą, czyli, że średnie z próby są takie same przy  $P \geq 0,05$  w 95% poziomie istotności. Jeżeli wynik testu daje wartość  $P \leq 0,05$  możemy przyjąć, że różnice pomiędzy wartościami średnimi są istotne.

danych korzeniach roślin jednoliściennych stężenie glinu w pożywce rzędu  $100 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  było na tyle toksyczne, że praktycznie uniemożliwiło włączenie się jakichkolwiek mechanizmów obronnych. Stąd powierzchnie właściwe (szczególnie te wyznaczone azotem) nie zmieniły się istotnie w porównaniu z powierzchniami właściwymi korzeni kontrolnych.

**Tabela 6.** Powierzchnia właściwa (pozorna i swobodna) korzeni stresowanych  $\text{Al}^{+3}$  (śr. z 3 powtórzeń  $\pm 95\%$  przedział ufności). Zmiany istotnie różne ( $P < 0,05$ ) zaznaczono pogrubioną czcionką. Test Studenta dla 95% poziomu istotności

**Table 6.** Surface area (apparent and free) values of the  $\text{Al}^{+3}$  stressed roots (av. of 3 replicates  $\pm 95\%$  confidence intervals). Bold numbers denote significant differences ( $P < 0,05$ ), Student-t at 95% confidence level

Wariant Variant	$S - \text{H}_2\text{O} (\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1})$			
	Żyto Rye	Pszenica Wheat	Łubin Lupine	Koniczyna Clover
pH7+pH4,5	286,4±0,07	258,5±0,8	195,8±0,6	213,5±0,2
pH4+5Al	<b>226,3±0,6</b>	241,2±0,9	206,5±0,6	<b>221,4±0,2</b>
pH4,5+10Al	<b>209,8±0,6</b>	<b>226,6±0,5</b>	<b>217,7±0,6</b>	<b>226±0,08</b>
pH4,5+20Al	<b>203,7±0,5</b>	<b>276,8±0,9</b>	<b>232,3±0,4</b>	<b>229,8±0,08</b>
pH4,5+40Al	<b>244,6±0,7</b>	<b>282,3±0,8</b>	<b>240±0,5</b>	<b>248,1±0,3</b>
pH4,5+100Al*	288,6±1,2	261,5±1,2	<b>255,1±0,2</b>	<b>254±0,5</b>
	$S - \text{N}_2 (\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1})$			
pH7+4,5	38,8±1,8	34,2±0,07	31,3±1,1	30,3±0,7
pH4+5Al	<b>34,1±0,3</b>	33,2±0,8	32,9±0,5	32,3±1,04
pH4,5+10Al	<b>30,9±1,4</b>	<b>30,7±0,03</b>	35,4±0,3	32,6±1,4
pH4,5+20Al	<b>30,2±0,4</b>	<b>36,7±0,06</b>	38,2±1,3	33,5±2,2
pH4,5+40Al	38,8±0,2	<b>41,1±2,01</b>	<b>42,7±1,9</b>	<b>39,3±0,08</b>
pH4,5+100Al	38,6±0,2	34,9±1,6	<b>50,5±1,3</b>	<b>41,9±0,5</b>

Pozorne i swobodne powierzchnie właściwe korzeni badanych roślin bobowatych wzrastały w całym zakresie stężeń glinu. Dla korzeni łubinu i koniczyny istotny wzrost powierzchni wyznaczonej parą wodną (pozornej) odnotowano w całym zakresie stosowanych stężeń glinu, poza korzeniami łubinu inkubowanymi w  $5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  glinu w pożywce. Zdecydowanie mniej wyraźne zmiany pod wpływem stresu glinowego odnotowano dla swobodnych powierzchni wyznaczonych azotem. Dla  $\pm 95\%$  poziomu istotności, wyraźne różnice w wielkości tych powierzchni właściwych wystąpiły w korzeniach roślin bobowatych stresowanych 40 i  $100 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  glinu. Różne reakcje korzeni badanych roślin na stężenia jonów glinu w pożywce, scharakteryzowane poprzez zmiany wielkości ich powierzchni właściwej, wynikają z różnic w odporności / tolerancji na glin bada-

nych gatunków, a być może nawet odmian tych roślin. Wśród badanych zbóż pszenica jest zdecydowanie mniej odporna na toksyczność glinu niż żyto. Dla większości pszenic wykazano zakres tolerancyjności na poziomie 4-8 do 10 ppm glinu (Anioł 1985b, 1989, 1990; Anioł i Madej 1996, Gustawson i Ross 1990, Ślaski 1994). Tolerancyjność żyta, określana poprzez stężenie glinu, przy którym zaczynały pojawiać się osobniki wrażliwe zawarta była pomiędzy 20 ppm dla najbardziej wrażliwych, do 68 ppm glinu dla odpornych odmian i lini wsobnych żyta. Żyto uważane jest za najbardziej odporne wśród innych gatunków zbóż. Charakter tolerancyjności na glin u żyta jest cechą dominującą (Anioł 1990, Hede i in. 2001). Jeszcze większe zróżnicowanie w poziomie tolerancyjności na glin, wykazują rośliny dwuliścienne. W roślinach bobowatych, odnotowano zawartość glinu w zakresie od 85 do około 3000 mg·g<sup>-1</sup> suchej masy (Kabata-Pendias i Pendias 1999). Przy tak dużym zróżnicowaniu trudno jest zatem precyzyjnie ustalić poziom tolerancyjności na ten metal, zwłaszcza, że różnice w tolerancyjności mogą być międzygatunkowe, międzyodmianowe i międzypopulacyjne. Przyjęto jednak uważać, że im więcej grup karboksylowych znajduje się w ścianie komórkowej korzeni, tym wykazują one mniejszą odporność na glin (Ślaski 1992,1994, Klimaszewskij 1990, Taylor, 1988a,b). Ponieważ korzenie roślin dwuliściennych z reguły posiadają więcej grup karboksylowych (większe *CEC*), badane rośliny bobowate powinny wykazywać mniejszą tolerancję na glin. Bariere na drodze wnikania glinu do symplastu komórek stanowi ściana komórkowa, której grupy karboksylowe, zwłaszcza kwasów pektynowych, spełniają rolę czynnika chelatującego metale. Jony Al<sup>+3</sup> w dużych stężeniach spowodowały ograniczenie poboru wapnia, co mogło pośrednio wpłynąć na zmniejszenie cementującej roli pektynianów wapnia (wchodzących w skład blaszki środkowej ściany komórkowej i pełniących funkcję łączenia poszczególnych komórek w tkance). Ograniczenie cementującej roli pektynianów blaszki środkowej prowadzi do maceracji tkanki korzeniowej (Klimaszewskij 1990, Wagatsuma i in. 1987b) co może być jedną z przyczyn zwiększenia się powierzchni badanych korzeni. Ponadto w obecności czynnika stresowego zmieniają się procesy metaboliczne i enzymatyczne rośliny. W odpowiedzi na obecność toksycznych stężeń glinu wydzielane są do apoplastu składniki kompleksujące metale między innymi substancje śluzowate składające się z polisacharydów i kwasów uronowych. (Taylor 1998, Wierzbicka 1995, Baranowska-Morek 2003, Chen i Shen 2008). Zmiany reakcji biochemicznych, enzymatycznych czy też zmiany anatomiczne komórek i/lub tkanek korzenia mogą prowadzić do zmian charakteru chemicznego powierzchni badanych korzeni. Przejawia się to zarówno wzrostem powierzchni właściwej w przypadku wysokich stężeń jonów Al<sup>+3</sup> w pożywce, jak też nieznacznym spadkiem średniej energii adsorpcji przedstawionej w tabeli 7.

**Tabela 7.** Średnia energia adsorpcji dla korzeni stresowanych  $Al^{+3}$  (śr. z 3 powtórzeń  $\pm 95\%$  ufność). Zmiany istotnie różne ( $P < 0,5$ ) zaznaczono pogrubioną czcionką. Test Studenta dla 95% przedział istotności

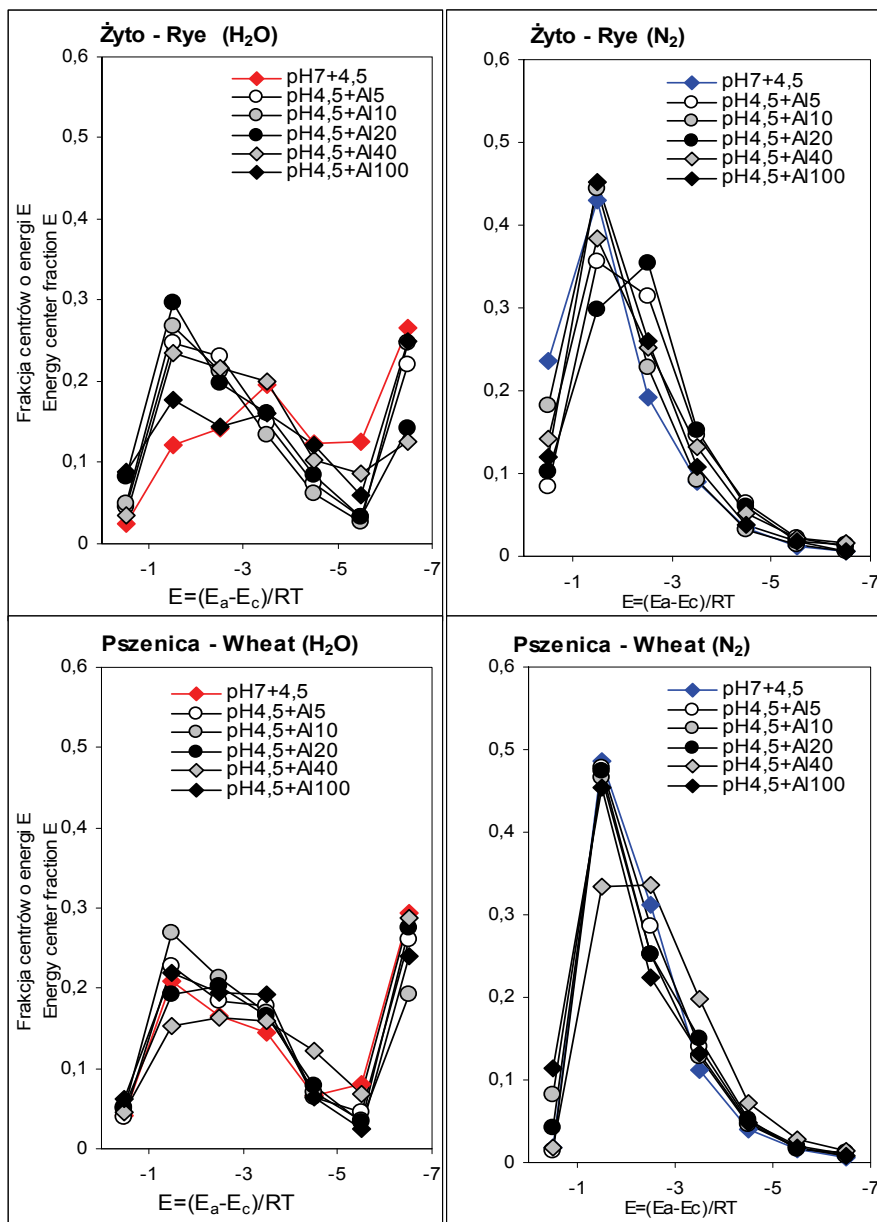
**Table 7.** Average adsorption energy of  $Al^{+3}$  stressed roots (av. of 3 replicates  $\pm 95\%$  confidence intervals). Bold – significant differences ( $P < 0.05$ ), Student test at 95% confidence interval

Wariant Variant	<i>E</i> <sub>śr.</sub> – <i>E</i> <sub>av.</sub> – H <sub>2</sub> O (kJ·mol <sup>-1</sup> )			
	Żyto Rye	Pszenica Wheat	Łubin Lupine	Koniczyna Clover
pH7+4,5	16,3±0,4	14,2±0,09	14,01±0,3	14,6±0,05
pH4,5+5Al	<b>13,2±0,03</b>	13,9±0,01	13,9±0,04	<b>13,5±0,2</b>
pH4,5+10Al	<b>13,06±0,07</b>	<b>12,9±0,3</b>	<b>13,4±0,2</b>	<b>13,6±0,5</b>
pH4,5+20Al	<b>13,2±0,02</b>	<b>14,4±0,02</b>	<b>13,7±0,4</b>	<b>14,0 ±0,3</b>
pH4,5+40Al	<b>13,9±0,09</b>	<b>15,1±0,02</b>	<b>13,8±0,3</b>	<b>14,9±0,03</b>
pH 4,5+1 00Al	<b>14,3±0,04</b>	<b>13,3±0,02</b>	<b>13,7±0,04</b>	<b>13,9±0,2</b>
	<i>E</i> <sub>śr.</sub> – <i>E</i> <sub>av.</sub> – N <sub>2</sub> (kJ·mol <sup>-1</sup> )			
pH7+4,5	6,87±0,14	7,1±0,004	7,02±0,03	7,13±0,01
pH4,5+5Al	7,13±0,08	7,2±0,02	7,0±0,03	7,15±0,02
pH4,5+10Al	6,78±0,05	7,04±0,05	7,03±0,04	7,12±0,09
pH4,5+20Al	7,0±30,14	7,2±0,001	7,02±0,12	6,97±0,01
pH4,5+40Al	6,92±0,16	7,4±0,01	7,0±0,02	7,11±0,001
pH4,5+100Al	6,93±0, 04	7,0±0,05	7,06±0,04	7,07±0,01

Średnie energie wyznaczone z adsorpcji azotu dla korzeni badanych roślin nie różniły się istotnie. Nie odnotowano również wyraźnych różnic dla korzeni tych roślin w funkcji rozkładu energii adsorpcji azotu (rys. 9 i 10).

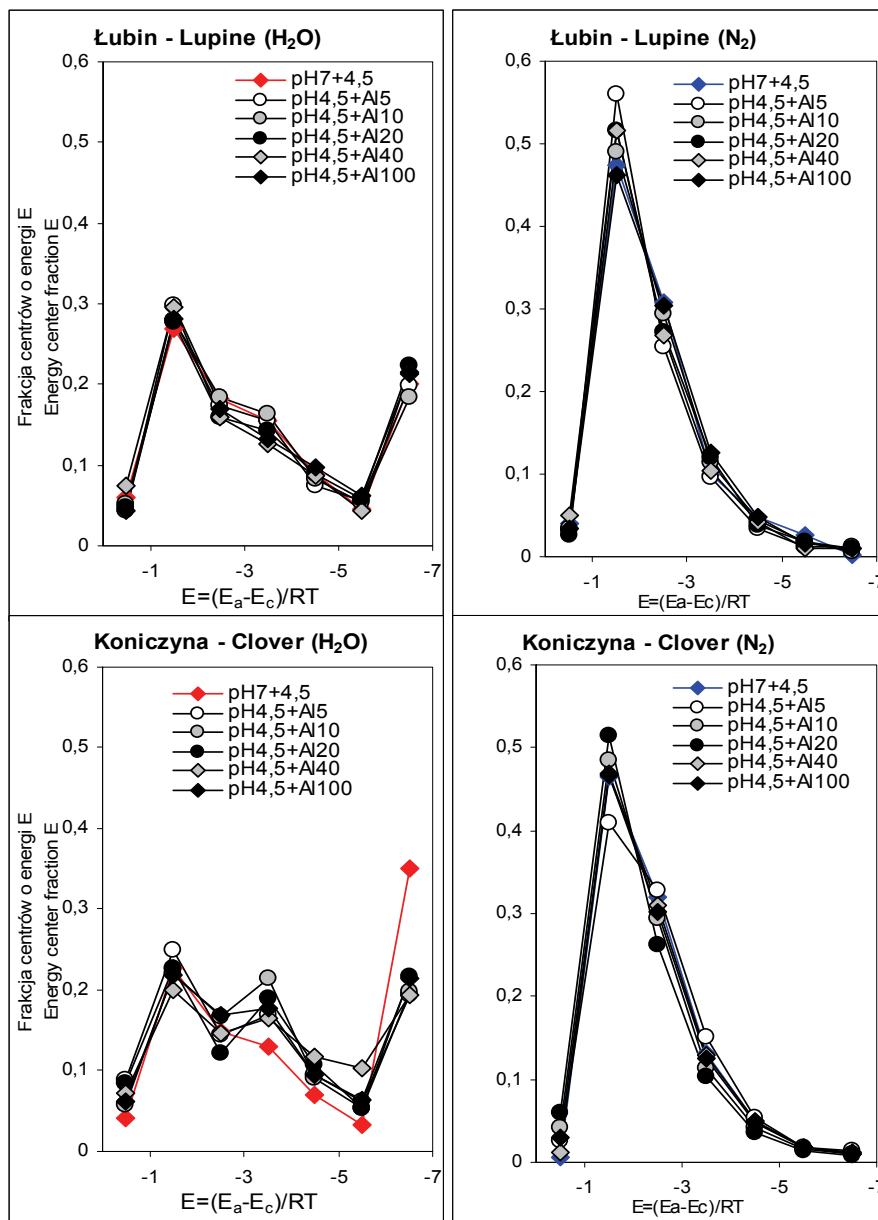
Natomiast dla wody – polarnego adsorbentu (w większym stopniu zależnego od chemicznego charakteru powierzchni korzeni) zaobserwowano nieznaczny spadek wysoko energetycznych centrów adsorpcyjnych (rys. 9 i 10) w zakresie  $E = (E_a - E_c)/RT$  od  $-5$  do  $-7$  i wzrost ilość centrów niskoenergetycznych od  $-0,5$  do  $-1,5$  dla korzeni żyta, pszenicy i koniczyny rosnących w obecności glinu.

Średnia energia adsorpcji (wyznaczona z izotermy adsorpcji pary wodnej) dla korzeni roślin jednoliściennych i koniczyny zmieniła się istotnie praktycznie w całym zakresie stosowanych stężeń glinu w pożywce. Dla korzeni żyta średnia energia adsorpcji malała w miarę zwiększenia się natężenia stresu, co może być związane między innymi z blokowaniem przez jony glinu, silnie energetycznych grup karboksylowych obecnych w korzeniu, a w przypadku powierzchni korzeni pszenicy i koniczyny wykazywała tendencje wzrostowe, co z kolei może być związane ze zwiększoną sekrecją związków o charakterze słabo kwaśnym, a więc i niskoenergetycznych w obecności stresora. Dla korzeni badanego łubinu średnia energia adsorpcji nieznacznie wzrosła, jednak nie na tyle aby różnice pomiędzy średnią energią korzeni kontrolnych i stresowanych były statystycznie istotne.



**Rys. 9.** Funkcje rozkładu energii adsorpcji dla korzeni roślin jednoliściennych, stresowanych  $\text{Al}^{+3}$  (punkty pokazują wartości średnie z 3 powtórzeń)

**Fig. 9.** Adsorption energy distribution functions for roots of monocotyledonous plants under  $\text{Al}^{+3}$  stress (points are average values from 3 replicates)



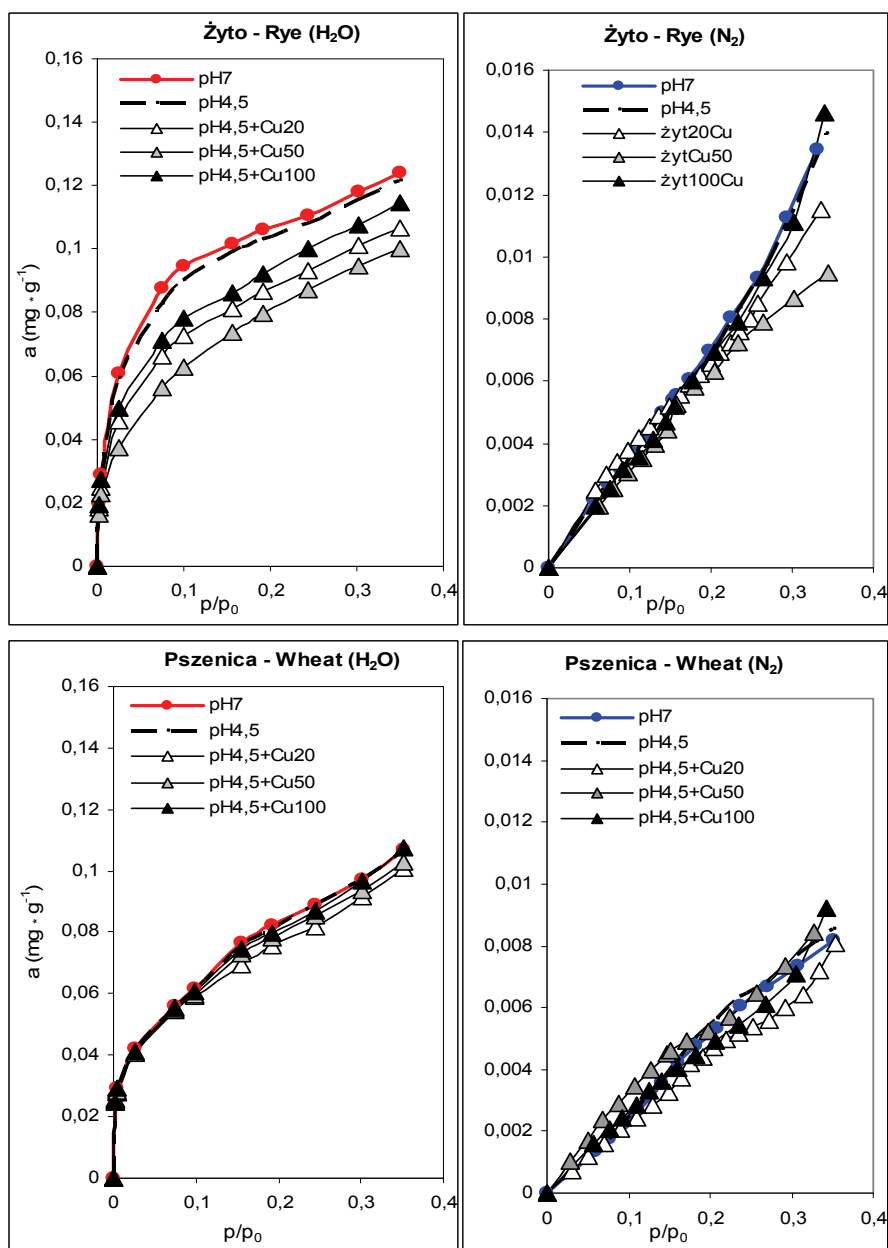
**Rys. 10.** Funkcje rozkładu energii adsorpcji dla korzeni roślin dwuliściennych, stresowanych  $\text{Al}^{+3}$  (punkty pokazują wartości średnie z 3 powtórzeń)

**Fig. 10.** Adsorption energy distribution functions for roots of dicotyledonous plants under  $\text{Al}^{+3}$  stress (points are average values from 3 replicates)

#### 4.6. Wpływ fitotoksycznych stężeń miedzi na właściwości powierzchniowe korzeni

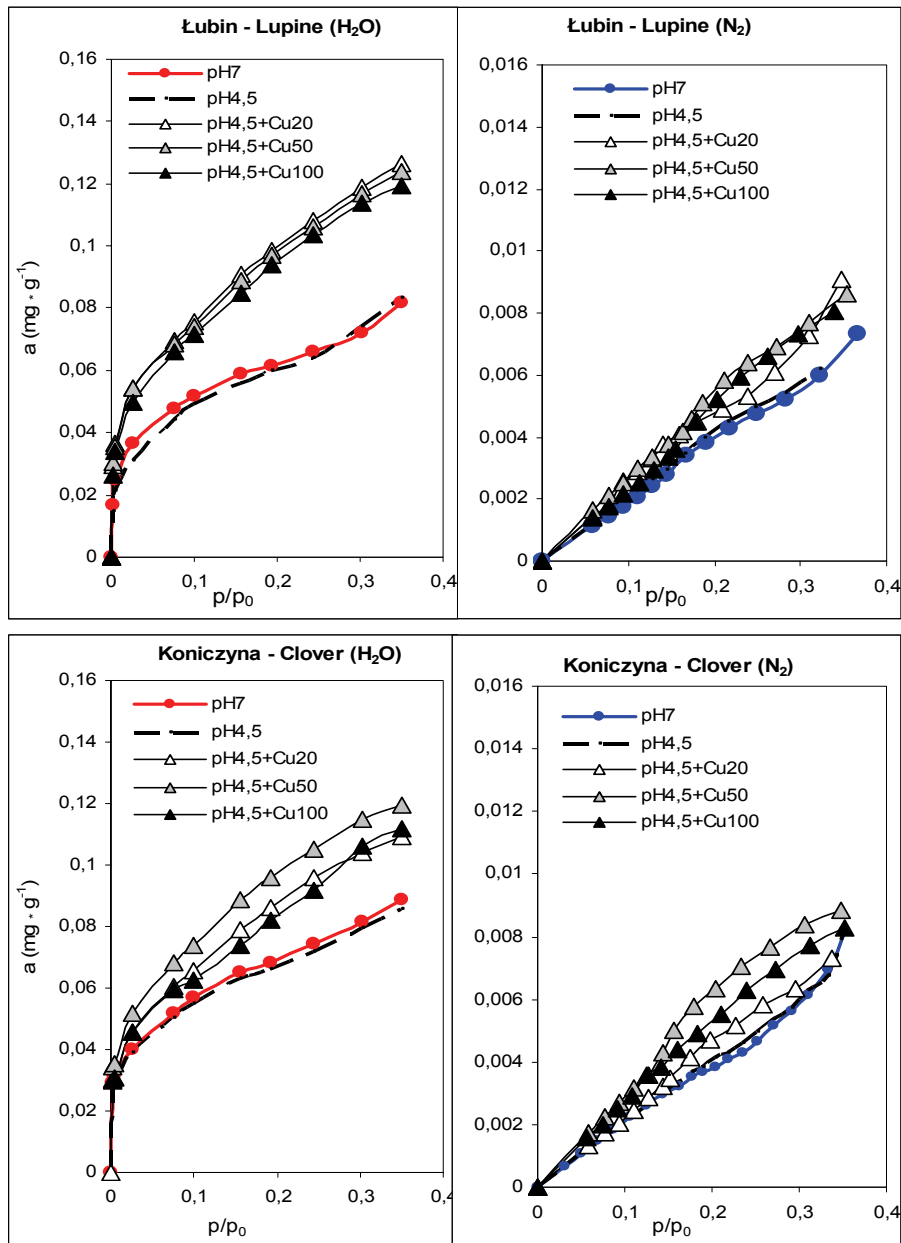
Na rysunkach 11 i 12 przedstawione są izotermy desorpcji azotu i pary wodnej dla korzeni, którym zaaplikowano dodatkowo jony  $\text{Cu}^{+2}$  w stężeniach 20, 50 i  $100 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  pożywki. Adsorpcja-desorpcja zarówno pary wodnej jak i azotu, na korzeniach roślin jednoliściennych, rosnących w obecności fitotoksycznych stężeń miedzi była znacznie mniejsza w porównaniu do adsorpcji-desorpcji na korzeniach kontrolnych tych roślin. Dla korzeni roślin dwuliściennych inkubowanych w dodatkowych stężeniach miedzi, adsorpcja-desorpcja była większa niż w korzeniach roślin rosnących bez dodatkowej aplikacji miedzi w pożywce. Powierzchnie właściwe pozorna i swobodna dla korzeni roślin dwuliściennych stresowanych miedzią, również zwiększyły się (tab. 8). Zdecydowanie większym zróżnicowaniem pozornej (wyznaczanej parą wodną) powierzchni właściwej przy fitotoksycznych stężeniach miedzi w pożywce zareagowały korzenie roślin dwuliściennych. Istotne różnice w wielkości pozornej powierzchni właściwej wystąpiły w korzeniach łubinu i koniczyny we wszystkich stosowanych w doświadczeniu stężeniach miedzi, jakkolwiek nie odnotowano wyraźnych zmian w geometrycznej, „zewnątrznej” powierzchni właściwej wyznaczanej azotem.

Istotne różnice wystąpiły również w wielkości powierzchni właściwej (pozornej i swobodnej) korzeni badanej odmiany żyta. Natomiast dla badanej odmiany pszenicy inkubowanej w najwyższych stężeniach miedzi, nie odnotowano wyraźnych zmian wielkości powierzchni właściwej korzeni. Zdecydowanie większym zróżnicowaniem pozornej (wyznaczanej polarnym adsorbentem) powierzchni właściwej na fitotoksyczne stężenia miedzi w pożywce zareagowały korzenie roślin dwuliściennych. Zmiany powierzchni właściwej dla korzeni roślin jednoliściennych pod wpływem dodatkowej aplikacji jonów miedzi miały inny charakter niż w korzeniach roślin dwuliściennych: powierzchnie właściwe korzeni roślin jednoliściennych istotnie zmniejszały się przy stężeniach miedzi w pożywce równych 20 i  $50 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Dla wyższego stężenia miedzi w podłożu zmiany wielkości powierzchni zarówno pozornej jak i swobodnej korzeni tych roślin nie były istotne i wykazywały tendencje wzrostowe. Wydaje się zatem, że rośliny jednoliścienne znacznie lepiej radziły sobie z dodatkową aplikacją miedzi w pożywce. W przypadku roślin dwuliściennych stężenie miedzi było na tyle duże, że spowodowało, praktycznie ustanie wszelkich procesów metabolicznych i fizjologicznych w wyniku czego nastąpiła utrata homeostazy komórkowej, a w końcowym efekcie śmierć całej rośliny co istotnie wpłynęło na destrukcję tkanki korzeniowej, wynikiem czego był odnotowany wzrost powierzchni właściwej.



**Rys. 11.** Izotermi desorpcji pary wodnej i azotu na korzeniach roślin jednoliściennych, stresowanych  $\text{Cu}^{+2}$

**Fig. 11.** Water vapour and nitrogen desorption isotherms of  $\text{Cu}^{+2}$  stressed roots of monocotyledonous plants



Rys. 12. Izotermi desorpcji pary wodnej i azotu na korzeniach roślin dwuliściennych, stresowanych  $Cu^{+2}$   
 Fig. 12. Water vapour and nitrogen desorption isotherms of  $Cu^{+2}$  stressed roots of dicotyledonous plants

**Tabela 8.** Powierzchnia właściwa (pozorna i swobodna) korzeni stresowanych  $\text{Cu}^{+2}$  (śr. z 3 powtórzeń  $\pm 95\%$  przedział ufności). Zmiany istotnie różne ( $P < 0,05$ ) zaznaczono pogrubioną czcionką. Test Studenta  $\pm 95\%$  poziom istotności

**Table 8.** Surface area (apparent and free) values of  $\text{Cu}^{+2}$  stressed roots (av. of 3 replicated experiments  $\pm 95\%$  confidence interval). Bold – significant differences ( $P < 0.05$ ), Student test  $\pm 95\%$  confidence level

Wariant Variant	$S - \text{H}_2\text{O} (\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1})$			
	Żyto Rye	Pszenica Wheat	Łubin Lupine	Koniczyna Clover
pH7+pH4,5	286,4 $\pm$ 0,07	258,5 $\pm$ 0,8	195,8 $\pm$ 0,6	214,1 $\pm$ 0,2
pH4,5+20Cu	<b>257,4<math>\pm</math>0,5</b>	<b>242,0<math>\pm</math>0,5</b>	<b>305,8<math>\pm</math>1,0</b>	<b>268<math>\pm</math>0,1</b>
pH4,5+50Cu	<b>243,9<math>\pm</math>1,1</b>	<b>248,8<math>\pm</math>0,5</b>	<b>300,1<math>\pm</math>1,1</b>	<b>291,7<math>\pm</math>0,1</b>
pH4,5+100Cu	274,0 $\pm$ 0,5	258,4 $\pm$ 0,6	<b>292,2<math>\pm</math>0,9</b>	<b>275,8<math>\pm</math>0,3</b>
	$S - \text{N}_2 (\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1})$			
pH7+4,5*	38,8 $\pm$ 1,8	34,2 $\pm$ 0,07	31,3 $\pm$ 1,1	30,3 $\pm$ 0,7
pH4,5+20Cu	37,3 $\pm$ 0,6	33,1 $\pm$ 0,5	31,8 $\pm$ 0,4	32,3 $\pm$ 0,5
pH4,5+50Cu	36,1 $\pm$ 1,5	32,6 $\pm$ 0,7	<b>36,3<math>\pm</math>0,5</b>	<b>35,3<math>\pm</math>0,5</b>
pH4,5+100Cu	39,5 $\pm$ 0,2	34,3 $\pm$ 1,6	<b>34,9<math>\pm</math>1,3</b>	<b>33,0<math>\pm</math>0,4</b>

Obecność miedzi w środowisku wzrostu korzeni wpływała również na zmiany średniej energii adsorpcji (tab. 9). Podobnie jak w przypadku pozornej powierzchni właściwej, średnia energia adsorpcji bardziej wyraźnie zmieniała się dla korzeni roślin dwuliściennych. W miarę natężenia czynnika stresowego średnia energia adsorpcji dla badanych korzeni wykazywała tendencje spadkowe.

Nie odnotowano istotnych zmian średniej energii adsorpcji niepolarnego adsorbentu – azotu. Funkcje rozkładu energii adsorpcji pary wodnej pokazały przede wszystkim zmniejszenie się wysokoenergetycznych centrów adsorpcyjnych (rys. 13 i 14)  $E = (E_a - E_c)$  od  $-5$  do  $-7$ , prawdopodobnie w wyniku blokowania przez jony miedzi wysokoenergetycznych grup karboksylowych obecnych w korzeniu.

Za pobieranie kationów metali ciężkich odpowiadają te same mechanizmy, które uczestniczą w pobieraniu przez korzeń mikroelementów. Większość bowiem metali ciężkich, w tym i miedź, faktycznie są mikroelementami. Toksyczny wpływ miedzi związany jest ze zbyt wysokim stężeniem tego pierwiastka w komórce. Objawy zatrucia miedzią, związane są między innymi z antagonistycznym oddziaływaniem miedzi z kationami innych pierwiastków, głównie z wapniem, fosforem, żelazem i cynkiem. Prowadzi to do niedoboru tych pierwiastków w roślinie.

**Tabela 9.** Średnia energia adsorpcji dla korzeni stresowanych  $\text{Cu}^{+2}$  (śr. z 3 powtórzeń  $\pm 95\%$  przedział ufności). Zmiany istotnie różne ( $P < 0,05$ ) zaznaczono pogrubioną czcionką

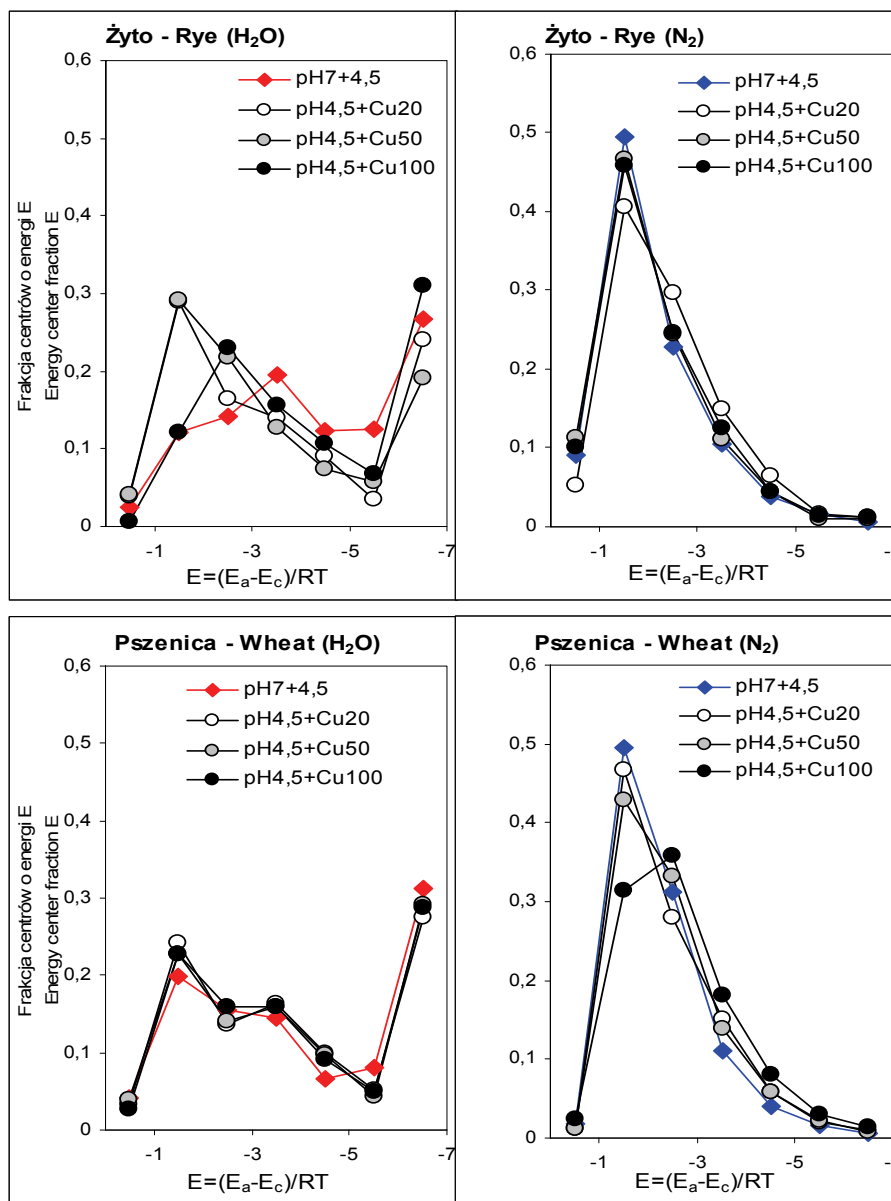
**Table 9.** Average adsorption energy of  $\text{Cu}^{+2}$  stressed roots (av. of 3 replicates  $\pm 95\%$  confidence interval). Bold – significant differences ( $P < 0.05$ )

Wariant Variant	<i>E</i> śr. – <i>E</i> av. – $\text{H}_2\text{O}$ ( $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ )			
	Żyto Rye	Pszenica Wheat	Łubin Lupine	Koniczyna Clover
pH7+4,5	16,3±0,4	14,2±0,09	14,01±0,3	14,6±0,1
pH4,5+20Cu	15,5±0,1	14,1±0,01	14,0±0,2	<b>13,6±0,2</b>
pH4,5+50Cu	<b>13,4±0,1</b>	14,0±0,09	<b>13,8±0,1</b>	<b>13,5±0,2</b>
pH4,5+100Cu	<b>13,2 ±0,1</b>	<b>13,4 ±0,04</b>	<b>13,2±0,3</b>	<b>13,3±0,1</b>
	<i>E</i> śr. – <i>E</i> av. – $\text{N}_2$ ( $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ )			
pH7+4,5	6,9±0,1	7,1±0,004	7,02±0,03	7,1±0,01
pH4,5+20Cu	7,2±0,1	7,2±0,002	7,0±0,02	7,1±0,001
pH4,5+50Cu	7,1±0,1	7,2±0,01	7,2±0,1	7,1±0,01
pH4,5+100Cu	7,1±0,1	7,4±0,01	7,1±0,1	7,1±0,01

Jony miedzi w dużych stężeniach spowodowały ograniczony pobór wapnia, a więc pośrednio wpłynęły na zmniejszenie cementującej roli pektynianów wapnia i na zwiększenie się powierzchni korzeni badanych roślin.

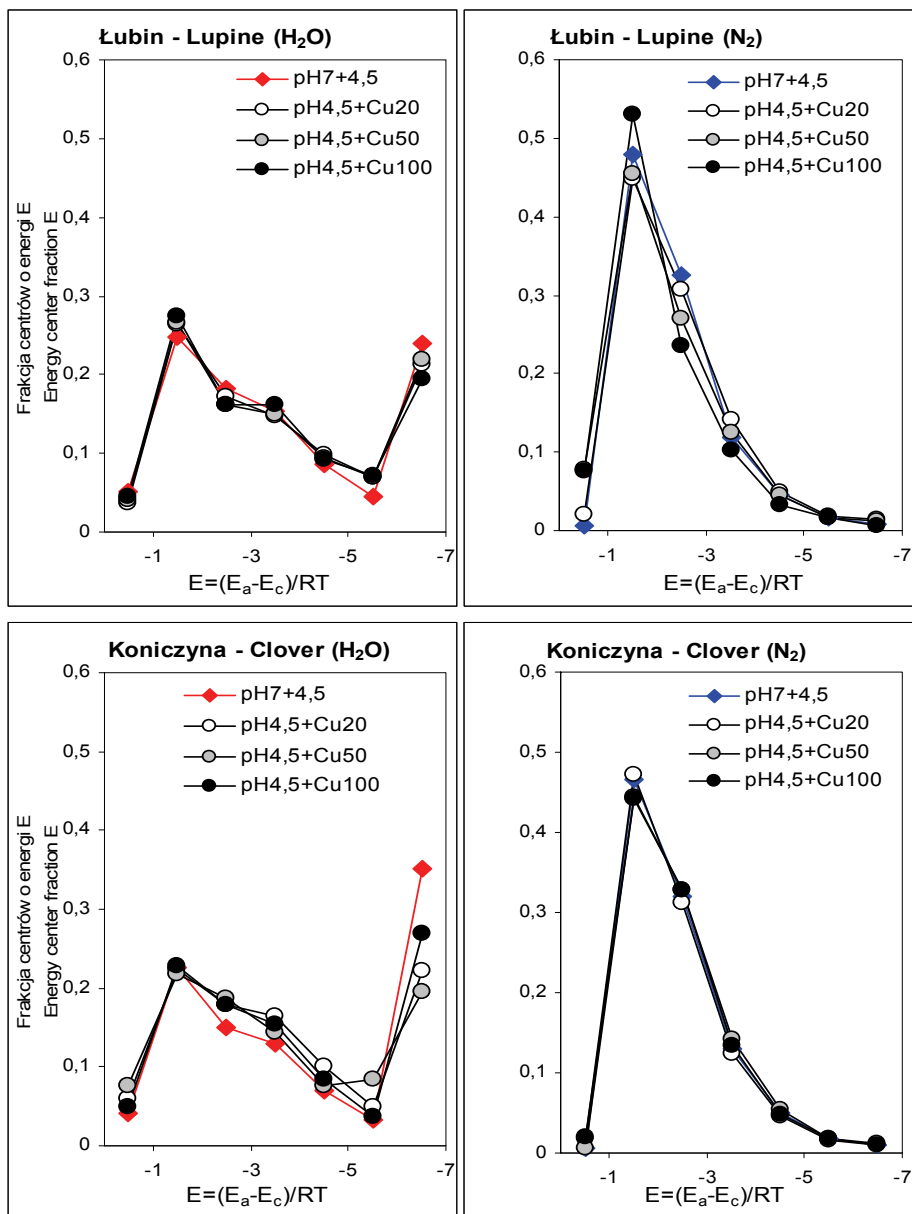
Ściana komórkowa stanowi jedną z mechanicznych i chemicznych barier na drodze wnikania metali ciężkich do symplastu. Immobilizację metali w ścianie komórkowej wykazano w przypadku jonów  $\text{Cu}^{+2}$ ,  $\text{Zn}^{+2}$ ,  $\text{Pb}^{+2}$  i  $\text{Al}^{+3}$  (Baranowska-Morek 2003, Siedlecka 1995). Zatem wiązanie jonów miedzi z grupami karboksylowymi pektyn ściany komórkowej mogło wpłynąć na zmniejszenie się wysokoenergetycznych centrów adsorpcyjnych, w dużej mierze odpowiedzialnych za energię adsorpcji polarnych adsorbatów.

Większość roślin wykazuje dużą wrażliwość na nadmiar w podłożu któregośkolwiek z mikroelementów. Prawdopodobnym jest więc, że mechanizmy obronne (unikania stresu czy detoksykacji) w badanych roślinach są obecne w małym stopniu. Zatem to raczej obecność miedzi w toksycznym stężeniu mogła mieć wpływ na zmianę strukturalnego i chemicznego charakteru powierzchni badanych korzeni, co z kolei wpłynęło na wielkości badanych powierzchni właściwych i jej charakterystyki energetyczne.



**Rys. 13.** Funkcje rozkładu energii adsorpcji dla korzeni roślin jednoliściennych, stresowanych  $\text{Cu}^{+2}$  (punkty pokazują wartości średnie z 3 powtórzeń)

**Fig. 13.** Adsorption energy distribution functions for roots of monocotyledonous plants under  $\text{Cu}^{+2}$  stress (points are average values from 3 replicates)



**Rys. 14.** Funkcje rozkładu energii adsorpcji dla korzeni roślin dwuliściennych, stresowanych  $\text{Al}^{+3}$  (punkty pokazują średnie z 3 powtórzeń)

**Fig. 14.** Adsorption energy distribution functions for roots of dicotyledonous plants under  $\text{Al}^{+3}$  stress (points are average values from 3 replicates)

### ***Podsumowanie rozdziału***

Powierzchnię korzenia tworzą apoplastyczne części komórek, tkanek zewnętrznych (epidermy i kory pierwotnej). Omawiana w tym rozdziale powierzchnia właściwa (pozorna i swobodna) zależy więc od struktury apoplastu czyli od ilości i wielkości przestworów międzykomórkowych oraz właściwości ścian komórkowych, różnych dla roślin jednoliściennych i dwuliściennych (Buchanan i in. 2000, Wojtaszek 2001).

Powierzchnie właściwe korzeni badanych roślin jednoliściennych były większe od powierzchni właściwych korzeni roślin bobowatych. Różnice w wielkości powierzchni pomiędzy obiema grupami badanych roślin były zdecydowanie bardziej wyraźne, dla pozornych powierzchni właściwych wyznaczanych polarnym adsorbentem (parą wodną), niż dla swobodnych powierzchni właściwych wyznaczanych azotem. W przypadku powierzchni właściwych wyznaczanych polarnym adsorbentem o ich wielkości decyduje w dużej mierze obecność dominujących w korzeniu grup polarnych: karboksylowych, hydroksylowych i aminowych ścian komórkowych. Swobodna powierzchnia właściwa determinowana jest przede wszystkim geometrią tkanek korzeniowych, szczególnie wielkością przestworów międzykomórkowych. Mniej wyraźne różnice w wielkości powierzchni właściwej wyznaczanej azotem pomiędzy korzeniami obu badanych grup roślin wskazują na to, iż grupy te nie różnią się w zasadniczy sposób od strony geometrycznej, a geometria powierzchni jest raczej indywidualną cechą gatunku czy nawet odmiany rośliny.

Charakter energetyczny powierzchni badanych korzeni wydaje się też być indywidualną cechą gatunkową, niezależną od przynależności do grupy roślin jednoliściennych czy dwuliściennych. Średnie energie adsorpcji azotu były praktycznie jednakowe dla wszystkich badanych korzeni, podobnie jak średnie energie adsorpcji pary wodnej dla korzeni pszenicy, łubinu i koniczyny i tylko dla korzeni badanej odmiany żyta nieco większe.

Obecność w środowisku wzrostu korzeni subletalnych czy letalnych (charakterystycznych dla danego gatunku czy odmiany) stężeń glinu i miedzi wpłynęła na zwiększenie się powierzchni właściwej badanych korzeni. Zdecydowanie bardziej wyraźnie wzrosła powierzchnia właściwa roślin dwuliściennych. Prawdopodobnie w wyniku niedoboru wapnia mogło dojść do ograniczenia cementującej roli pektynianów wapnia w wyniku czego tkanka korzeniowa uległa maceracji i tym samym powstały nowe chemicznie różne powierzchnie adsorpcyjne (Wagatsuma i in. 1987b, Józefaciuk i Szatanik-Kloc 2001, 2003). Rośliny jednoliścienne inkubowane w niższych stężeniach glinu i miedzi zareagowały nieznacz-

nym zmniejszeniem się powierzchni właściwej, co z kolei może być wynikiem unieruchamiania tych metali przez grupy karboksylowe pektyn i hemicelulozy ścian komórkowych (Baranowska-Morek 2003).

Z reguły wzrostowi powierzchni właściwej adsorbentów naturalnych towarzyszy również wzrost energii adsorpcji (Sokołowska 1989, 1992). W badanych korzeniach zaobserwowana była raczej tendencja odwrotna: wzrostowi powierzchni właściwej towarzyszył spadek energii adsorpcji, związany ze zmniejszeniem się względnych ilości wysokoenergetycznych centrów adsorpcyjnych. Prawdopodobnie silnie energetyczne grupy karboksylowe obecne w korzeniu mogły być blokowane przez jony miedzi i glinu. Możliwym jest również, że w warunkach stresu rośliny wyprodukowały związki o charakterze słabo kwaśnym, które charakteryzują się niską energią. Świadczy o tym wzrost względnych frakcji niskoenergetycznych centrów adsorpcyjnych w korzeniach stresowanych.

Zmiany charakterystyk powierzchniowych badanych korzeni pod wpływem czynników stresowych wyznaczane z metody adsorpcji-desorpcji niepolarnego adsorbentu (azotu) były mniej wyraźne niż przy wykorzystaniu metody adsorpcji-desorpcji pary wodnej. Niemniej jednak tendencje tych zmian szczególnie powierzchni właściwej były w obu metodach podobne.

## 5. MIKROPOROWATOŚĆ KORZENI

Geometryczny charakter powierzchni materiałów naturalnych w tym i biologicznych możemy scharakteryzować poprzez ich porowatość. Korzenie roślin są również wysoce porowate. Porowatą strukturę tkanki korzeniowej obserwowano pod mikroskopem (Robards 1970). Rozmiary porów w tkance korzeniowej określano także poprzez pomiar przepuszczalności osmotycznej (Carpita i in. 1976). Uważa się, że rozmiar porów ma znaczenie w pobieraniu i transporcie jonów oraz w procesie transportu molekularnego (Clarkson, 1991). Obecność stresorów w środowisku rozwoju korzeni może wpływać na morfologiczne i anatomiczne właściwości tkanki korzeniowej, a pośrednio i na zmiany porowatości korzeni.

### 5.1. Mikroporowatości korzeni wyznaczana metodami adsorpcyjnymi

Mikroporowatość badanego materiału korzeniowego określono na podstawie izoterm desorpcji (Kruk i Jaroniec 2001, Choma i Jaroniec 2007). Założono, że przy danym ciśnieniu pary  $p$ , cząsteczki adsorbentu podlegają kondensacji kapilarnej w porach cylindrycznych o promieniu  $r$  (nm). Zależność promienia porów od ciśnienia obliczano na podstawie równania Thomsona Kelvina:

$$RT \ln(p/p_0) = -2V_M \gamma_w \cos \alpha_w / r(p) \quad (6)$$

gdzie: równowagowa prężność pary nad adsorbentem  $p$  traktowana jest jako prężność pary nasyconej nad powierzchnią menisku w porach  $r$ , a prężność pary nasyconej  $p_0$  jest prężnością pary nasyconej nad powierzchnią płaską,  $V_M$  ( $\text{m}^3$ ) jest objętością molową adsorbentu,  $\gamma_w$  ( $\text{J}\cdot\text{m}^{-2}$ ) napięciem powierzchniowym,  $\alpha_w$  jest kątem zwilżania powierzchni fazy stałej przez ciecz, który przyjęto za równy zero. Zatem  $\cos \alpha_w = 1$  i promień porów jest praktycznie równy promieniowi krzywizny menisku adsorbentu. Objętość kondensatu przy danej prężności adsorbentu  $v(p/p_0)$  traktowano jako sumę objętości porów  $v_i$  o promieniu  $r_i \leq r(p/p_0)$ , stąd całkowita objętość kondensatu we wszystkich porach jest dana jako:

$$v(p/p_0) = \sum_{i=1}^n v_i(r_i) \quad (7)$$

Przyjęto, że kondensacja kapilarna zachodzi w porach o średnicach powyżej 1nm, co odpowiada wartości  $p/p_0 = 0,35$  (jest to w przybliżeniu prężność adsorbentu poniżej której adsorpcja zachodzi głównie w monowarstwie), natomiast końcową wartość  $p/p_0$  przyjęto arbitralnie jako równą  $p/p_0 = 0,98$  (powyżej tej wartości obliczenia  $p/p_0$  na podstawie gęstości kwasu siarkowego dla adsorpcji pary wodnej były niepewne). Jako całkowitą objętość porów przyjęto więc wartość:

$$v_t = v(p/p_0 = 0,98) - v(p/p_0 = 0,35). \quad (8)$$

Po podzieleniu równania (7) przez całkowitą objętość porów  $v_t$ , otrzymujemy:

$$v(p/p_0)/v_t = \sum v_i(r_i)/v_t = \sum f(r_i) \quad (9)$$

gdzie  $f(r_i)$  są frakcjami poszczególnych porów. Liczebność przedziałów do wyznaczenia rozkładów (frakcji) porów ustalano tak, aby otrzymane rozkłady z powtórzeń izoterm desorpcji były podobne dla powtórzeń tych samych próbek. Ponieważ zakres badanych promieni porów obejmował kilka rzędów wielkości, funkcję rozkładu wielkości porów przedstawiano względem logarytmu z promienia, a więc dane eksperymentalne podzielono w skali logarymicznej na 5 przedziałów: I obejmujący frakcje porów o promieniu (w nm)  $< 1-2,2>$ , II –  $< 2,2-4,8>$ , III –  $< 4,8-10,5>$ , IV –  $< 10,5-22,9>$ , V –  $< 22,9-50>$ .

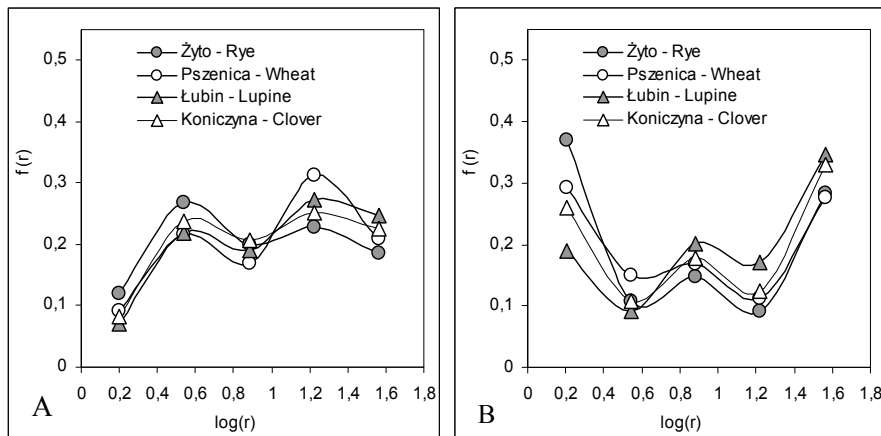
Średnią wielkość promienia porów w badanym zakresie rozmiarów ( $r_{av}$ ) obliczono ze wzoru:

$$r_{av} = 1/(2v_t) \sum (r_i + r_{i+1})(v_{i+1} - v_i) \quad (10)$$

gdzie  $v_t$  jest całkowitą objętością porów,  $v_i$  jest objętością adsorbentu o promieniu  $r_i$ , a  $v_{i+1}$  jest objętością adsorbentu przy kolejnej większej zadanej wartości promienia.

## 5.2. Charakterystyka mikroporowatości korzeni badanych roślin jedno i dwuliściennych

Na rysunku 15 przedstawione są funkcje rozkładu mikroporów dla badanych korzeni roślin jedno i dwuliściennych wyznaczane z izoterm desorpcji pary wodnej i azotu. Rozkład mikroporów wyznaczany z izoterm desorpcji pary wodnej jest nieco inny niż rozkład mikroporów wyznaczany z izoterm desorpcji azotu. Dla adsorbentów wąsko porowatych (do jakich możemy zaliczyć korzenie roślin) znaczenie w procesie adsorpcji-desorpcji ma rodzaj stosowanego adsorbentu. Większe cząsteczki adsorbentu (pole powierzchni cząsteczki azotu wynosi  $1,62 \text{ nm}^2$ , pole powierzchni cząsteczki wody wynosi  $1,08 \text{ nm}^2$ ) nie mieszczą się w niektórych porach adsorbentu. W przypadku wyznaczania funkcji rozkładu mikroporów z izoterm desorpcji azotu następuje przesunięcie frakcji najmniejszych mikroporów, powoduje to zmiany w funkcji rozkładu mikroporów w stosunku do funkcji rozkładu mikroporów wyznaczanych z izoterm desorpcji pary wodnej. Niemniej jednak w przypadku obu adsorbentów, korzenie roślin jednoliściennych posiadają większą ilość frakcji mikroporów o promieniu 1-2 nm ( $\log 0,2$ ) i mniejszą ilość frakcji mikroporów, o promieniu 22,9-50 nm ( $\log 1,56$ ). W korzeniach roślin dwuliściennych (szczególnie w korzeniach łubinu) przeważają frakcje mikroporów z grupy IV i V, a więc są to mikropory o promieniu od 10,5 do 50 nm.



**Rys. 15.** Funkcja rozkładu mikroporów w badanych korzeniach; A – z  $\text{H}_2\text{O}$ , B – z  $\text{N}_2$ . Dane eksperymentalne podzielono w skali logarytmicznej na pięć przedziałów: I – obejmujący frakcje porów o promieniu  $< 1-2,2 >$  nm ( $\log 0,2$ ), II –  $< 2,2-4,8 >$  nm ( $\log 0,54$ ), III –  $< 4,8-10,5 >$  nm ( $\log 0,88$ ), IV –  $< 10,5-22,9 >$  nm ( $\log 1,22$ ), V –  $< 22,9-50 >$  nm ( $\log 1,56$ )

**Fig. 15.** Micropore size distribution functions for roots studied; A – with  $\text{H}_2\text{O}$ , B – with  $\text{N}_2$ . Experimental data are divided into five logarithmically equal ranges: I – pore fractions with radii  $< 1-2.2 >$  nm ( $\log 0.2$ ), II –  $< 2.2-4.8 >$  nm ( $\log 0.54$ ), III –  $< 4.8-10.5 >$  nm ( $\log 0.88$ ), IV –  $< 10.5-22.9 >$  nm ( $\log 1.22$ ), V –  $< 22.9-50 >$  nm ( $\log 1.56$ )

Charakterystykę całkowitej objętości i średniego promienia mikroporów (wyznaczanych parą wodną i azotem) w badanych korzeniach roślin jednoliściennych i dwuliściennych przedstawiono w tabeli 10. Istotne statystycznie różnice zarówno w średnim promieniu porów jak i w całkowitej ich objętości (wyznaczanych z izoterm desorpcji pary wodnej) odnotowano tylko dla korzeni łubinu (tab. 11). Korzenie tej rośliny miały największy średni promień mikroporów, ale zarazem najmniejszą całkowitą objętość mikroporów. Oznacza to, że porowatość tkanki korzeniowej łubinu determinowana jest frakcjami mikroporów o większych średnicach. Statystycznie istotne różnice odnotowano również dla średniego promienia mikroporów korzeni koniczyny, wyznaczanego z izoterm desorpcji azotu, co może oznaczać, że większe (niż molekuly pary wodnej) cząsteczki azotu nie wykrywają drobnych mikroporów w korzeniach koniczyny.

**Tabela 10.** Średni promień mikroporów ( $r_{sr}$ ) i całkowita objętość mikroporów ( $V_t$ ) korzeni roślin jedno i dwuliściennych, wyznaczone z desorpcji pary wodnej i azotu (śr. z 3 powtórzeń  $\pm 95\%$  przedział ufności)  
**Table 10.** Average micropore radius ( $r_{sr}$ ) and total micropore volume ( $V_t$ ) for roots of monocotyledonous and dicotyledonous plants, determined from water vapour and nitrogen desorption (av. from 3. replicates  $\pm 95\%$  confidence interval)

Rośliny – Plants	$V_t$ (H <sub>2</sub> O)	$r_{sr}$ (H <sub>2</sub> O)	$V_t$ (N <sub>2</sub> )	$r_{sr}$ (N <sub>2</sub> )
	(mm <sup>3</sup> ·g <sup>-1</sup> )	(nm)	(mm <sup>3</sup> ·g <sup>-1</sup> )	(nm)
Żyto – Rye	753±2,2	12,9±0,1	38,0±1,5	13,9±1,2
Pszenica – Wheat	763±0,8	13,8±0,6	30,0±0,2	14,2±0,3
Łubin – Lupine	591±0,8	15,1±0,1	39,7±0,7	17,9±0,3
Koniczyna – Clover	741±3,4	13,7±0,4	33,4±1,4	16,6±1,3

Całkowita objętość mikroporów w tkance korzeniowej żyta, pszenicy i koniczyny nie różni się istotnie od siebie, podobnie jak wielkość średniego promienia (wyznaczanego z izoterm desorpcji pary wodnej) korzeni tych roślin. Natomiast na wielkość całkowitej objętości mikroporów i wielkość średniego promienia wpłynął zdecydowanie rodzaj adsorbentu wykorzystanego do charakterystyki porowatości badanych korzeni. Całkowita objętość mikroporów badanych korzeni wyznaczana z izoterm desorpcji pary wodnej (w przeliczeniu na jednostkę masy) była znacznie większa niż całkowita objętość mikroporów wyznaczana azotem. Jednocześnie średni promień mikroporów szacowany z danych desorpcji azotu był większy niż średni promień szacowany z desorpcji pary wodnej. Wynika to, jak już wcześniej wspomniano, z różnych właściwości adsorbatów – polarnego i niepolarnego, głównie z różnicy w wielkości powierzchni molekuł azotu i pary wodnej. W przypadku zastosowania pary wodnej geometria materiału biologicznego może być również w wysokim stopniu zależna od zdolności nawilżania i oddawania wody przez ten materiał. Charakterystyka porowatości badanych

korzeni nie wykazała zdecydowanego podziału na rośliny jedno i dwuliścienne. Zatem można sądzić, że porowatość korzeni determinowana jest raczej właściwościami danego gatunku czy też odmiany, które zależą od budowy morfologicznej i anatomicznej korzenia, między innymi od wielkości przestworów międzykomórkowych i budowy ściany komórkowej, komórek tworzących zewnętrzne tkanki korzenia.

**Tabela 11.** Analiza statystyczna badanych wielkości: Test Studenta, dwustronny, Typ-2 (homeostaticzny), w którym zakłada się, że wariancje dla średnich z próby nie różnią się między sobą – średnie są jednakowe w  $\pm 95\%$  poziomie istotności. 1 – prawda, 0 – fałsz

**Table 11.** Statistical analysis of obtained results: Student test, Two tailed, Type 2 (homoscedastic), in which it is assume that variances for average of samples do not differ significantly from each other – averages are the same for  $\pm 95\%$  confidence level. 1 – True, 0 – False

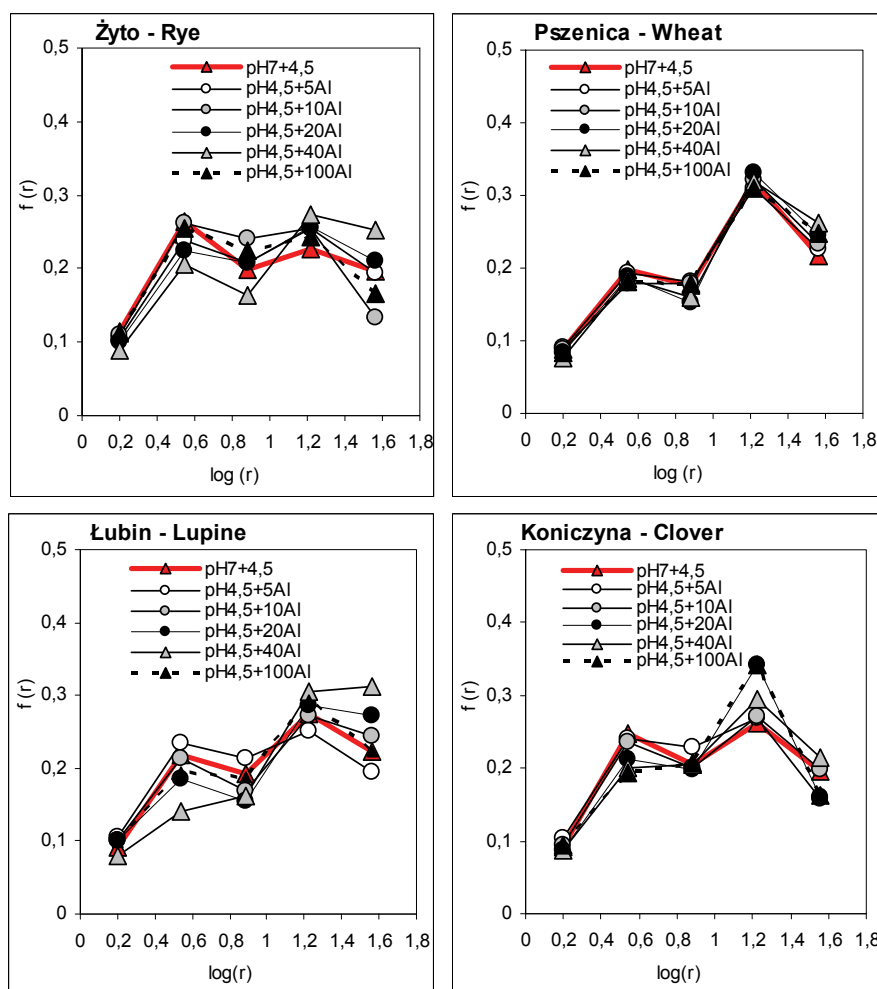
Wariant Variance	A	B	C	D
	$r_{sr}(H_2O)$			
A	1	1	0	1
B	1	1	0	1
C	0	0	1	0
D	1	1	0	1
$V_t(H_2O)$				
A	1	1	0	1
B	1	1	0	1
C	0	0	1	0
D	1	1	0	1
$r_{sr}(N_2)$				
A	1	1	0	0
B	1	1	0	0
C	0	0	1	1
D	0	0	1	1
$V_t(N_2)$				
A	1	1	0	1
B	1	1	0	1
C	0	0	1	0
D	1	1	0	1

A – Żyto – Rye, B – Pszenica – Wheat, C – Łubin – Lupine, D – Koniczyna – Clover.

### 5.3. Wpływ jonów glinu na mikroporowatość

Fitotoksyczne stężenia jonów glinu wpływają na zmiany morfologiczne i anatomiczne tkanki korzeniowej, co odzwierciedla się również zmianami mikroporowatości korzeni (Józefaciuk i Szatanik-Kloc 2001, Szatanik-Kloc 2006b, Szatanik-Kloc i Józefaciuk 2005, 2007). Na rysunku 16 przedstawiono funkcje rozkła-

du mikroporów (wyznaczana z izoterm desorpcji pary wodnej) dla korzeni badanych roślin stresowanych glinem. Praktycznie dla wszystkich korzeni roślin jedno i dwuliściennych rosnących w obecności czynnika stresowego, nieznacznie (w stosunku do korzeni kontrolnych) spadła frakcja mikroporów o niewielkich promieniach od 1 do około 5 nm (przy  $\log(r) = 0,2$  do  $0,54$ ), wzrosły natomiast frakcje mikroporów o promieniach 10,5 do 22,9 nm ( $\log(r) = 1,22$  do  $1,56$ ).



**Rys. 16.** Funkcja rozkładu mikroporów korzeni roślin jedno i dwuliściennych stresowanych glinem, wyznaczana z izoterm desorpcji pary wodnej (śr. z 3 powtórzeń)

**Fig. 16.** Micropore size distribution functions for Al-stressed roots of the mono and dicotyledonous plants as determined using water vapour desorption isotherms (av. of 3 replicated experiments)

O ile na zmiany w ilości mniejszych mikroporów w zasadzie nie wpłynęło nasilenie czynnika stresowego, to zmiany frakcji mikroporów o większych promieniach determinowane były stężeniem glinu w pożywce. Stężenia jonów  $Al^{+3}$  5, 10 i  $100\text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  pożywki, wpłynęły na nieznaczny spadek w korzeniach frakcji mikroporów o największym promieniu. Z kolei dla korzeni inkubowanych w stężeniach glinu rzędu 20 i  $40\text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztworu, ilość mikroporów o promieniach z zakresu 10,5-22,9 nm i 22,9-50 nm wyraźnie wzrosła. Zmiany średniego promienia i całkowitej objętości mikroporów pod wpływem glinu (wyznaczone z desorpcji pary wodnej) dla badanych korzeni przedstawiono w tabeli 12. Statystycznie istotne różnice w odniesieniu do korzeni roślin kontrolnych uzyskane w teście t-Studenta zaznaczono pogrubioną czcionką.

**Tabela 12.** Średni promień mikroporów ( $r_{sr.}$ ) i całkowita objętość mikroporów ( $V_t$ ) korzeni stresowanych glinem, wyznaczone z desorpcji pary wodnej (śr. z 3 powtórzeń  $\pm 95\%$  przedział ufności). Pogrubioną czcionką zaznaczono statystycznie istotne różnice ( $P < 0,05$ ) w stosunku do korzeni roślin kontrolnych  
**Table 12.** Average micropore radius ( $r_{av.}$ ) and total micropore volumes ( $V_t$ ) for Al-stressed roots, calculated from water vapour desorption isotherms (av. for the 3 replicated experiments  $\pm 95\%$  confidence interval). Bold – Statistically significant differences ( $P < 0.05$ )

Rośliny Plants	pH7+4,5	pH4,5+ 5Al	pH4,5+ 10Al	pH4,5+ 20Al	pH4,5+ 40Al	pH4,5+ 100Al
	$r_{sr.-av.} - H_2O$ (nm)					
Żyto – Rye	12,9±0,1	13,2±0,3	13,1±0,9	<b>14,8±0,6</b>	<b>15,5±1,1</b>	12,9±0,8
Pszenica – Wheat	13,8±0,4	14,3±0,7	13,9±0,6	<b>14,8±0,3</b>	<b>15,6±0,4</b>	14,5±0,3
Łubin – Lupine	15,1±0,1	15,0±0,2	15,6±0,2	<b>16,7±0,4</b>	<b>18,3±0,5</b>	15,3±0,1
Koniczna – Clover	13,7±0,4	13,9 ±0,9	14,2±0,4	<b>15,1±0,1</b>	<b>15,9 ±0,3</b>	14,1±0,1
$V_t - H_2O$ ( $\text{mm}^3\cdot\text{g}^{-1}$ )						
Żyto – Rye	753±2,2	735±0,5	737±1,2	706±4,7	729±5,1	740±1,1
Pszenica – Wheat	763±0,8	760±0,2	738±0,2	735±0,2	783±0,2	770±0,2
Łubin – Lupine	591±0,8	<b>523±0,3</b>	<b>522±0,1</b>	<b>541±0,8</b>	<b>671±0,3</b>	<b>747±1,1</b>
Koniczna – Clover	741±3,4	722±3,7	721±6,5	772±5,2	<b>807±1,7</b>	<b>843±0,1</b>

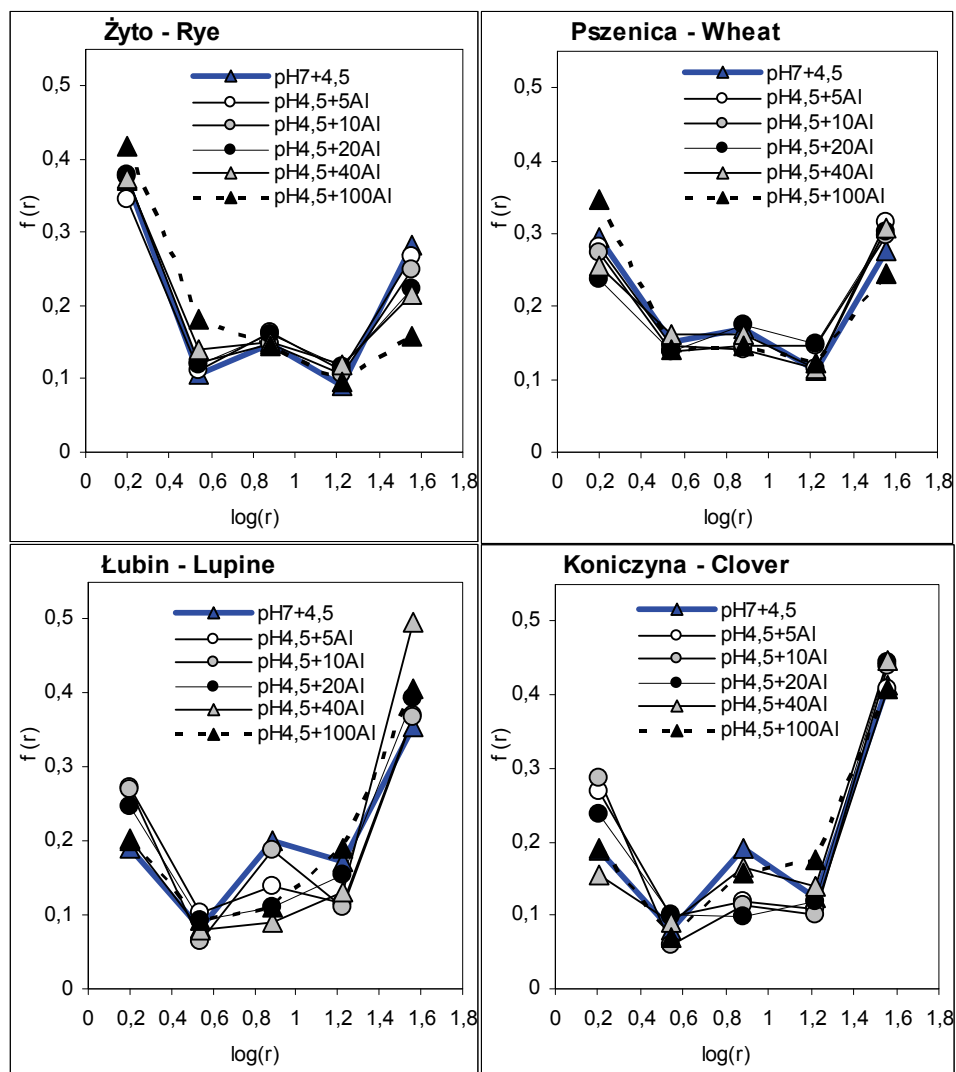
Średni promień mikroporów dla badanych korzeni stresowanych glinem w odniesieniu do korzeni kontrolnych wzrastał. Dla korzeni roślin jednoliściennych średni promień mikroporów wzrastał praktycznie w całym zakresie stosowanych w doświadczeniu stężeń glinu. Podobnie zmieniał się średni promień mikroporów dla korzeni roślin dwuliściennych. Natomiast wszystkie korzenie badanych roślin inkubowane w ekstremalnym stężeniu glinu wykazywały tendencje do zmniejszania się średniego promienia mikroporów. Istotne różnice w wiel-

kości średniego promienia mikroporów (w odniesieniu do korzeni kontrolnych) odnotowano dla korzeni wszystkich badanych roślin inkubowanych w stężeniach glinu rzędu 20 i 40 mg·dm<sup>-3</sup> pożywki.

Całkowita objętość mikroporów w korzeniach żyta (w odniesieniu do korzeni rosnących bez glinu), nieznacznie zmniejszyła się w całym zakresie stosowanych w doświadczeniu stężeń glinu. Dla korzeni pozostałych badanych roślin inkubowanych w niższych stężeniach 5, 10 i 20 mg·dm<sup>-3</sup> jonów Al<sup>+3</sup> w pożywce całkowita objętość mikroporów również zmniejszyła się. Natomiast dla korzeni pszenicy i dla korzeni badanych roślin dwuliściennych inkubowanych w stężeniach glinu 40 i 100 mg·dm<sup>-3</sup> roztworu pożywki, całkowita objętość mikroporów wzrosła, przy czym statystycznie istotne zmiany w całkowitej porowatości odnotowano tylko dla korzeni łubinu (praktycznie w całym zakresie stosowanych stężeń glinu) i dla korzeni koniczyny przy najwyższych stężeniach jonów Al<sup>+3</sup> w pożywce.

Zmiany strukturalne tkanki korzeniowej powstałe w wyniku stresu glinowego były już niejednokrotnie odnotowywane w literaturze. Obserwowano daleko posuniętą destrukcję korzenia: macerację tkanki, zanik jąder i rozpad ścian komórkowych (Wagatsuma i in. 1987b, Klimaszewski 1990, Schmohl i Horst 2001, Szatanik-Kloc2006b). Prowadzi to do zmian geometrycznego charakteru powierzchni korzeni. Zwiększenie się średniego promienia mikroporów i całkowitej ich objętości dla korzeni inkubowanych w subletalnych czy letalnych dla danej rośliny stężeniach czynnika stresowego świadczy o „rozmywaniu” się porowatej struktury tkanki korzeniowej. Niewątpliwie w przypadku takiego czynnika stresowego jak glin, wpływ na fizjologiczne, metaboliczne, a pośrednio i na strukturalne zmiany będzie miała zdolność roślin do aktywowania mechanizmów obronnych. Obecność tych mechanizmów przy niskich stężeniach glinu w roztworze pożywki, na której rosły korzenie mogła mieć wpływ na nieznaczne zmniejszenie się badanych wielkości, charakteryzujących strukturę tkanki korzeniowej

Funkcje rozkładu mikroporów dla badanych korzeni, szacowane z izotermy desorpcji azotu (rys. 17) były nieco inne niż rozkłady mikroporów tych korzeni wyznaczone z desorpcji pary wodnej, co jest wynikiem omówionych wcześniej różnic w charakterze adsorbentu. Funkcje rozkładu dla korzeni roślin jednoliściennych stresowanych glinem pokazały nieznaczne zmniejszenie się frakcji mikroporów o promieniu z zakresu 1-2,2 nm (log 0,2) i niewielki wzrost (w przypadku korzeni pszenicy) frakcji mikroporów o największym badanym w doświadczeniu promieniu, z zakresu 22,9-50 nm (log 1,56), w odniesieniu do korzeni kontrolnych (bez glinu). Z kolei dla korzeni łubinu i koniczyny stresowanych glinem, frakcja mikroporów o promieniu z zakresu 1-2,2 nm nieznacznie wzrosła, natomiast odnotowano bardziej wyraźnie zmniejszenie się frakcje mikroporów o promieniu od 2,2-22,9 nm oraz zwiększenie się ilość mikroporów o największym promieniu.



**Rys. 17.** Funkcja rozkładu mikroporów korzeni roślin jedno i dwuliściennych stresowanych glinem, wyznaczana z izoterm desorpcji azotu (śr. z 3 powtórzeń)

**Fig. 17.** Micropore size distribution functions for Al-stressed roots of monocotyledonous and dicotyledonous plants as determined using nitrogen desorption (av. from 3 replicates)

Pomimo, że rozkłady mikroporów liczone z izoterm desorpcji dwóch różnych adsorbatów różnią się (szczególnie w zakresie mikroporów o najmniejszym promieniu) pomiędzy sobą, to tendencje zmian charakterystyk mikroporowości

korzeni stresowanych glinem są podobne. Dla korzeni stresowanych glinem średni promień mikroporów zwiększył się. Statystycznie istotne różnice w wielkości średniego promienia mikroporów odnotowano dla korzeni wszystkich roślin inkubowanych w stężeniach glinu  $40 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztworu pożywki. Dla korzeni roślin dwuliściennych, dodatkowo również statystycznie istotne różnice, odnotowano dla korzeni inkubowanych w stężeniach glinu 20 i  $100 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  pożywki, natomiast w korzeniach pszenicy, różnice w wielkości średniego promienia mikroporów przy tych stężeniach glinu były na granicy istotności (tab. 13)

**Tabela 13.** Średni promień mikroporów ( $r_{sr.}$ ) i całkowita objętość mikroporów ( $V_t$ ) korzeni stresowanych glinem, wyznaczone z izoterm desorpcji azotu (śr. z 3 powtórzeń  $\pm 95\%$  przedział ufności). Pogrubioną czcionką zaznaczono statystycznie istotne różnice ( $P < 0,05$ ) w odniesieniu do korzeni kontrolnych

**Table 13.** Average micropore radius ( $r_{av.}$ ) and total micropore volumes ( $V_t$ ) for Al-stressed roots, calculated from nitrogen desorption isotherms (av. for the 3 replicated experiments  $\pm 95\%$  confidence interval). Bold – Statistically significant differences ( $P < 0.05$ )

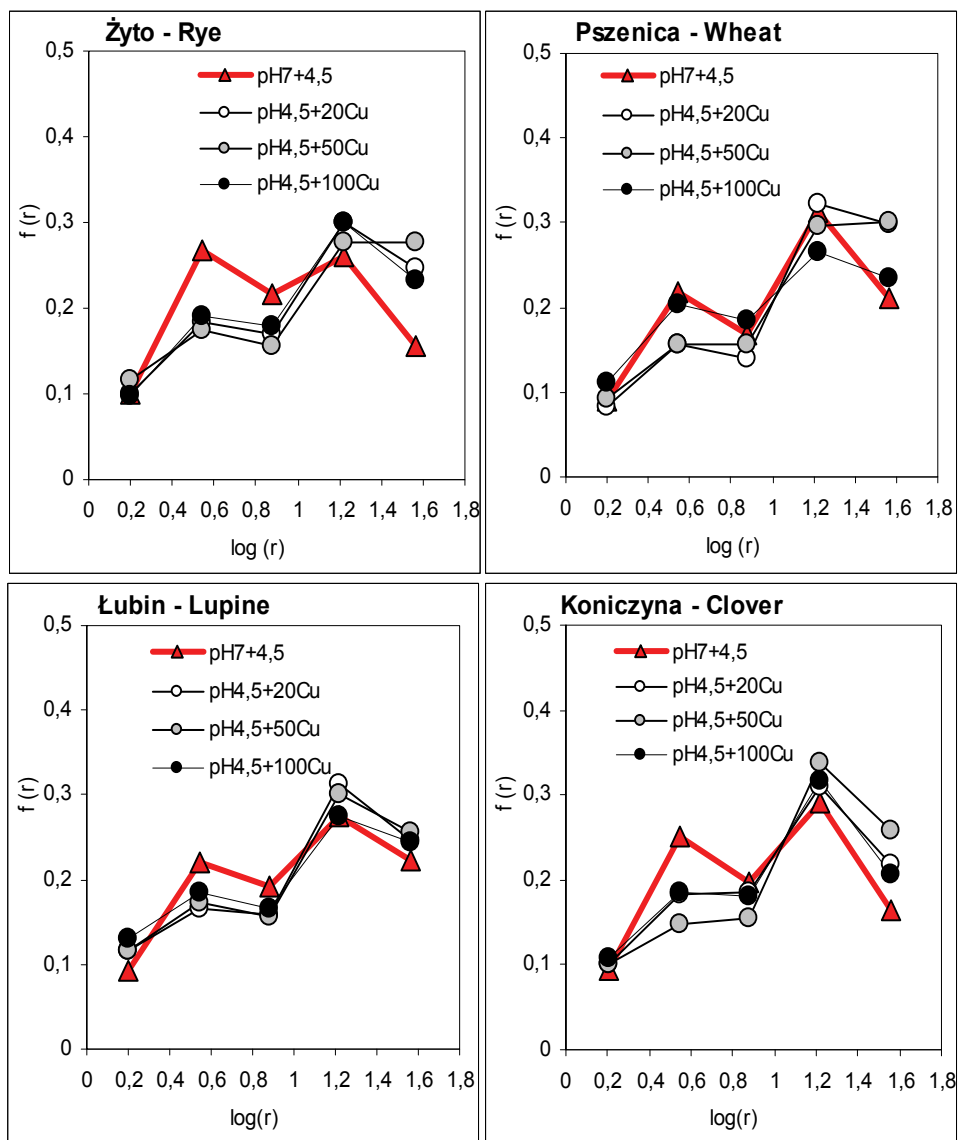
Rośliny Plants	pH7+4,5	pH4,5+ 5Al	pH4,5+ 10Al	pH4,5+ 20Al	pH4,5+ 40Al	pH4,5+ 100Al
	$r_{sr.-av.} - N_2$ (nm)					
Żyto – Rye	13,9 $\pm$ 1,2	14,3 $\pm$ 0,3	14,0 $\pm$ 0,4	15,4 $\pm$ 0,3	<b>16,6<math>\pm</math>1,4</b>	14,2 $\pm$ 0,3
Pszenica – Wheat	14,9 $\pm$ 0,3	15,1 $\pm$ 0,2	15,4 $\pm$ 0,3	16,1 $\pm$ 0,6	<b>16,9<math>\pm</math>0,5</b>	15,6 $\pm$ 0,3
Łubin – Lupine	17,9 $\pm$ 0,3	17,8 $\pm$ 0,2	18,0 $\pm$ 0,3	<b>19,5<math>\pm</math>1,3</b>	<b>20,5<math>\pm</math>0,8</b>	<b>19,1<math>\pm</math>0,2</b>
Koniczna – Clover	16,6 $\pm$ 1,3	17,8 $\pm$ 1,8	18,1 $\pm$ 0,3	<b>19,2 <math>\pm</math>0,3</b>	<b>19,9<math>\pm</math>0,4</b>	<b>18,9<math>\pm</math>0,4</b>
$V_t - N_2$ ( $\text{mm}^3\cdot\text{g}^{-1}$ )						
Żyto – Rye	37,7 $\pm$ 1,5	37,2 $\pm$ 0,59	37,1 $\pm$ 0,4	36,8 $\pm$ 0,2	37,9 $\pm$ 0,6	38,7 $\pm$ 0,2
Pszenica – Wheat	26,0 $\pm$ 0,2	25,8 $\pm$ 0,3	25,2 $\pm$ 0,2	<b>24,8<math>\pm</math>0,3</b>	26,2 $\pm$ 1,1	26,9 $\pm$ 0,4
Łubin – Lupine	39,7 $\pm$ 0,7	<b>35,5<math>\pm</math>1,0</b>	<b>35,7<math>\pm</math>0,9</b>	39,0 $\pm$ 1,5	<b>49,6<math>\pm</math>2,3</b>	<b>50,2<math>\pm</math>0,1</b>
Koniczna – Clover	33,0 $\pm$ 1,4	32,5 $\pm$ 2,2	32,1 $\pm$ 0,4	33,4 $\pm$ 0,3	<b>39,5<math>\pm</math>1,0</b>	<b>41,2<math>\pm</math>0,2</b>

Wyznaczana z izoterm desorpcji azotu całkowita objętość mikroporów dla korzeni wszystkich roślin inkubowanych w stężeniach glinu rzędu 5, 10, 20  $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  w nieznanym stopniu zmniejszyła się. Przy wyższych stężeń glinu całkowita objętość mikroporów zwiększyła się, przy czym statystycznie istotne różnice odnotowano dla korzeni roślin dwuliściennych inkubowanych w 40 i  $100 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  glinu w pożywce, oraz dla korzeni pszenicy stresowanej glinem w stężeniu  $20 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Podobnie jak w przypadku zastosowania pary wodnej do charakterystyk mikroporowatości, szacowane z azotu poszczególne frakcje mikroporów, a dalej całkowita

ich objętość i średni promień wydają się być bardziej zróżnicowane pod wpływem glinu dla korzeni roślin dwuliściennych.

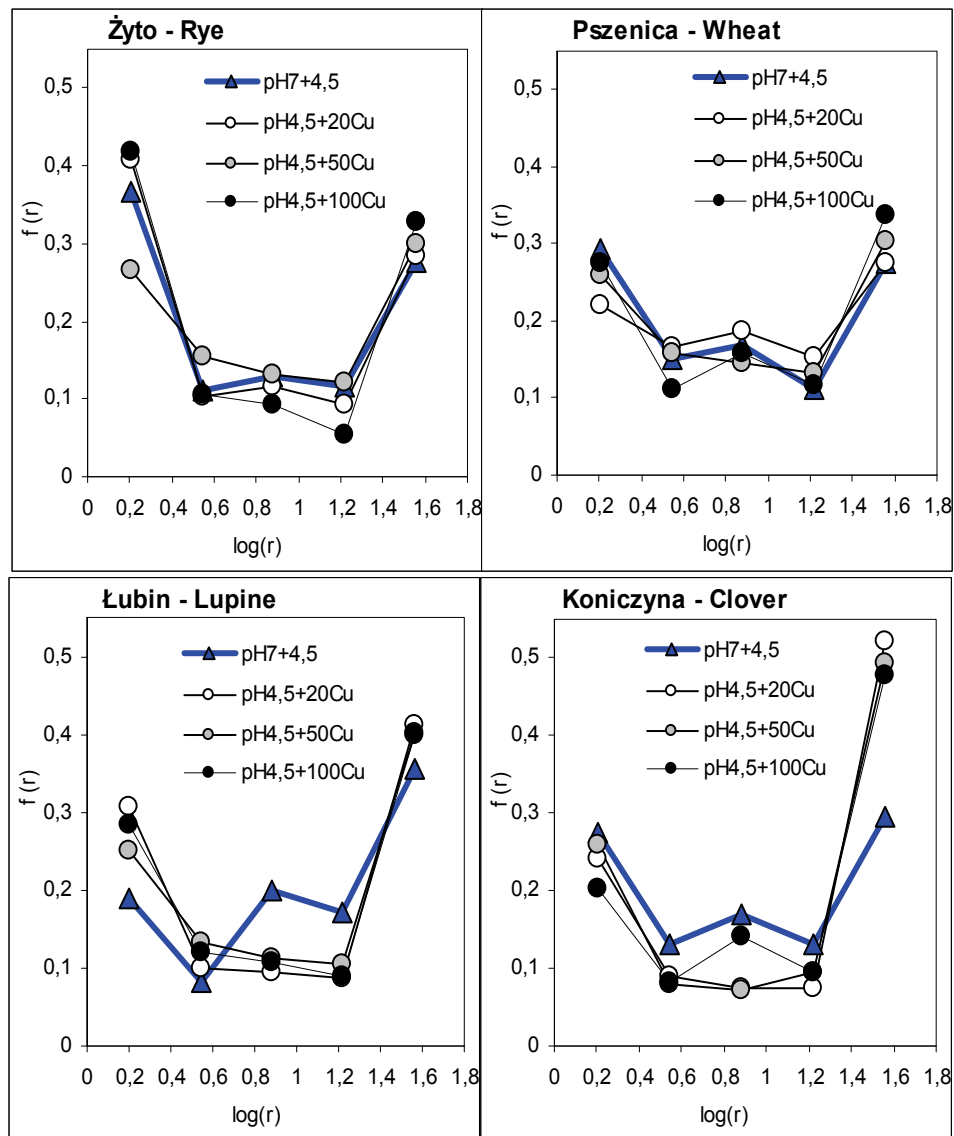
#### 5.4. Wpływ jonów miedzi na mikroporowatość

Zdecydowanie większy wpływ na strukturę tkanki korzeniowej miały fitotoksyczne stężenia miedzi, zaaplikowane dodatkowo do pożywki, na której rosły badane rośliny. Rysunek 18 przedstawia funkcje rozkładu mikroporów (wyznaczone z izoterm desorpcji pary wodnej) dla korzeni rosnących przy dodatkowej aplikacji miedzi. Dla wszystkich badanych korzeni roślin inkubowanych w fitotoksycznych stężeniach miedzi zdecydowanie wyraźnie zmniejszyły się frakcje mikroporów o promieniach z zakresu 2,2-10,5 nm. Równie wyraźnie wzrosły frakcje mikroporów o większych promieniach, powyżej 10,5 nm. Funkcje rozkładu mikroporów wyznaczone z izoterm desorpcji azotu dla badanych korzeni stresowanych miedzią przedstawiono na rysunku 19, na którym można zaobserwować wyraźne zmniejszenie się ilości frakcji mikroporów o promieniu 4,8 do 22,9 (rys.19,  $\log(r) = 0,88$  do  $\log(r) = 1,22$ ) w porównaniu z korzeniami rosnącymi bez dodatkowej aplikacji miedzi oraz zwiększenie się frakcji mikroporów o promieniu 22,9 do 50 nm. Zmiany ogólnego charakteru mikroporowatości badanych korzeni inkubowanych przy dodatkowych aplikacjach miedzi, wyrażono poprzez średni promień mikroporów i całkowitą ich objętość. Charakterystykę mikroporowatości, wyznaczoną z desorpcji pary wodnej przedstawiono w tabeli 14. U wszystkich badanych korzeni roślin jedno i dwuliściennych inkubowanych przy fitotoksycznych stężeniach jonów  $\text{Cu}^{+2}$ , średni promień mikroporów wzrósł w porównaniu z korzeniami, które rosły w pożywce bez dodatkowej aplikacji miedzi. Wszystkie stosowane stężenia miedzi w pożywce wpłynęły istotnie na zwiększenie się średniego promienia mikroporów w badanych korzeniach, przy czym największe zmiany średniego promienia mikroporów odnotowano dla korzeni inkubowanych w stężeniu miedzi rzędu  $50 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  pożywki. Jednocześnie odnotowano zmniejszenie się całkowitej objętości mikroporów w korzeniach stresowanych miedzią. Analogicznie do promienia, najmniejszą objętość mikroporów odnotowano dla korzeni inkubowanych w stężeniu miedzi  $50 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  pożywki. Zarówno korzenie roślin jedno- jak i dwuliściennych inkubowane w dodatkowej aplikacji miedzi zareagowały statystycznie istotnymi różnicami badanych charakterystyk mikroporowatości.



**Rys. 18.** Funkcje rozkładu mikroporów dla korzeni stresowanych miedzią, wyznaczonych z izoterm desorpcji pary wodnej (śr. z 3 powtórzeń)

**Fig. 18.** Micropore size distribution functions of Cu-stressed roots calculated from water vapour desorption isotherms (av. from 3 replicates)



**Rys. 19.** Funkcje rozkładu mikroporów dla korzeni stresowanych miedzią, wyznaczonych z izoterm desorpcji pary wodnej (śr. z 3 powtórzeń)

**Fig. 19.** Micropore size distribution functions of Cu-stressed roots calculated from water vapour desorption isotherms (av. from 3 replicates)

**Tabela 14.** Średni promień mikroporów ( $r_{sr.}$ ) i całkowita objętość mikroporów ( $V_t$ ) korzeni stresowanych glinem, wyznaczone z desorpcji pary wodnej (śr. z 3 powtórzeń  $\pm 95\%$  przedział ufności). Pogrubioną czcionką zaznaczono statystycznie istotne różnice ( $P < 0,05$ ) w stosunku do korzeni roślin kontrolnych  
**Table 14.** Average micropore radius ( $r_{av.}$ ) and total micropore volumes ( $V_t$ ) for Al-stressed roots, calculated from water vapour desorption isotherms (av. from 3 replicates  $\pm 95\%$  confidence interval). Bold – statistically significant differences ( $P < 0.05$ )

Rośliny – Plants	pH7+4,5	pH4,5+20Cu	pH4,5+50Cu	pH4,5+100Cu
	$r_{sr.-av.} - H_2O$ (nm)			
Żyto – Rye	12,9 $\pm$ 0,1	<b>14,7<math>\pm</math>0,02</b>	<b>14,9<math>\pm</math>0,2</b>	<b>15,0 <math>\pm</math>0,4</b>
Pszenica – Wheat	13,8 $\pm$ 0,4	<b>16,4<math>\pm</math>0,1</b>	<b>17,6 <math>\pm</math>0,3</b>	<b>15,3<math>\pm</math>0,2</b>
Łubin – Lupine	15,1 $\pm$ 0,1	<b>16,2 <math>\pm</math>0,2</b>	<b>16,7 <math>\pm</math>0,6</b>	<b>15,7<math>\pm</math>0,1</b>
Koniczna – Clover	13,7 $\pm$ 0,4	<b>15,8<math>\pm</math>0,7</b>	<b>16,9<math>\pm</math>0,3</b>	<b>15,1 <math>\pm</math>0,3</b>
	$V_t$ (H <sub>2</sub> O) (mm <sup>3</sup> ·g <sup>-1</sup> )			
Żyto – Rye	753 $\pm$ 2,2	<b>665<math>\pm</math>1,9</b>	<b>623<math>\pm</math>2,1</b>	<b>647<math>\pm</math>2,7</b>
Pszenica – Wheat	763 $\pm$ 0,8	<b>665<math>\pm</math>3,5</b>	<b>609<math>\pm</math>8,1</b>	<b>645,7<math>\pm</math>9,8</b>
Łubin – Lupine	591 $\pm$ 0,8	<b>494,5<math>\pm</math>0,7</b>	<b>478<math>\pm</math>3,1</b>	<b>493<math>\pm</math>2,7</b>
Koniczna – Clover	741 $\pm$ 3,4	<b>602<math>\pm</math>9,5</b>	<b>542<math>\pm</math>6,1</b>	<b>535<math>\pm</math>5,7</b>

Mniej wyraźne różnice w badanych wielkościach charakteryzujących mikroporowatość tkanki korzeniowej odnotowano dla danych liczonych z izotermy desorpcji azotu (tab. 15). Tendencje zmian w charakterystyce mikroporowatości dla korzeni stresowanych miedzią są podobne jak w przypadku charakterystyk tych wielkości liczonych z desorpcji pary wodnej. Średni promień mikroporów korzeni stresowanych miedzią zwiększył się, a całkowita objętość mikroporów tych korzeni zmniejszała się, jednak Test-t (dwustronny, homeostatyczny) nie wykazał istotnych różnic w całkowitej objętości mikroporów, pomiędzy korzeniami rosnącymi w dodatkowej aplikacji miedzi a korzeniami kontrolnymi. Istotne różnice odnotowano dla średniego promienia mikroporów korzeni koniczyny inkubowanej we wszystkich stosowanych w doświadczeniu stężeniach miedzi i dla korzeni pszenicy i łubinu stresowanych miedzią w stężeniu 50 mg·dm<sup>-3</sup> pożywki. Dla korzeni łubinu inkubowanych w ekstremalnych stężeniach miedzi (100 mg·dm<sup>-3</sup>) różnice (w odniesieniu do korzeni kontrolnych) w wielkości średniego promienia były na granicy istotności. Podobnie jak przy jonach glinu, rodzaj zastosowanego adsorbentu (pary wodnej i azotu) wpłynął na charakteryzowane wielkości. Wynika to jak już wspomniano, przede wszystkim z różnej wielkości cząsteczek adsorbentów. Cząsteczki azotu o większym niż para wodna polu powierzchni nie „wykrywają” mikro zmian

w strukturze adsorbentu (korzenia), które ewentualnie powstały pod wpływem fitotoksycznych stężeń stresora, zatem tylko bardzo istotne zmiany strukturalne można zdefiniować metodą adsorpcji-desorpcji azotu.

Z kolei adsorpcja-desorpcja pary wodnej związana jest z obecnością grup karboksylowych, które wiążą cząsteczki pary wodnej. Im więcej grup karboksylowych znajduje się w ścianie komórkowej korzeni, w tym większym stopniu wiązane są i unieruchamiane metale ciężkie. Blokowanie przez jony miedzi polarnych centrów adsorpcyjnych ogranicza proces adsorpcji-desorpcji pary wodnej w badanych korzeniach, czyli może wpływać na zmniejszenie się całkowitej objętości mikroporów. Badana koniczyna charakteryzowała się największym CEC co oznacza, że posiadała najwięcej grup karboksylowych pektyn ściany komórkowej i ona też zareagowała zmianami mikroporowatości pod wpływem stresu miedziowego w największym stopniu. Możliwym jest również, podobnie jak dla jonów glinu, że nadmiar stresora ograniczył pobieranie jonów wapnia co z kolei wpłynęło zarówno na zmiany strukturalne ściany komórkowej jak też na potencjał błon cytoplazmatycznych, w efekcie czego zmieniła się struktura apoplastu. Generalnie możemy stwierdzić, że w korzeniach stresowanych miedzią zmniejszyła się całkowita objętość mikroporów i wzrósł średni ich promień.

**Tabela 15.** Średni promień mikroporów ( $r_{sr}$ ) i całkowita objętość mikroporów ( $V_t$ ) korzeni stresowanych miedzią, wyznaczone z izotermy desorpcji azotu (śr. z 3 powtórzeń  $\pm 95\%$  przedział ufności). Pogrubioną czcionką zaznaczono statystycznie istotne różnice ( $P < 0,05$ ) pomiędzy korzeniami kontrolnymi i stresowanymi

**Table 15.** Average micropore radius ( $r_{av}$ ) and total micropore volumes ( $V_t$ ) for Cu-stressed roots, calculated from nitrogen desorption isotherms (av. for 3 replicates  $\pm 95\%$  confidence interval). Bold – statistically significant differences ( $P < 0.05$ )

Rośliny – Plants	pH7+4,5	pH4,5+20Cu	pH4,5+50Cu	pH4,5+100Cu
	$r_{sr-av} - N_2$ (nm)			
Żyto – Rye	13,9 $\pm$ 1,2	15,1 $\pm$ 0,1	15,4 $\pm$ 1,3	15,6 $\pm$ 0,9
Pszenica – Wheat	14,9 $\pm$ 0,3	16,5 $\pm$ 0,4	<b>18,0<math>\pm</math>0,3</b>	16,7 $\pm$ 0,2
Łubin – Lupine	17,9 $\pm$ 0,3	18,9 $\pm$ 0,8	<b>19,6<math>\pm</math>0,7</b>	<b>20,0<math>\pm</math>0,9</b>
Koniczyna – Clover	16,6 $\pm$ 1,3	<b>19,2<math>\pm</math>1,8</b>	<b>20,5 <math>\pm</math>1,3</b>	<b>19,9<math>\pm</math>0,5</b>
$V_t - N_2$ (mm <sup>3</sup> ·g <sup>-1</sup> )				
Żyto – Rye	37,7 $\pm$ 1,2	37,3 $\pm$ 0,7	36,5 $\pm$ 1,2	36,9 $\pm$ 0,1
Pszenica – Wheat	26,0 $\pm$ 0,2	25,1 $\pm$ 0,3	23,9 $\pm$ 0,4	24,5 $\pm$ 0,1
Łubin – Lupine	39,7 $\pm$ 0,7	38,4 $\pm$ 0,5	37,1 $\pm$ 0,3	37,9 $\pm$ 0,9
Koniczyna – Clover	33,0 $\pm$ 1,4	30,9 $\pm$ 0,6	29,4 $\pm$ 2,2	31,5 $\pm$ 0,7

### ***Podsumowanie rozdziału***

Charakterystyka porowatości badanych korzeni nie wykazała zdecydowanego podziału na rośliny jedno i dwuliścienne. Statystycznie istotne różnice zarówno w średnim promieniu mikroporów jak i w całkowitej ich objętości odnotowano tylko dla korzeni łubinu. Korzenie pozostałych badanych roślin nie różniły się w zasadzie charakterystykami mikroporowatości.

Obecność czynników stresowych z reguły powodowała zmniejszenie się frakcji (z badanego zakresu) mikroporów najmniejszych o promieniu 1-2,2 nm i wzrost frakcji mikroporów o największym promieniu 10,5-50 nm.

Średni promień mikroporów w korzeniach stresowanych zarówno glinem jak i miedzią zwiększył się, przy czym dla stężeń glinu poniżej genetycznie uwarunkowanej wrażliwości badanych roślin, wzrost średniego promienia był znikomy, a jednocześnie całkowita objętość mikroporów przy tych stężeniach glinu wykazywała tendencje do zmniejszania się. Subletalne stężenia glinu wpłynęły na istotny wzrost zarówno średniego promienia jak i całkowitej porowatości. W przypadku jonów miedzi całkowita objętość mikroporów korzeni badanych roślin zmniejszyła się. Natomiast dla ekstremalnych stężeń glinu i miedzi zaobserwowano zmniejszenie się promienia i wzrost całkowitej porowatości. Zmiany porowatości pod wpływem zastosowanych w badaniach stresorów, wynikają prawdopodobnie z destrukcji apoplastu (z rozerwania ścian komórkowych, rozszerzania się przestworów międzykomórkowych, a także z i/lub zatykania mikroporów przez jony metali), związanej z niedoborem wapnia i obecnością samych stresorów (Klimashevskij 1990, Kabata-Pendias i Pendias 1999, Baranowska-Morek 2003).

Większy wpływ na zmiany ogólnych charakterystyk porowatości badanych korzeni miały fitotoksyczne stężenia jonów miedzi. Wynika to z niedostatecznych lub braku mechanizmów obronnych u badanych roślin, aktywowanych w obecności miedzi (mikroelementu), a które występują w obecności jonów glinu (pierwiastka balastowego). Największe zmiany w charakterystykach mikroporowatości (w obecności fitotoksycznych ilości miedzi w podłożu) zaszły w korzeniach koniczyny i pszenicy. Obecność glinu w pożywce dała jeszcze mniej jednoznaczne różnice pomiędzy roślinami jedno i dwuliściennymi. Najbardziej istotne zmiany, szczególnie w całkowitej objętości mikroporów, odnotowano dla korzeni łubinu.

Charakterystyki mikroporowatości i ich zmiany pod wpływem stresorów determinowane desorpcją azotu, były mniej wyraźne niż te liczone z desorpcji pary wodnej, związane jest to przede wszystkim z różną wielkością cząsteczek adsorbatów, a także z różnymi właściwościami adsorbentu polarnego (pary wodnej) i niepolarnego (azotu). Niemniej jednak tendencje ogólnych zmian mikroporowatości korzeni stresowanych były podobne w przypadku obu adsorbatów.

## 6. WŁAŚCIWOŚCI JONOWYMIENNE KORZENI

### 6.1. Metoda miareczkowania potencjometrycznego w badaniach korzeni

Pomiary krzywych miareczkowania potencjometrycznego znalazły już zastosowanie w badaniach ładunku powierzchniowego materiałów pochodzenia biologicznego: korzeni, ścian komórkowych czy liści (Ganev i Arsova 1984, 1985, 1989, Morvan i in. 1979, Williams i Coleman 1950). Interpretowano je głównie w kategoriach pojemności wymiennej kationów (*CEC*). 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, czyli określenie względnej ilości grup o różnej mocy kwasowej generujących ładunek (De Wit i in. 1990, Golikov 1995, Mannuza i in. 1992, Soldatov 1996, Meychlik i Yermakov 2001).

Wyznaczenie krzywej miareczkowania potencjometrycznego materiału korzeniowego roztworem zasady wymaga bardzo starannej standaryzacji metody. Wyniki wcześniejszych badań (Szatanik-Kloc 2000, Szatanik-Kloc i in. 2007a,b, 2009) wskazują, że szybkość miareczkowania, stopień wstępnego przemycia oraz wielkość naważki mają istotny wpływ na przebieg krzywych miareczkowania. Ponieważ w warunkach pomiaru nie jest osiągana równowaga, istotne jest zastosowanie możliwie najmniejszej szybkości miareczkowania. Ze względu na długi proces miareczkowania i możliwość chłonięcia z powietrza znacznych ilości dwutlenku węgla, powodującego dodatkowe zużycie zasady, miareczkowanie należy przeprowadzać przy przepływie gazu obojętnego (azotu) przez badaną zawiesinę. Istotny jest również wpływ masy korzeni użytych do miareczkowania oraz stopień homogenizacji materiału. Wraz ze wzrostem masy próbki, konsumpcja zasady, w przeliczeniu na jednostkę masy miareczkowanych korzeni, jest coraz mniejsza, zatem należy stosować próbki o niewielkiej masie. Korzenie całe owijały się dokoła mieszkadła w trakcie miareczkowania, użycie takiej próbki było niecelowe. Przy zastosowaniu jednakowej naważki i w jednakowych warunkach pomiaru krzywe miareczkowania korzeni mielonych i ciętych różnią się nieznacznie. Również nie odnotowano istotnych różnic pomiędzy krzywymi miareczkowania korzeni wstępnie suszonych w 303 K a krzywymi miareczkowania korzeni świeżych. Wykorzystanie korzeni suchych daje możliwość pozyskania odpowiedniej ilości materiału badawczego i zastosowania jednakowych procedur przygotowania próbek do miareczkowania. Wielkości obliczone na podstawie krzywych miareczkowania nie są wielkościami bezwzględными i winny być traktowane jako wielkości porównawcze.

## 6.2. Opis metody miareczkowania potencjometrycznego stosowanej w badaniach i teoretyczne podstawy wyznaczania badanych wielkości

Miareczkowanie potencjometryczne badanych próbek przeprowadzono następująco: jednakowe naważki ( $0,0500 \pm 0,0001\text{g}$ ) korzeni (wstępnie suszonych przez 48 godzin w 303 K) zanurzono w 20 ml  $1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztworu NaCl na 24 godziny. Po upływie tego czasu zawiesiny doprowadzono do  $\text{pH} = 2,95$  tak, aby  $\text{pH}$  nie zmieniło się przez 5 minut a następnie miareczkowano  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztworem zasady sodowej (NaOH) sporządzonej na bazie  $1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztworu chlorku sodu (NaCl). Do miareczkowania wykorzystano titrator Titrino 702 MS (Metrohem). Ilość zużytej zasady podczas miareczkowania rejestrowano co 0,1 jednostkę  $\text{pH}$  w przedziale  $3,0 \leq \text{pH} \leq 10,0$ . Tak otrzymane krzywe miareczkowania przedstawiano jako funkcję ilości zużytej zasady od  $\text{pH}$ . Jako krzywą miareczkowania roztworu równowagowego zawiesiny przyjęto krzywą miareczkowania  $1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  roztworu NaCl o  $\text{pH} = 3$  i masie równej masie zawiesiny pomniejszonej o masę korzeni. Doświadczenie przeprowadzono w trzech powtórzeniach. Różnice pomiędzy krzywymi miareczkowania potencjometrycznego w kolejnych powtórzeniach nie przekraczały 5%. Zastosowanie wysokiego stężenia soli neutralnej i utrzymywanie go na stałym poziomie podczas miareczkowania ma wiele zalet: stężenie i skład roztworu podczas miareczkowania pozostaje praktycznie stałe, a wielkość ładunku korzeni silnie zależy od mocy jonowej roztworu otaczającego korzeń; przy wysokich stężeniach soli ładunek powierzchniowy jest lepiej rozwinięty gdyż dysocjacja grup powierzchniowych jest w mniejszym stopniu blokowana przez efekty elektrostatyczne (Van Riemsdijk i in. 1987). Ponieważ podczas miareczkowania zawiesiny (korzeń + roztwór) część roztworu zasady zużyta jest na zubożenie jonów kwaśnych obecnych w roztworze równowagowym, a część roztworu zasady zużyta jest w reakcjach zubożenia powierzchniowych grup funkcyjnych generujących ładunek powierzchniowy, od krzywej miareczkowania zawiesiny odjęto krzywą miareczkowania jej roztworu równowagowego i otrzymano "krzywą miareczkowania fazy stałej". Krzywa ta może być traktowana jako krzywa pokazująca zmiany ładunku powierzchniowego  $\Delta Q_v$  od  $\text{pH}$  (Nederlof i in. 1993, Józefaciuk i Shin 1996b,c)

$$\Delta Q_v = N_{\text{zaw.}} - N_{\text{r-rów}} \quad (11)$$

gdzie:  $N_{\text{zaw.}}$  – liczba moli zasady skonsumowanej podczas miareczkowania zawiesiny (korzeń + roztwór),  $N_{\text{r-rów.}}$  – liczba 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,  $\text{SOH}_i$ . Reakcje dysocjacji poszczególnych grup mogą być opisane równaniami reakcji:  $\text{SOH}_i \leftrightarrow \text{SO}^-_i + \text{H}^+$ . Stałe równowagi powyższych reakcji  $K_i$ , (stałe dysocjacji) wynoszą:

$$K_i = (\text{SO}^-_i)(\text{H}_s^+)/(\text{SOH}_i) \quad (12)$$

gdzie:  $(\text{SO}^-_i)$  i  $(\text{SOH}_i)$  oznaczają odpowiednio aktywności powierzchniowe grup zdysocjowanych i niezdisocjowanych, a  $(\text{H}_s^+)$  oznacza aktywność protonów przy powierzchni.

Stopień dysocjacji  $i$ -tych grup przy danej wartości pH,  $\alpha_i(K_i, \text{pH})$ , równy jest stosunkowi liczby cząsteczek zdysocjowanych do całkowitej liczby cząsteczek związku i wynosi:

$$\alpha_i(K_i, \text{pH}) = (\text{SO}^-_i)/(\text{SOH}_i) = K_i[K_i + (\text{H}_s^+)]^{-1} \quad (13)$$

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 przy danej wartości pH,  $\text{SO}^-(\text{pH})$ , jest sumą wkładów pochodzących od każdej z grup:

$$\text{SO}^-(\text{pH}) = Qv^-(\text{pH}) = \sum_{i=1}^n N_i \alpha_i(K_i, \text{pH}) \quad (14)$$

Po podzieleniu obu stron powyższego równania przez całkowitą ilość wszystkich grup funkcyjnych,  $N_i$ , dostaniemy:

$$\text{SO}^-(\text{pH})/N_i = \alpha_i(\text{pH}) = \sum_{i=1}^n \alpha_i(\text{p}K_i, \text{pH}) N_i/N_i = \sum_{i=1}^n \alpha_i(\text{p}K_i, \text{pH}) f(K_i) \quad (15)$$

Widać stąd, że całkowity stopień dysocjacji powierzchni jest sumą stopni dysocjacji poszczególnych grup powierzchniowych, ważonych przez ich frakcje,  $f(K_i)$ . Na podstawie tego równania, nawet gdy nie znamy wartości  $N_i$ , możemy obliczyć rozkład stałych dysocjacji powierzchniowych grup funkcyjnych. Ponieważ wartość  $(\text{H}_s^+)$  jest trudna do określenia, zakłada się, że  $(\text{H}_s^+) = (\text{H}^+)$  i wtedy zamiast rzeczywistych wartości  $K_i$  mamy do czynienia z pozornymi wartościami stałych dysocjacji,  $K_{i,app}$ . Wartości powyższe są sobie praktycznie równe przy wysokich mocach jonowych roztworu równowagowego (tak jak to występuje w stosowanych warunkach pomiaru). Korzystając z przybliżenia kondensacyjnego oraz stosując współrzędne logarytmiczne (Nederlof i in. 1993) mamy:

$$f(pK_{app,i}) = [\Delta Q^-(pH_{i+1}) - \Delta Q^-(pH_i)] / (pK_{app,i+1} - pK_{app,i}); \quad pK_{app,i} = pH \quad (16)$$

gdzie  $pK_{iapp} = -\log K_{iapp}$ , a  $pH_s = pH$  i spełniony jest warunek, że suma udziałów wszystkich grup równa jest jedności:

$$\sum_{i=1}^n f(pK_{app,i}) = 1 \quad (17)$$

Na podstawie znajomości wielkości odpowiednich frakcji oblicza się średnią wartość  $pK_{app}$  dla badanego zakresu ( $pK_{appav}$ ):

$$pK_{appav} = \sum_{i=1}^n pK_{app,i} f(pK_{app,i}) \quad (18)$$

Średnia wartość  $pK_{appav}$  w badanym zakresie  $pK_{app}$  (od  $pH = 3$  do  $pH = 10$ ) ma bezpośredni związek ze średnią energią wiązania protonów przez powierzchnię korzenia.

Jako wielkość (CEC) korzeni przyjęto liczbę moli zużytej zasady podczas miareczkowania do wartości  $pH = 7$ . Jest to zgodne ze znaną z literatury metodą (Drake i in. 1951, Smith i Wallace 1954, 1955, 1957, Morvan i in. 1979) polegającą na miareczkowaniu korzeni wstępnie przemytych 0,01M roztworem HCl, a następnie kilkakrotnie wodą destylowaną do tejże wartości  $pH$ .

Z wielkości powierzchni właściwej korzeni ( $S$ ) oraz z wielkości ich całkowitego ładunku zmiennego ( $Q$ ) obliczono gęstość ładunku powierzchniowego ( $SCD$ ).

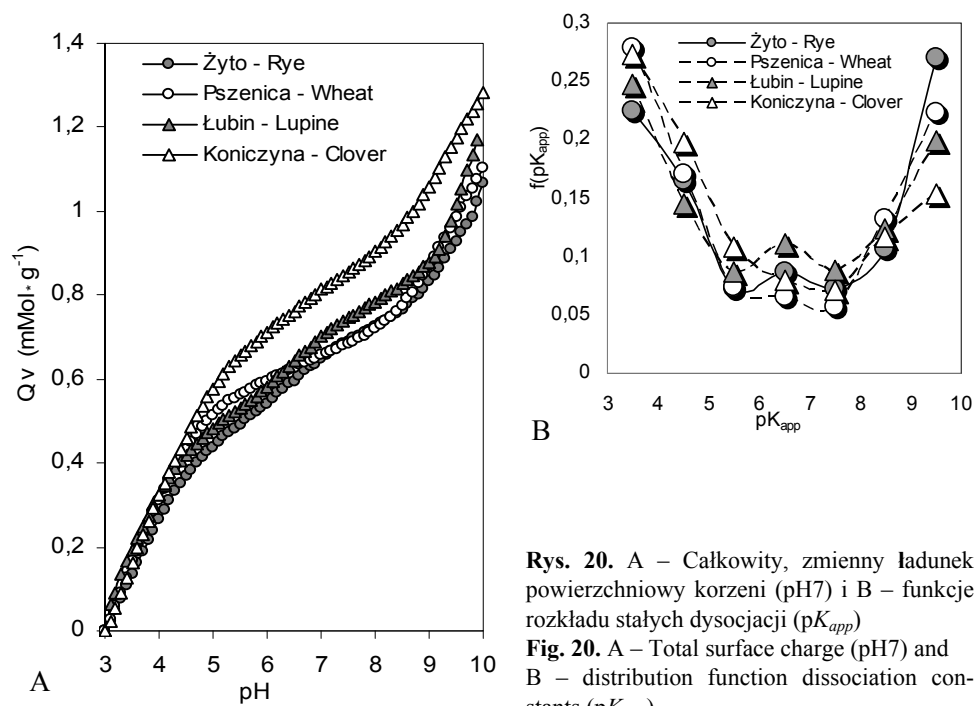
$$Q/S = SCD \text{ (C}\cdot\text{m}^2) \quad (19)$$

### 6.3. Charakterystyka właściwości jonowymiennych korzeni badanych roślin jedno i dwuliściennych

Krzywe zależności zmiennego ładunku powierzchniowego od  $pH$  i funkcje rozkładu pozornych stałych dysocjacji ( $pK_{app}$ ) dla korzeni badanych roślin rosnących w warunkach kontrolnych ( $pH7$ ) bez czynnika stresowego przedstawiono na rysunku 20. Krzywe miareczkowania korzeni roślin dwuliściennych przebiegały wyżej niż krzywe miareczkowania korzeni roślin jednoliściennych, przy czym najwięcej zasady sodowej zużyto do zobojętnienia powierzchniowych grup funkcyjnych korzeni koniczyny. Nieco mniejszy ładunek powierzchniowy w całym zakresie  $pH$  posiadały korzenie łubinu. Krzywe miareczkowania potencjometrycznego dla korzeni roślin jednoliściennych przebiegały podobnie z tym, że korzenie badanej pszenicy charakteryzowały się nieco wyższym całkowitym zmiennym ładunkiem powierzchniowym niż korzenie żyta. Zmienny ładunek powierzchniowy korzeni badanych roślin generowany był przez powierzchniowe

grupy funkcyjne o różnej kwasowości. Względne frakcje tych grup  $f(pK_{app})$  pokazane są na rysunku 20 jako funkcja rozkładu pozornych stałych dysocjacji. Zarówno dla korzeni roślin jednoliściennych jak i dla korzeni roślin dwuliściennych, wyraźnie zaznaczony jest pik w zakresie  $pK_{app}$  pomiędzy 6 i 7, pokazujący występowanie znacznej ilości powierzchniowych grup funkcyjnych średnio kwaśnych. Najmniej tych grup posiada pszenica i koniczyna, a najwięcej łubin. Najwięcej ładunku powierzchniowego generują powierzchniowe grupy funkcyjne, których pozorne stałe dysocjacji są mniejsze od 4,5 ( $pK_{app} < 4,5$ ). Są to silnie kwaśne powierzchniowe grupy funkcyjne. W korzeniach roślin mogą to być przede wszystkim grupy karboksylowe pektyn ściany komórkowej. W trójwymiarowej strukturze apoplastu pozorne stałe dysocjacji około 3,5-5 charakteryzują grupy funkcyjne (głównie grupy karboksylowe) pochodzące od kwasu galakturanowego,  $pK_{app}$  około 6,5-7,5 to grupy karboksylowe i / lub fosforanowe i  $pK_{app}$  około 8 to grupy fenolowe (Meychlik in. 1999, Meychlik i Yermakov 2001). Najwięcej zatem powierzchniowych grup funkcyjnych silnie kwaśnych posiadały korzenie koniczyny, dalej (w kolejności zmniejszania się liczby grup o największej kwasowości) korzenie pszenicy, łubinu i żyta. Nie ma więc zdecydowanych różnic we względnej zawartości powierzchniowych grup funkcyjnych silnie i średnio kwaśnych pomiędzy roślinami jedno i dwuliściennymi. Podział ten występuje przy grupach powierzchniowych generujących najsłabszy ładunek ( $pK_{app} > 8$ ). Najwięcej grup powierzchniowo słabo kwaśnych posiadały korzenie roślin jednoliściennych, przy czym korzenie żyta charakteryzowały się największą liczbą tych grup. Ściany komórkowe typu II czyli roślin jednoliściennych posiadają znacznie więcej związków fenolowych niż ściany komórkowe typu I (innych roślin wyższych). Związki fenolowe w ścianach komórkowych typu II są głównym czynnikiem spajającym i stabilizującym strukturę ścian (Wojtaszek 2001). Większa ilość powierzchniowych grup funkcyjnych o charakterze słabo kwaśnym ( $pK_{app} > 8$ ) w korzeniach badanych zbóż pochodzi najprawdopodobniej od związków fenolowych. Całkowity zmienny ładunek powierzchniowy korzeni roślin jednoliściennych był nieco mniejszy niż korzeni roślin dwuliściennych (tab. 16). Charakteryzuje on wszystkie obecne na powierzchni badanych korzeni grupy generujące ładunek.

Również całkowita pojemność kationowymienna dla korzeni badanych roślin jednoliściennych była nieco mniejsza niż dla korzeni badanych roślin motylkowych. Przy czym zdecydowanie największym całkowitym ładunkiem powierzchniowym i największą całkowitą pojemnością kationowymienną (*CEC*) charakteryzowały się korzenie badanej koniczyny. W przypadku korzeni koniczyny zarówno wielkość ładunku powierzchniowego jak i wielkość *CEC* były istotnie większe w porównaniu z korzeniami pozostałych badanych roślin (tab. 17).



**Rys. 20.** A – Całkowity, zmienny ładunek powierzchniowy korzeni (pH7) i B – funkcje rozkładu stałych dysocjacji ( $pK_{app}$ )

**Fig. 20.** A – Total surface charge ( $Q_v$ ) and B – distribution function dissociation constants ( $pK_{app}$ )

**Tabela 16.** Całkowity ładunek powierzchniowy ( $Q_v$ ),  $CEC$ , średnie z pozornej stałej dysocjacji ( $pK_{app}$ ), gęstość ładunku powierzchniowego ( $SCD$ ), korzeni roślin jedno i dwuliściennych (śr. z 3 powtórzeń  $\pm 95\%$  przedział ufności)

**Table 16.** Total surface charge ( $Q_v$ ),  $CEC$ , average surface dissociation constant ( $pK_{app}$ ), surface charge density ( $SCD$ ) for roots of monocotyledonous and dicotyledonous plants (av. from 3 replicates  $\pm 95\%$  confidence interval)

Właściwości Properties	Żyto Rye	Pszenica Wheat	Łubin Lupine	Koniczyna Clover
$Q_v$ ( $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ )	1069 $\pm$ 3,3	1105 $\pm$ 3,6	1118 $\pm$ 0,9	1285 $\pm$ 0,2
$CEC$ ( $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ )	623 $\pm$ 3,5	662 $\pm$ 2,8	666 $\pm$ 2,9	807 $\pm$ 0,5
$pK_{app}$ śr. – av.	6,3 $\pm$ 0,3	6,26 $\pm$ 0,1	6,6,4 $\pm$ 0,3	6,3 $\pm$ 0,3
$SCD$ ( $\text{C}\cdot\text{m}^2$ )	0,391 $\pm$ 0,1	0,413 $\pm$ 0,02	0,551 $\pm$ 0,1	0,581 $\pm$ 0,1

**Tabela 17.** Analiza statystyczna badanych wielkości. Test-t (test Studenta), dwustronny, Typ-2 (homeostatyczny), w którym zakłada się, że wariancje dla średnich z próby nie różnią się między sobą – średnie są jednakowe ( $P \leq 0,05$ ) w  $\pm 95\%$  poziomie istotności. 1 – Prawda, 0 – Fałsz

**Table 17.** Statistical analysis of obtained results: Student-t, Two tailed, Type 2 (homoscedastic), in which it is assumed that variances for average of samples do not differ significantly from each other – averages are the same ( $P \leq 0.05$ ) for  $\pm 95\%$  confidence level. 1 – True, 0 – False

Wariant Variant	A	B	C	D
<i>CEC</i>				
A	1	1	1	0
B	1	1	1	0
C	1	1	1	1
D	0	0	1	1
<i>Ov.</i>				
A	1	1	1	0
B	1	1	1	0
<i>pKapp</i>				
A	1	1	1	1
B	1	1	1	1
<i>SCD</i>				
A	1	0	5,37E-0,5	3,97E-0,5
B	0	1	0	0

A – Żyto – Rye, B – Pszenica – Wheat, C – Łubin – Lupine, D – Koniczyna – Clover.

W literaturze przedmiotu (Gray i in. 1953, Wiklander i Elgabaly 1956, Elgabaly i Wiklander 1959, Amory i Dufey 1984, Woodward i in. 1984) spotyka się stwierdzenia, że rośliny jednoliścienne posiadają z reguły dwukrotnie mniejsze CEC niż rośliny dwuliścienne. Reguła ta jednak sprawdza się przede wszystkim dla roślin dwuliściennych wieloletnich. W obrębie roślin dwuliściennych jednorocznych czy dwuletnich występuje znacznie większe zróżnicowanie wielkości ich całkowitej pojemności kationowymiennej (*CEC*) i nie w każdym przypadku jest ona zdecydowanie większa od *CEC* roślin jednoliściennych (Gliński i Lipiec 1990). O wielkości *CEC* decydują przede wszystkim polisacharydy kwaśne zbudowane głównie z reszt kwasu galakturanowego nazywane pektynami. W wyniku dysocjacji grup karboksylowych pektyn powstaje ładunek ujemny ( $-COO$ ). Ponadto na ujemny ładunek korzeni mogą wpływać również grupy karboksylowe protein ściany komórkowej oraz grupy karboksylowe protein i fosforanowe fosfolipidów membran cytoplazmatycznych (Szwejkowska 2000, Wojtaszek 2000,

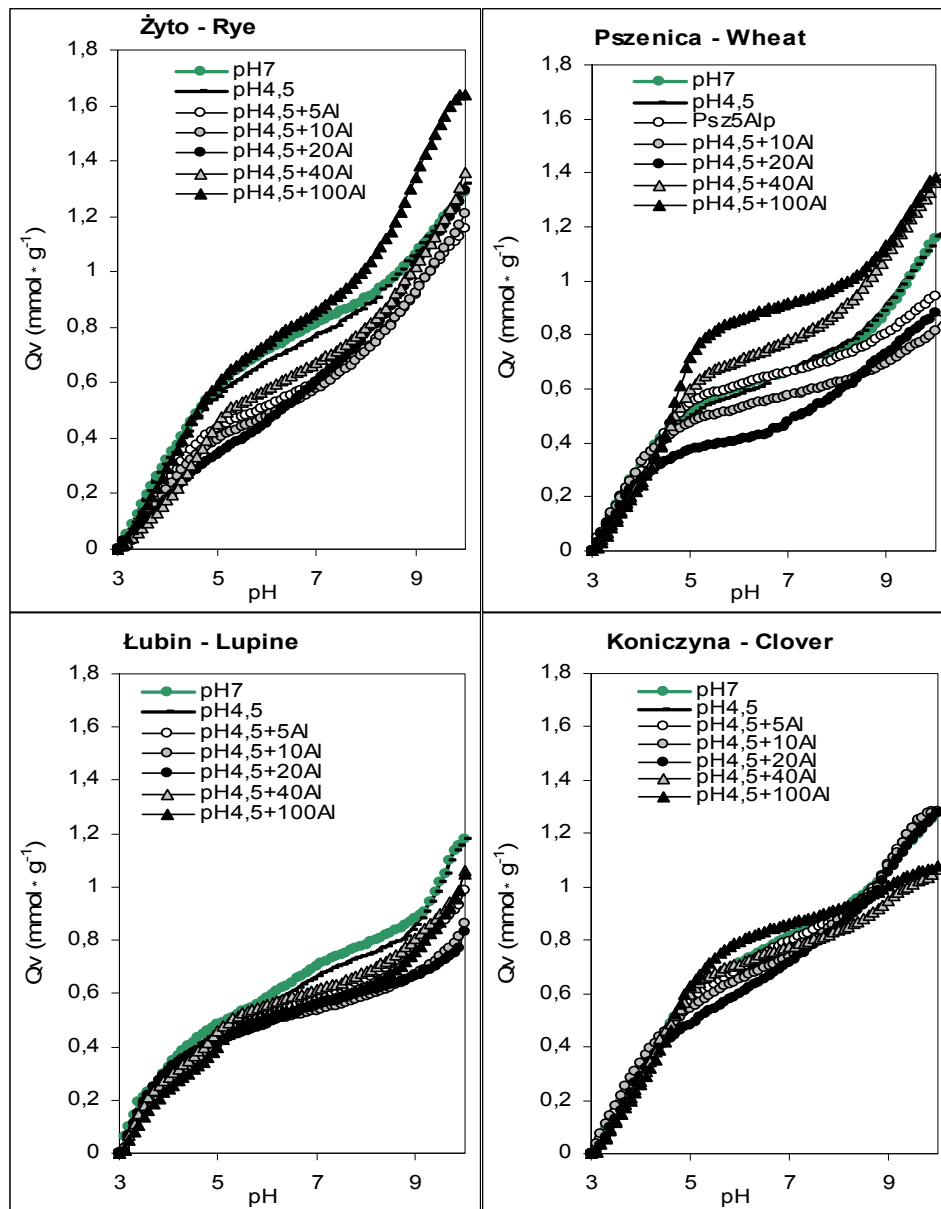
Tretyn 2001). W syntezę ścian komórkowych zaangażowane jest wiele reakcji biochemicznych komórki. Złożoność mechanizmów kontrolujących ten proces (zwłaszcza biosyntezę polisacharydów) jest przedmiotem badań stosunkowo od niedawna. Rezultaty ich są jeszcze nie wystarczające do precyzyjnego wyjaśnienia roli poszczególnych czynników decydujących o wielkości ładunku powierzchniowego w korzeniach roślin jedno i dwuliściennych. Jednak, chociaż nie odnotowano statystycznie istotnych różnic w wielkości ładunku powierzchniowego i *CEC* pomiędzy korzeniami badanych roślin zbożowych a korzeniami łubinu, to w korzeniach łubinu są one wyższe.

Gęstość ładunku powierzchniowego obliczona z wielkości powierzchni właściwej (pozornej) i całkowitego zmiennego ładunku badanych korzeni przedstawiona została w tabeli 16. Gęstość ładunku powierzchniowego (*SCD*) korzeni badanych roślin dwuliściennych jest zdecydowanie większa niż dla roślin jednoliściennych. Można więc stwierdzić, że korzenie badanych roślin jedno i dwuliściennych różnią się między sobą pod względem wielkości całkowitego zmiennego ładunku powierzchniowego, pojemnością kationowymienną, a przede wszystkim istotne różnice występują w gęstości ładunku powierzchniowego.

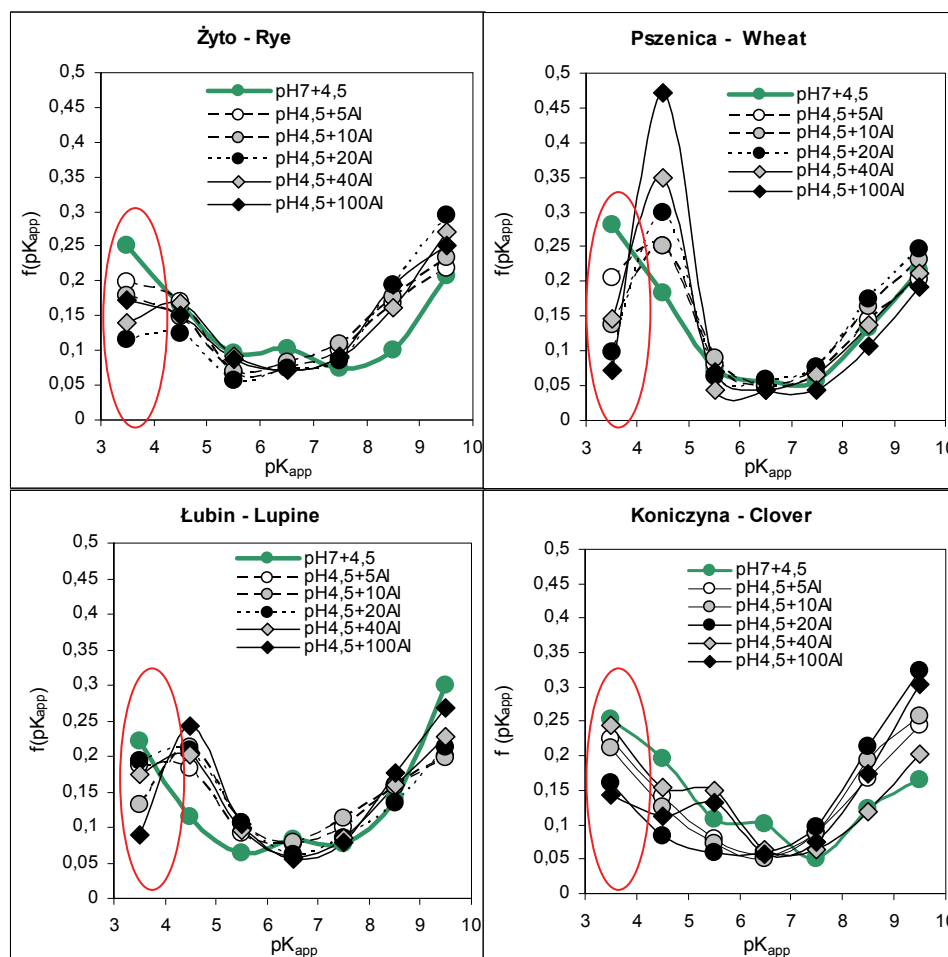
#### **6.4. Wpływ jonów glinu na właściwości jonowymienne badanych korzeni**

Właściwości jonowymienne korzeni mogą być modyfikowane przez czynniki stresowe obecne w środowisku wzrostu i rozwoju korzeni. Na rysunku 21 przedstawiono krzywe zmian całkowitego zmiennego ładunku powierzchniowego w funkcji pH dla korzeni kontrolnych i stresowanych glinem, wyznaczone na podstawie miareczkowania potencjometrycznego. Podobnie jak w przypadku izoterm adsorpcji nie odnotowano wyraźnego wpływu samych jonów wodorowych (pH 4,5 bez jonów glinu) na zmianę zależności ładunku powierzchniowego od pH, dopiero obecność glinu w pożywce wpłynęła na zmianę krzywych zależności ładunku powierzchniowego od pH. Krzywe te zmieniają się z różną intensywnością dla korzeni badanych roślin. Praktycznie dla wszystkich badanych korzeni roślin jedno i dwuliściennych całkowity zmienny ładunek powierzchniowy jest najniższy przy stężeniu glinu w pożywce  $20 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Dla wszystkich korzeni inkubowanych przy najwyższym stężeniu glinu, krzywe miareczkowania leżą powyżej krzywych miareczkowania korzeni stresowanych niższymi stężeniami glinu w zakresie średnich i wysokich wartości pH.

Ilość grup powierzchniowych o różnej kwasowości charakteryzują funkcje rozkładu stałych dysocjacji (rys. 22).



**Rys. 21.** Ładunek powierzchniowy w funkcji pH dla korzeni stresowanych glinem  
**Fig.21.** Surface charge versus pH dependence for Al-stressed roots



**Rys. 22.** Funkcje rozkładu pozornych stałych dysocjacji dla korzeni stresowanych glinem  
**Fig. 22.** Distribution functions of apparent surface dissociation constants of Al-stressed roots

Dla wszystkich badanych korzeni obecność glinu w pożywce wpłynęła na zmniejszenie się liczby grup silnie kwaśnych  $pK_{app}$  około 3,5 a więc prawdopodobnie grup karboksylowych kwasu galakturanowego, przy czym dla korzeni koniczyny zmniejszyła się liczba powierzchniowych grup zarówno silnie kwaśnych ( $pK_{app} < 5$ ) jak i większość grup o średniej mocy ( $5 < pK_{app} < 8$ ). Wzrosła natomiast liczba grup powierzchniowych słabo kwaśnych ( $pK_{app} > 8$ ), podobnie jak dla korzeni roślin jednoliściennych. Wyraźne zmniejszenie silnie kwaśnych grup powierzchniowych może być spowodowane silnym kompleksowaniem jonów

glinu przez te grupy funkcyjne, bądź też przez zmiany fizjologiczne, prowadzące do zwiększonej produkcji związków organicznych o słabszych właściwościach kwasowych, które łatwiej wiążą protony (Matsumoto 1988). Wynikiem tego może być zarówno wzrost pH rizosfery jak i wzrost pH cytozolu. Możliwe jest również, że zmiana potencjału elektrostatycznego membran cytoplazmatycznych (Vierstra i Haug 1978, Matsumoto i in. 1992), jak też ograniczenie cementującej roli pektynianów wapnia, prowadzące do rozerwania się ścian komórkowych (Wagatsuma i in. 1987b, Jan 1993) powodują, że część silnie kwaśnych koloidów cytozolu wydostaje się na zewnątrz korzenia jeszcze podczas ich wzrostu.

Ogólny charakter zmian kwasowości powierzchni badanych roślin przedstawiają średnie z pozornych stałych dysocjacji (tab. 18). Dla większości korzeni badanych roślin średnie  $pK_{appav}$  nieznacznie wzrastają, co świadczy o niewielkim spadku ogólnej kwasowości powierzchni korzeni. Jedynie dla korzeni koniczyny (inkubowanych w 40 i 100  $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  glinu w pożywce) i dla korzeni żyta inkubowanych przy najwyższym stężeniu glinu, średnie ze stałych dysocjacji zmniejszają się, czyli wzrasta nieznacznie kwasowość powierzchni tych korzeni. Niemniej jednak różnice pomiędzy średnimi z pozornych stałych dysocjacji nie są istotne. W tabeli 18 przedstawiono również zmiany całkowitej pojemności kationowymiennej (*CEC*) i całkowitego ładunku powierzchniowego (*Qv*) korzeni badanych roślin stresowanych glinem. U wszystkich korzeni roślin jednoliściennych i dwuliściennych, inkubowanych w stężeniach glinu 5, 10 i 20  $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  pożywki, odnotowano zmniejszenie się pojemności kationowymiennej i całkowitego zmiennego ładunku powierzchniowego, przy czym statystycznie istotne różnice ( $P < 0,05$ ) dla wielkości *CEC* i ładunku powierzchniowego (w odniesieniu do korzeni roślin kontrolnych), występują dla większości badanych korzeni stresowanych 10 i 20  $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  glinu. Można przypuszczać, że są to stężenia, przy których glin blokuje największą ilość grup karboksylowych odpowiedzialnych za całkowitą pojemność kationowymienną badanych korzeni. Jednocześnie dla większości badanych roślin są to stężenia, umożliwiające włączenie się innych mechanizmów obronnych rośliny, na przykład zwiększone wydzielanie fosforanów, maleinianów czy też kwasów uronowych, wiążących glin w apoplasmie komórek korzenia i/lub w wakuoli. Możliwym jest także, że stężenie jonów  $\text{Al}^{+3}$  w pożywce rzędu 10 i 20  $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  powoduje destrukcję ścian komórkowych u roślin bardziej wrażliwych, w rezultacie czego zmienia się ogólny charakter chemiczny badanych powierzchni korzeni (Józefaciuk i Szatanik Kloc 2003, 2004). W korzeniach żyta, które jest najbardziej odporne na fitotoksyczne stężenia glinu, istotne różnice wielkości całkowitego ładunku powierzchniowego (w odniesieniu do korzeni roślin kontrolnych) odnotowano dopiero dla korzeni inkubowanych przy 100  $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$  glinu w pożywce. Natomiast dla korzeni koniczyny ładunek powierzchniowy zmniejszył się istotnie

(poza stężeniem  $5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ Al}^{+3}$  w pożywce) praktyczne dla wszystkich stężeń jonów glinu stosowanych w doświadczeniu.

**Tabela 18.** Całkowita pojemność kationowymienna (*CEC*). Całkowity zmienny ładunek powierzchniowy (*Q<sub>v</sub>*) i średnie z pozornych stałych dysocjacji (*pK<sub>app</sub>*) korzeni stresowanych glinem (śr. z 3 powtórzeń  $\pm$  95% przedział ufności). Zmiany istotnie różne od kontroli ( $P < 0,05$ ) oznaczono pogrubioną czcionką

**Table 18.** Cation Exchange capacity (*CEC*), total variable surface charge (*Q<sub>v</sub>*) and average value of logarithm of surface dissociation constant (*pK<sub>app</sub>*) for Al-stressed roots (av. from 3 replicates  $\pm$  95% confidence interval). Bold – significant differences ( $P < 0.05$ )

Wariant Variant	Żyto Rye	Pszenica Wheat	Łubin Lupine	Koniczyna Clover
<i>CEC</i> ( $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ )				
pH7+4,5	623 $\pm$ 3,5	662 $\pm$ 2,8	666 $\pm$ 2,9	807 $\pm$ 0,5
pH4,5+5Al	553 $\pm$ 1,4	637 $\pm$ 4,5	583 $\pm$ 1,7	751 $\pm$ 7,5
pH4,5+10Al	<b>549<math>\pm</math>0,5</b>	<b>551<math>\pm</math>2,1</b>	<b>551<math>\pm</math>1,2</b>	<b>631<math>\pm</math>6,6</b>
pH4,5+20Al	<b>542<math>\pm</math>1,4</b>	<b>506<math>\pm</math>3,2</b>	<b>531<math>\pm</math>5,0</b>	<b>583<math>\pm</math>5,8</b>
pH4,5+40Al	582 $\pm$ 1,7	671 $\pm$ 8,4	611 $\pm$ 0,7	<b>663<math>\pm</math>0,4</b>
pH4,5+100Al	583 $\pm$ 8,8	685 $\pm$ 8,2	639 $\pm$ 5,3	731 $\pm$ 5,5
<i>O<sub>v</sub></i> ( $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ )				
pH7+4,5	1069 $\pm$ 3,3	1105 $\pm$ 3,6	1118 $\pm$ 0,9	1285 $\pm$ 0,2
pH4,5+5Al	1006 $\pm$ 7,5	1027 $\pm$ 5,6	1097 $\pm$ 6,5	1247 $\pm$ 2,0
pH4,5+10Al	964 $\pm$ 0,3	<b>987<math>\pm</math>0,7</b>	<b>1028<math>\pm</math>1,9</b>	<b>1154<math>\pm</math>0,6</b>
pH4,5+20Al	1024 $\pm$ 2,7	<b>977<math>\pm</math>6,1</b>	<b>1027<math>\pm</math>3,5</b>	<b>1123<math>\pm</math>4,3</b>
pH4,5+40Al	1058 $\pm$ 3,2	1131 $\pm$ 7,6	1070 $\pm$ 3,5	<b>1099<math>\pm</math>4,5</b>
pH4,5+100Al	1182 $\pm$ 0,4	1141 $\pm$ 8,3	1109 $\pm$ 3,0	<b>1112<math>\pm</math>3,8</b>
<i>pK<sub>app</sub></i>				
pH7+4,5	6,4 $\pm$ 0,3	6,3 $\pm$ 0,05	6,4 $\pm$ 0,3	6,3 $\pm$ 0,3
pH4,5+5Al	6,58 $\pm$ 0,1	6,3 $\pm$ 0,1	6,39 $\pm$ 0,1	6,4 $\pm$ 0,01
pH4,5+10Al	6,62 $\pm$ 0,2	6,4 $\pm$ 0,2	6,44 $\pm$ 0,1	6,8 $\pm$ 0,02
pH4,5+20Al	6,67 $\pm$ 0,2	6,5 $\pm$ 0,2	6,57 $\pm$ 0,7	6,8 $\pm$ 0,3
pH4,5+40Al	6,73 $\pm$ 0,1	6,6 $\pm$ 0,8	6,6 $\pm$ 0,02	6,1 $\pm$ 0,04
pH4,5+100Al	6,52 $\pm$ 0,1	6,6 $\pm$ 0,3	6,6 $\pm$ 0,3	6,0 $\pm$ 0,2

Zastosowanie subletalnych lub letalnych stężeń glinu spowodowało zwiększenie się *CEC* i całkowitego ładunku powierzchniowego u roślin z niższym poziomem tolerancji na glin. Prawdopodobnie jest to wynikiem znacznego ograniczenia lub ustania reakcji fizjologicznych i metabolicznych korzeni lub może być związane z usuwaniem z wakuoli znajdujących się tam jonów glinu do apoplastu korzenia. Istotnie większe różnice (w odniesieniu do kontroli) wielkości całkowitego ładunku powierzchniowego praktycznie dla wszystkich stosowanych w doświadczeniu stężeniach glinu wykazują korzenie koniczyny. Opisany w rozdziale 5 istotny wzrost pozornej powierzchni właściwej dla korzeni badanych roślin bobowatych pod wpływem jonów glinu oraz znaczne zmniejszenie się ładunku powierzchniowego, wpłynęło na zmianę gęstości ładunku powierzchniowego (*SCD*) tych korzeni. W tabeli 19 przedstawiono zmiany gęstości ładunku powierzchniowego dla korzeni kontrolnych i inkubowanych w obecności glinu.

**Tabela 19.** Gęstość ładunku powierzchniowego (*SCD*) dla korzeni roślin stresowanych glinem (śr. z 3 powtórzeń). Zmiany istotnie różne od kontroli ( $P < 0,05$ ) oznaczono pogrubioną czcionką  
**Table 19.** Surface charge density (*SCD*) for Al-stressed roots (av. from 3 replicated experiments). Bold – significant differences ( $P < 0.05$ )

Wariant Variant	Żyto	Pszenica	Łubin	Koniczyna
	Rye	Wheat	Lupine	Clover
<i>SCD</i> (C·m <sup>2</sup> )				
pH7+4,5	0,391	0,413	0,551	0,581
pH4,5+5Al	0,391	0,410	0,513	<b>0,540</b>
pH4,5+10Al	0,396	<b>0,407</b>	<b>0,466</b>	<b>0,489</b>
pH4,5+20Al	0,396	<b>0,347</b>	<b>0,449</b>	<b>0,471</b>
pH4,5+40Al	0,398	0,372	<b>0,427</b>	<b>0,428</b>
pH4,5+100Al	0,399	0,391	<b>0,420</b>	<b>0,422</b>

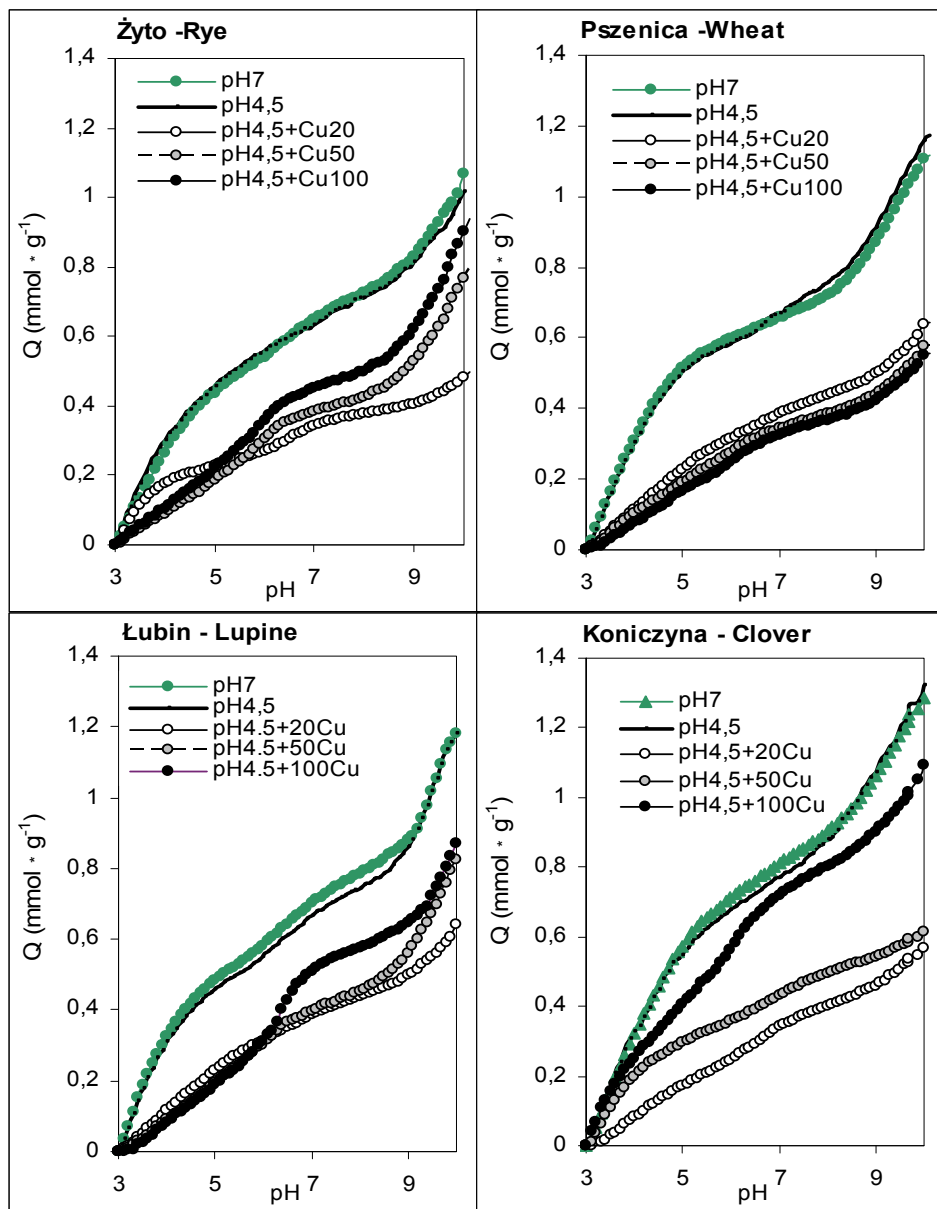
Gęstość ładunku powierzchniowego dla wszystkich badanych korzeni (poza korzeniami żyta) zmniejszyła się w miarę nasilenia się czynnika stresowego, przy czym istotne zmniejszenie się *SCD* odnotowano w korzeniach roślin dwuliściennych, dla wszystkich stosowanych w doświadczeniu stężeń glinu (oprócz korzeni łubinu inkubowanych w najniższym stężeniu  $Al^{+3}$ ). Dla korzeni badanej pszenicy istotne zmniejszenie się gęstości ładunku powierzchniowego odnotowano dla stężeń jonów  $Al^{+3}$  rzędu 10 i 20  $mg \cdot dm^{-3}$  pożywki. Pomimo, że pozorna powierzchnia właściwa korzeni pszenicy inkubowanych w 10  $mg \cdot dm^{-3}$  glinu w pożywce zmniejszyła się, spadek całkowitego zmiennego ładunku powierzchniowe-

go był na tyle istotny, że wyraźnie wpłynął również na gęstość ładunku powierzchniowego tych korzeni. Nie odnotowano takich zmian dla korzeni badanej odmiany żyta, chociaż całkowity zmienny ładunek jego korzeni również się zmniejszył. Zmiany te jednak były nieznaczne.

Spadek gęstości ładunku powierzchniowego może być związany ze zmniejszeniem się wysokoenergetycznych polarnych centów adsorpcyjnych (Rozdział 5) dla korzeni stresowanych (grupy funkcyjne generujące najwięcej ładunku powierzchniowego są z reguły silnie polarne, np. grupy karboksylowe, które wiążą również najwięcej metali). Obecność czynnika stresowego mogła również spowodować uruchamianie całego szeregu innych mechanizmów obronnych, do których należy (wcześniej wspomniane) wydzielanie związków o charakterze słabo kwaśnym, fosforanów i maleinianów (Olma i Ohira 1983, 1985, Horst i in. 1983, 1991, Peller i in. 1997, Kochian 2001). Ponadto obecne w korzeniu jony glinu mogły być chelatowane w cytozolu i podlegać kompartmentacji w wakuoli. Prawdopodobnym jest więc, że dla korzeni badanej odmiany żyta, charakteryzującej się najniższą całkowitą pojemnością kationowymienną spośród korzeni badanych roślin, mniejsze znaczenie na unieruchamianie glinu w apoplacie miało wiązanie tego metalu z grupami karboksylowymi pektyn. Na detoksykację glinu w korzeniach żyta większy wpływ mogły mieć raczej inne mechanizmy odpornościowe (np. tworzenie metaloprotein i kompartmentacja w wakuoli), co może być związane z faktem, iż obserwowane pod wpływem glinu zmiany *CEC* i całkowitego zmiennego ładunku powierzchniowego w korzeniach żyta są mniej wyraźne niż dla korzeni pozostałych badanych roślin. Brak istotnych różnic w wielkości całkowitej pojemności kationowymiennej (*CEC*), całkowitego zmiennego ładunku powierzchniowego oraz gęstości ładunku powierzchniowego korzeni badanej odmiany pszenicy przy wysokich stężeniach glinu w pożywce (40 i 100 mg·dm<sup>-3</sup> jonów Al<sup>+3</sup> w pożywce) może być z kolei wynikiem nieodwracalnych uszkodzeń zarówno strukturalnych jak i funkcjonalnych tych korzeni, ponieważ najwyższe stosowane w doświadczeniu stężenia glinu są dla tego gatunku letalne. Istotnie większe różnice charakteryzowanych właściwości korzeni roślin dwuliściennych stresowanych glinem (w porównaniu z korzeniami tych roślin rosnących w warunkach optymalnych) nie muszą koniecznie wynikać z ich mniejszej odporności. Mogą być związane z jednoczesnym funkcjonowaniem wielopoziomowych mechanizmów zaangażowanych w obronę roślin przed czynnikiem stresowym (Baker i Walker 1990, Antosiewicz 1992, Siedlecka i in. 2001).

### **6.5. Wpływ jonów miedzi na właściwości jonowymienne badanych korzeni**

Krzywe zależności całkowitego zmiennego ładunku powierzchniowego od pH dla korzeni badanych roślin kontrolnych i rosnących przy dodatkowej aplikacji miedzi w pożywce przedstawiono na rysunku 23.

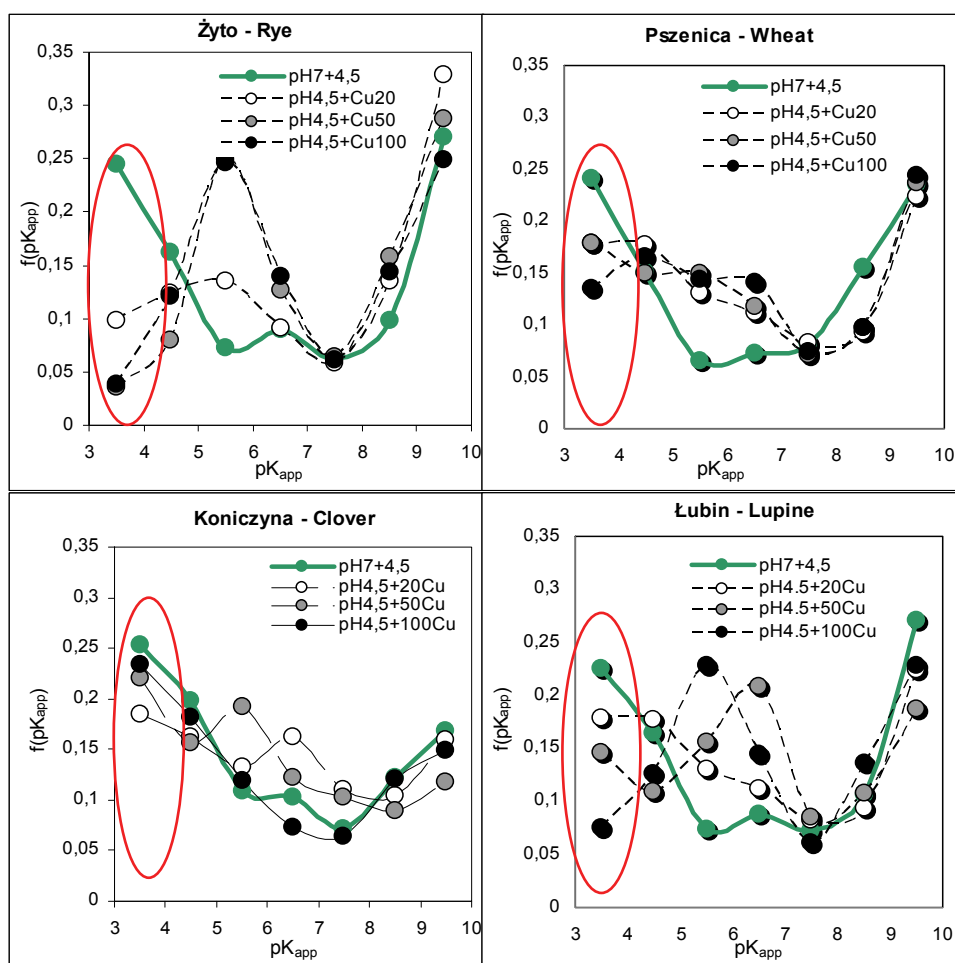


Rys. 23. Ładunek powierzchniowy w funkcji pH dla korzeni stresowanych miedzią  
 Fig. 23. Surface charge versus pH dependence for Cu-stressed roots

Nie odnotowano różnicy w przebiegu krzywych miareczkowania potencjometrycznego pomiędzy korzeniami rosnącymi w pH7 a korzeniami, którym obniżono odczyn pożywki do pH4,5 bez dodatkowej aplikacji jonów  $\text{Cu}^{+2}$ . Zdecydowane różnice wielkości ładunku powierzchniowego wystąpiły dopiero dla korzeni roślin, którym zaaplikowano dodatkową ilość miedzi. Całkowity zmienny ładunek powierzchniowy badanych korzeni roślin dwuliściennych i korzeni żyta zmniejszył się w największym stopniu dla korzeni inkubowanych w stężeniu miedzi rzędu  $20 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  pożywki. Krzywe miareczkowania korzeni żyta i roślin dwuliściennych inkubowanych w wyższych stężeniach miedzi wykazywały tendencje wzrostowe. W miarę nasilania się czynnika stresowego przebieg tych krzywych był coraz bardziej zbliżony do przebiegu krzywych korzeni kontrolnych. Dla korzeni koniczyny rosnącej przy  $100 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ Cu}^{+2}$ , krzywe miareczkowania potencjometrycznego w najmniejszym stopniu różniły się od krzywych korzeni kontrolnych tych roślin. Nie oznacza to większej odporności tych roślin na fitotoksyczne stężenia miedzi w podłożu. Wręcz przeciwnie, ekstremalne stężenia miedzi stosowane w doświadczeniu były stężeniami letalnymi dla badanych roślin, zatem czas życia rośliny był zbyt krótki aby nastąpiły zmiany właściwości powierzchniowych tkanki. Najmniejszymi różnicami w przebiegu krzywych miareczkowania charakteryzowały się korzenie żyta. Dla korzeni badanej odmiany pszenicy, całkowity zmienny ładunek powierzchniowy zmniejszył się proporcjonalnie do nasilenia czynnika stresowego-miedzi.

Na rysunku 24 przedstawiono funkcje rozkładu pozornych stałych dysocjacji i ich zmiany pod wpływem jonów miedzi. Dodatkowa aplikacja jonów miedzi w pożywce w istotny sposób zmniejszyła liczbę frakcji powierzchniowych grup funkcyjnych silnie kwaśnych ( $\text{p}K_{\text{app}} \sim 3,5$ ), a więc generujących najwięcej ładunku powierzchniowego. Dla wszystkich badanych korzeni wzrosła z kolei liczba grup powierzchniowych o średniej kwasowości ( $5 < \text{p}K_{\text{app}} < 8$ ) i nie zmieniła się, lub nieznacznie zmniejszyła się liczba słabo kwaśnych powierzchniowych grup funkcyjnych ( $\text{p}K_{\text{app}} > 8$ ). Zmniejszenie się liczby silnie kwaśnych grup powierzchniowych w szczególnie istotny sposób wpłynęło na obniżenie całkowitej pojemności kationowymiennej (tab. 20), która determinowana jest przede wszystkim liczbą grup karboksylowych pektyn ściany komórkowej, wiążących silnie metale i należących do silnie kwaśnych grup powierzchniowych korzenia. Spadek *CEC* korzeni dla większości badanych roślin inkubowanych w subletalnych stężeniach miedzi ( $20 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) może być związany z blokowaniem tych grup przez jony  $\text{Cu}^{+2}$ . Obecność czynnika stresowego wywołuje destabilizację struktury (np. białek, błon i ścian komórkowych) i zmiany funkcjonalne (procesów biochemicznych i energetycznych) co wpływa na prawidłowość procesów życiowych organizmu (Kacperska 2007b). Rezultatem tego może być zakłócenie gospodarki jonowej i/lub bilansu energetycznego w komórkach korzenia co wpływa pośrednio na

zmiany ilościowe i jakościowe takich procesów jak fotosynteza i oddychanie. Zmienia się także bezpośrednio chemiczny charakter powierzchni korzenia, co mogło mieć wpływ (rys. 24) na wzrost średnio kwaśnych grup powierzchniowych i zmniejszenie się frakcji grup o najniższych właściwościach kwasowych (generujących najmniej ładunku powierzchniowego).



**Rys. 24.** Funkcje rozkładu pozornych stałych dysocjacji dla korzeni stresowanych miedzią  
**Fig. 24.** Distribution functions of apparent surface dissociation constants for Cu-stressed roots

Generalnie dla korzeni inkubowanych we wszystkich stosowanych w doświadczeniu stężeniach miedzi, całkowity zmienny ładunek powierzchniowy zmniejszył się

w stosunku do korzeni rosnącymi bez stresora (tab. 20). Zmienił się również nieznacznie ogólny charakter kwasowości powierzchni korzeni badanych roślin, charakteryzowany poprzez średnie stałe dysocjacji (tab. 20), które dla korzeni stresowanych miedzią nieznacznie wzrosły (w warunkach stresu obniżyła się kwasowość powierzchni badanych korzeni).

**Tabela 20.** Całkowita pojemność kationowymienna (*CEC*). Całkowity zmienny ładunek powierzchniowy (*Q<sub>v</sub>*) i średnie ze pozornych stałych dysocjacji (*pK<sub>app</sub>*) korzeni stresowanych miedzią (śr. z 3 powtórzeń ± 95% przedział ufności). Zmiany istotnie różne od kontroli ( $P < 0,05$ ) oznaczono pogrubioną czcionką

**Table 20.** Cation Exchange capacity (*CEC*), total variable surface charge (*Q<sub>v</sub>*) and average value of log of surface dissociation constant (*pK<sub>app</sub>*) for Cu-stressed roots (av. from 3 replicated experiments ± 95% confidence interval). Bold – significant differences ( $P < 0,05$ )

Wariant Variant	Żyto Rye	Pszenica Wheat	Łubin Lupine	Koniczyna Clover
	<i>CEC</i> ( $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ )			
pH7+4,5	623±3,5	662±2,8	666±2,9	807±0,5
pH4,5+20Cu	<b>318±4,8</b>	<b>393±0,8</b>	<b>386±1,9</b>	<b>376±5,1</b>
pH4,5+50Cu	<b>398±4,8</b>	<b>366±2,4</b>	<b>479±4,7</b>	<b>477±5,4</b>
pH4,5+100Cu	<b>415±2,1</b>	<b>379±0,4</b>	<b>485±4,6</b>	<b>630±1,3</b>
<i>Q<sub>v</sub></i> ( $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ )				
pH7+4,5	1069±3,3	1105±3,6	1118±0,9	1285±0,2
pH4,5+20Cu	<b>787±0,8</b>	<b>630±1,6</b>	<b>729±4,7</b>	<b>514±6,5</b>
pH4,5+50Cu	<b>783±0,2</b>	<b>578±1,5</b>	<b>830±1,3</b>	<b>578±4,1</b>
pH4,5+100Cu	<b>795±7,2</b>	<b>543±1,3</b>	<b>862±2,2</b>	<b>825±2,1</b>
<i>pK<sub>app</sub></i>				
pH7+4,5	6,4±0,3	6,3±0,05	6,4±0,3	6,3±0,3
pH4,5+20Cu	7,1±0,3	6,5±0,02	6,9 ±0,3	6,2 ±0,2
pH4,5+50Cu	6,9 ±0,4	6,6±0,04	7,0±0,3	6,3±0,1
pH4,5+100Cu	6,9 ±0,3	6,7 ±0,04	7,0±0,2	6,4±0,1

Spadek liczby silnie kwaśnych grup generujących ładunek powierzchniowy i zmiany pozornej powierzchni właściwej pod wpływem fitotoksycznych stężeń miedzi spowodowały również obniżenie gęstości ładunku na powierzchni badanych korzeni (tab. 21).

Zmniejszenie się gęstości ładunku powierzchniowego korzeni inkubowanych w dodatkowej aplikacji miedzi w pożywce w stosunku do korzeni kontrolnych, było istotne dla wszystkich badanych korzeni i dla wszystkich stosowanych w doświadczeniu stężeń miedzi. Prawdopodobne jest więc, że stres miedziowy spowodował załamanie się integralności komórek korzeni zanim włączyły się mechanizmy obronne.

**Tabela 21.** Gęstości ładunku powierzchniowego (*SCD*) w korzeniach roślin stresowanych miedzią (śr. z 3 powtórzeń). Zmiany istotnie różne od kontroli ( $P < 0,05$ ) oznaczono pogrubioną czcionką  
**Table 21.** Surface charge density (*SCD*) of Cu-stressed roots (av. from 3 replicated experiments). Bold – significant differences ( $P < 0.05$ )

Wariant Variant	Żyto	Pszenica	Łubin	Koniczyna
	Rye	Wheat	Lupine	Clover
<i>SCD</i> (C·m <sup>2</sup> )				
pH7+4,5	0,391	0,413	0,551	0,581
pH4,5+20Cu	<b>0,295</b>	<b>0,247</b>	<b>0,230</b>	<b>0,185</b>
pH4,5+50Cu	<b>0,310</b>	<b>0,216</b>	<b>0,267</b>	<b>0,191</b>
pH4,5+100Cu	<b>0,280</b>	<b>0,203</b>	<b>0,285</b>	<b>0,289</b>

Istnieje również duże prawdopodobieństwo, że badane gatunki (być może i odmiany) roślin nie są dostatecznie wyposażone w mechanizmy odpornościowe na toksyczne stężenia miedzi. Większość badań związanych z mechanizmami odpornościowymi (zarówno adaptacyjnymi jak i aklimatyzacyjnymi) na wysokie stężenia w podłożu jonów miedzi, dotyczy specyficznych gatunków roślin tzw. hiperkumulatorów na przykład *Tlaspi cerretalul*, *Silene vulgaris*, *Armeria Maritina* (Poschenrieder i in. 2001, Van Hoof i in. 2001, Lombini i in. 2001). Niedobór wapnia występujący w komórkach korzeni w związku z wysokimi stężeniami metali ciężkich prowadzi do destrukcji ścian komórkowych tkanek korzeniowych, co zmienia chemiczny charakter ich powierzchni i zakłóca właściwości jonowymienne korzenia. Wiele czynników zatem może determinować zmiany jonowymiennych właściwości korzeni badanych roślin stresowanych miedzią. Zarówno korzenie roślin jednoliściennych jak i dwuliściennych reagowały na fitotoksyczne stężenia miedzi istotnym zmniejszeniem się całkowitej pojemności kationowymiennej (*CEC*), spadkiem całkowitego ładunku powierzchniowego oraz obniżeniem gęstości ładunku powierzchniowego.

### **Podsumowanie rozdziału**

Korzenie badanych roślin dwuliściennych (zwłaszcza korzenie koniczyny) charakteryzowały się większymi niż korzenie roślin jednoliściennych wielko-

ściami odpowiadającymi za ich właściwości jonowymienne. Statystycznie istotne różnice odnotowano przede wszystkim dla gęstości ładunku powierzchniowego.

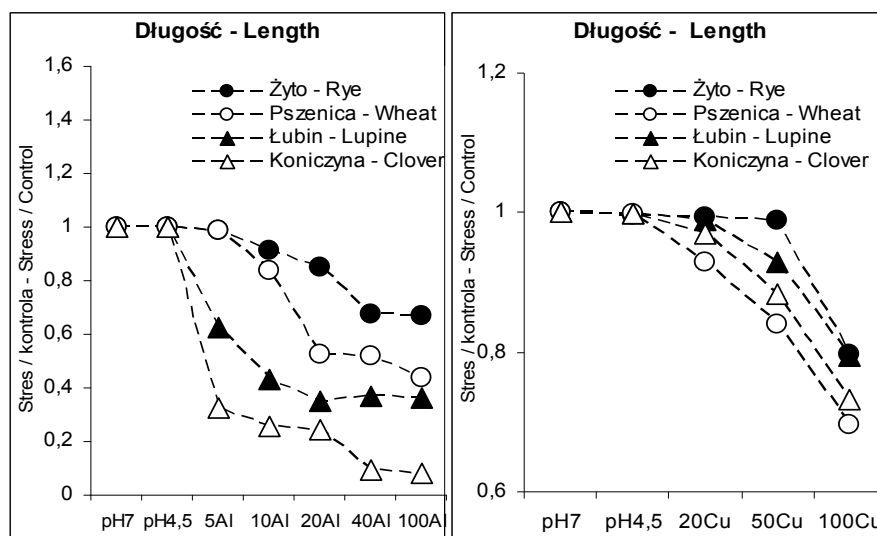
Obecność subletalnych stężeń jonów glinu i dodatkowej aplikacji miedzi w pożywce w istotny sposób wpłynęły na zmniejszenie się całkowitej pojemności kationowymiennej (*CEC*), całkowitego ładunku powierzchniowego (*Q*) i gęstości tego ładunku na powierzchni (*SCD*) wszystkich badanych korzeni. Jest to związane z jednym z głównych mechanizmów obronnych roślin na fitotoksyczne stężenia glinu i miedzi, jakim jest wiązanie jonów tych metali z grupami karboksylowymi pektyn ściany komórkowej. Grupy te z kolei w największym stopniu decydują o ujemnym ładunku korzeni, a więc odpowiadają za wielkość ich całkowitej pojemności kationowymiennej. O blokowaniu przez jony glinu i miedzi grup karboksylowych obecnych w korzeniu świadczy również zmniejszenie się w korzeniach stresowanych liczby silnie kwaśnych grup powierzchniowych, a więc przede wszystkim grup karboksylowych pektyn ściany komórkowej.

Powyżej określonej (dla danego gatunku czy odmiany) granicy stężenia stresorów, mogą one być między innymi unieruchamiane (zwłaszcza w przypadku glinu) w wolnych przestworach komórkowych korzeni i w wakuolach. Zaobserwowane w niniejszych badaniach tendencje wzrostu badanych wielkości *CEC* i całkowitego ładunku powierzchniowego dla korzeni inkubowanych w letalnych stężeniach glinu i miedzi najprawdopodobniej były wynikiem usuwania z wakuoli podczas miareczkowania obecnych tam jonów metali. Letalne stężenia stresorów mogły także ograniczyć lub wręcz spowodować całkowitą utratę homeostazy komórkowej w wyniku tego ustały reakcje fizjologiczne i metaboliczne korzeni, a więc również zmieniły się ich właściwości jonowymienne. Nie bez znaczenia dla tych właściwości była również wielce prawdopodobna destrukcja ściany komórkowej związana z niedoborem jonów wapnia.

W reakcji roślin na fitotoksyczne stężenia glinu i miedzi, w kontekście zmian charakteryzowanych właściwości jonowymiennych, nie odnotowano wyraźnego podziału na rośliny jedno i dwuliścienne. Największym spadkiem ładunku powierzchniowego i *CEC* charakteryzowały się korzenie koniczyny i pszenicy, a najmniejszym z kolei korzenie żyta. Wyraźny podział na rośliny jedno i dwuliścienne odnotowano natomiast w zmianach gęstości ładunku (*SCD*) na powierzchni korzeni stresowanych jonami glinu.

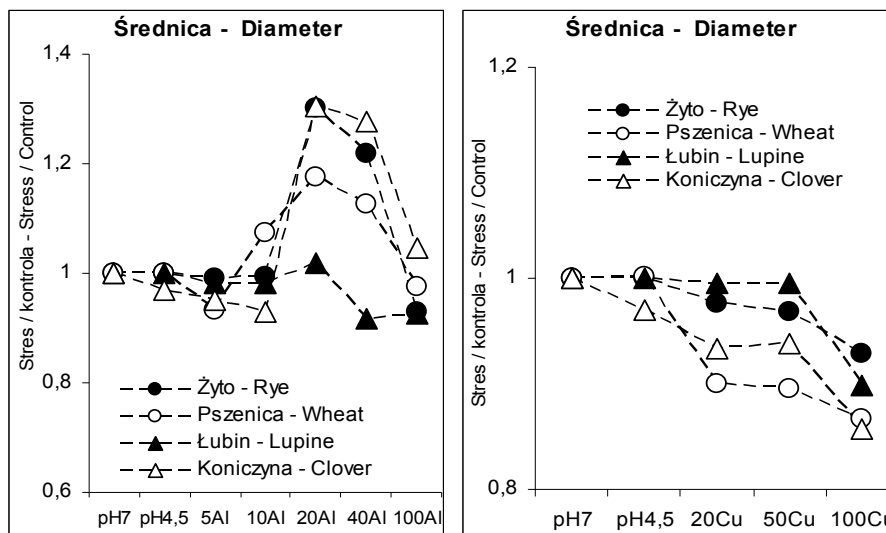
## 7. PODSUMOWANIE

Fitotoksyczne stężenia glinu i miedzi wywołują zmiany charakterystyk biometrycznych korzeni badanych roślin. Względne zmiany długości korzeni roślin stresowanych w odniesieniu do korzeni rosnących bez stresorów przedstawiono na rysunku 25.



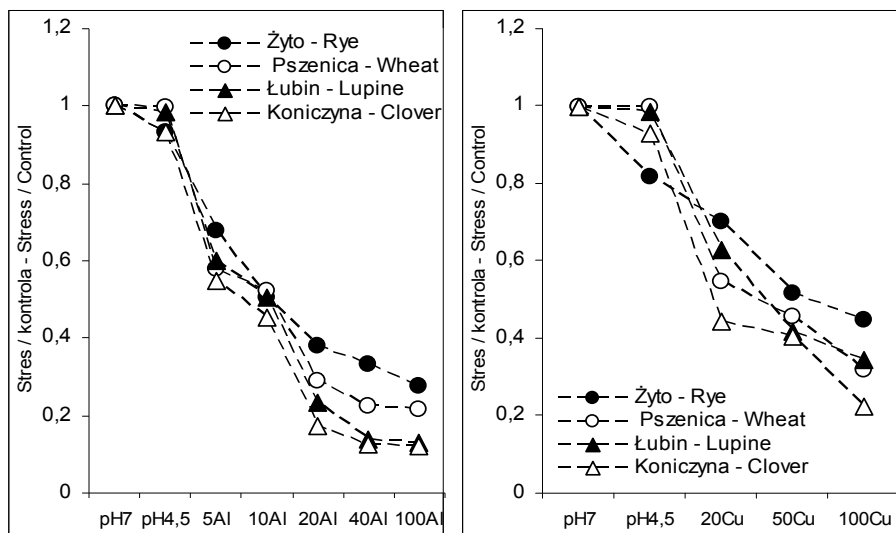
**Rys. 25.** Stosunek sumarycznej długości korzeni stresowanych do korzeni kontrolnych  
**Fig. 25.** Ratio of the combined total length of stressed roots to control roots

Pod wpływem stosowanych w doświadczeniu stężeń glinu i miedzi sumaryczna długość korzeni badanych roślin zmniejszyła się. W przypadku stresu glinowego rośliny dwuliścienne zareagowały zdecydowanie bardziej niż rośliny jednoliścienne. Dla subletalnych stężeń glinu w pożywce średnica korzeni badanych roślin zwiększyła się (rys. 26), natomiast dla korzeni inkubowanych w dodatkowej aplikacji miedzi i dla niższych stosowanych w doświadczeniu stężeń jonów glinu odnotowano zmniejszenie się średnicy korzeni badanych roślin. Za zmiany charakterystyk biometrycznych prawdopodobnie odpowiedzialne było uszkodzenie komórek merystematycznych wierzchołka korzenia i komórek strefy wydłużania. Obecność stresorów mogła wpłynąć również na zaburzenia w produkcji i przewodzeniu fitohormonów stymulujących wzrost korzenia, o czym już niejednokrotnie donoszono w literaturze przedmiotu (Wagatsuma 1987b, Klimaszewskij 1990).



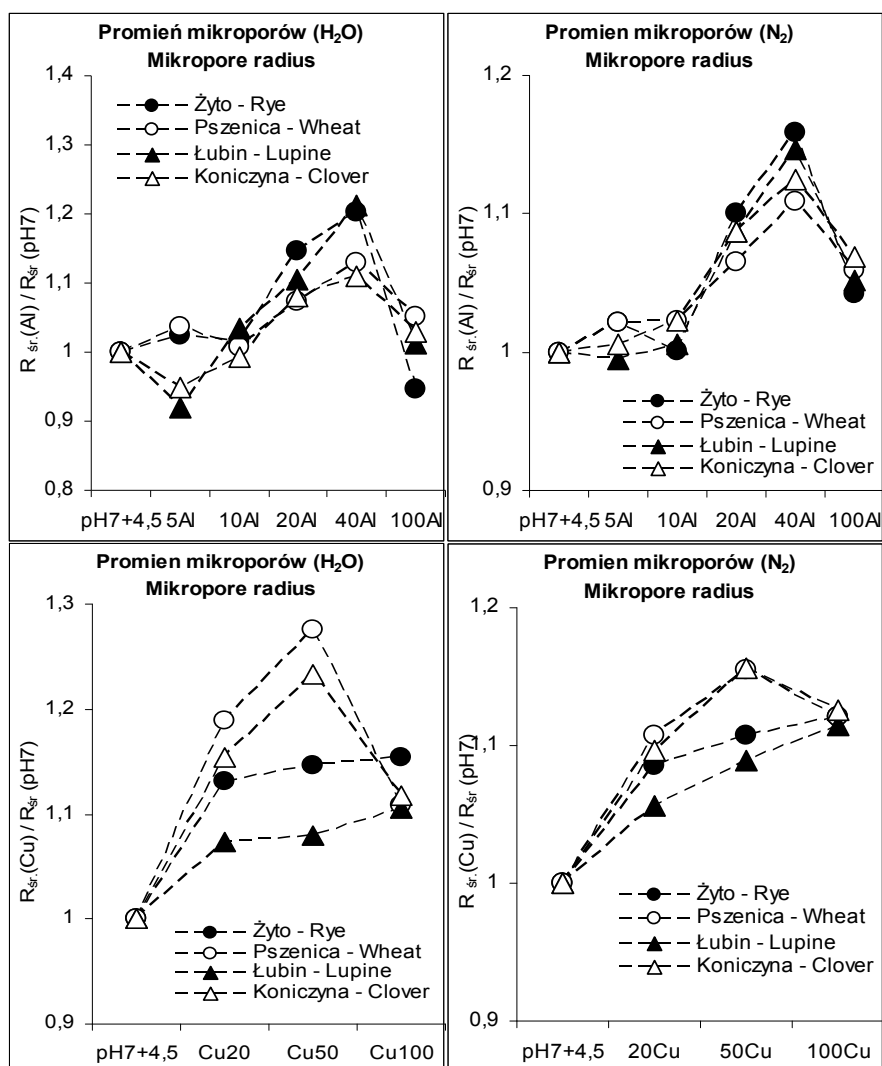
**Rys. 26.** Stosunek średniej średnicy korzeni stresowanych do korzeni kontrolnych  
**Fig. 26.** Ratio of the average diameter of stressed roots to that of control roots

Zaburzenia pod wpływem stresorów wzrostu i rozwoju korzeni, a także antagonistyczne oddziaływania pomiędzy glinem i miedzią (których zawartość głównie w korzeniach wzrastała wprost proporcjonalnie do stężenia stresorów) a innymi makro i mikroelementami wpłynęły na zmniejszenie się zawartości tych ostatnich w korzeniach i częściach nadziemnych roślin, co niewątpliwie pozostało również nie bez znaczenia dla spadku suchej masy korzeni i części nadziemnych. Ogólne tendencje tych zmian (szczególnie w przypadku stresu miedziowego) nie wykazały wyraźnego podziału (poza długością korzeni) na grupę roślin jedno i dwuliściennych. Podział ten raczej dotyczył roślin bardziej wrażliwych na pH środowiska i wtórne czynniki zakwaszenia jak fitotoksyczność metali ciężkich i glinu, wykazujących większe wymagania co do żyzności gleby (koniczyna, pszenica) oraz roślin względnie dobrze rozwijających się w środowisku słabo kwaśnym, których wymagania co do zasobności podłoża w składniki mineralne jest znacznie mniejsze (żyto i łubin). Dla zmian strukturalnych, jakie zaszły w korzeniach pod wpływem stresorów szczególnie istotny był spadek zawartości wapnia pokazany na rysunku 27. Niedobór wapnia w korzeniach lub jego wypieranie przez jony glinu i miedzi, ograniczył cementującą rolę pektynianów wapnia ściany komórkowej, powodując zmiany ich właściwości, co z kolei mogło wpłynąć między innymi na charakterystykę porowatości tkanki korzeniowej.



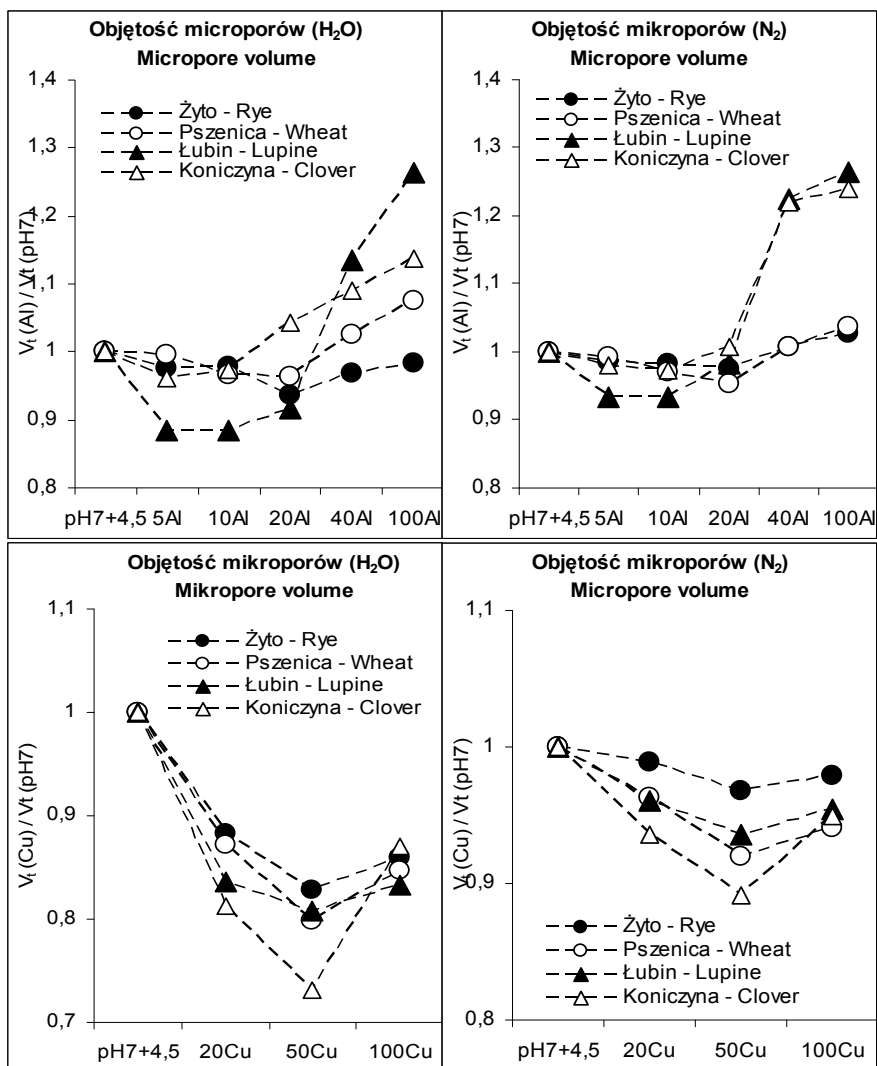
**Rys. 27.** Zawartość jonów  $\text{Ca}^{+2}$  w korzeniach stresowanych w stosunku do korzeni kontrolnych  
**Fig. 27.**  $\text{Ca}^{+2}$  ions content in the control roots in relation to the stressed roots

Tendencje zmian w funkcji rozkładu mikroporów wyznaczanych z izoterm desorpcji pary wodnej (adsorbat polarny) i azotu (adsorbat niepolarny) były podobne i charakteryzowały się spadkiem ilości mikroporów o najmniejszych promieniach i wzrostem mikroporów o największym promieniu z badanego zakresu mikroporów. Zaobserwowany wzrost średniego promienia mikroporów dla korzeni stresowanych subletalnymi (charakterystycznymi dla danego gatunku i odmiany) stężeniami stresorów i jednoczesny spadek całkowitej mikroporowatości świadczy o uszkodzeniu struktury badanych korzeni. Odnotowane dla korzeni inkubowanych w niższych stężeniach glinu, zmniejszenie się średniego promienia jest prawdopodobnie wynikiem blokowania mikroporów znajdujących się w ścianach komórkowych korzenia przez jony glinu. Względne zmiany średniego promienia i całkowitej objętości mikroporów dla korzeni stresowanych glinem i miedzią w stosunku do korzeni rosnących bez stresorów przedstawiono na rysunkach 28 i 29. Całkowita objętość mikroporów korzeni stresowanych zmniejsza się praktycznie w całym zakresie stosowanych stężeń czynników stresowych. Jedynie dla korzeni stresowanych ekstremalnymi stężeniami glinu i miedzi zaobserwowano tendencje wzrostowe całkowitej objętości mikroporów i wzrost wielkości średniego promienia mikroporów.



**Rys. 28.** Względne zmiany średniego promienia mikroporów korzeni stresowanych w stosunku do korzeni kontrolnych

**Fig. 28.** Relative changes in the average micropore radius of the stressed roots versus that of the control roots



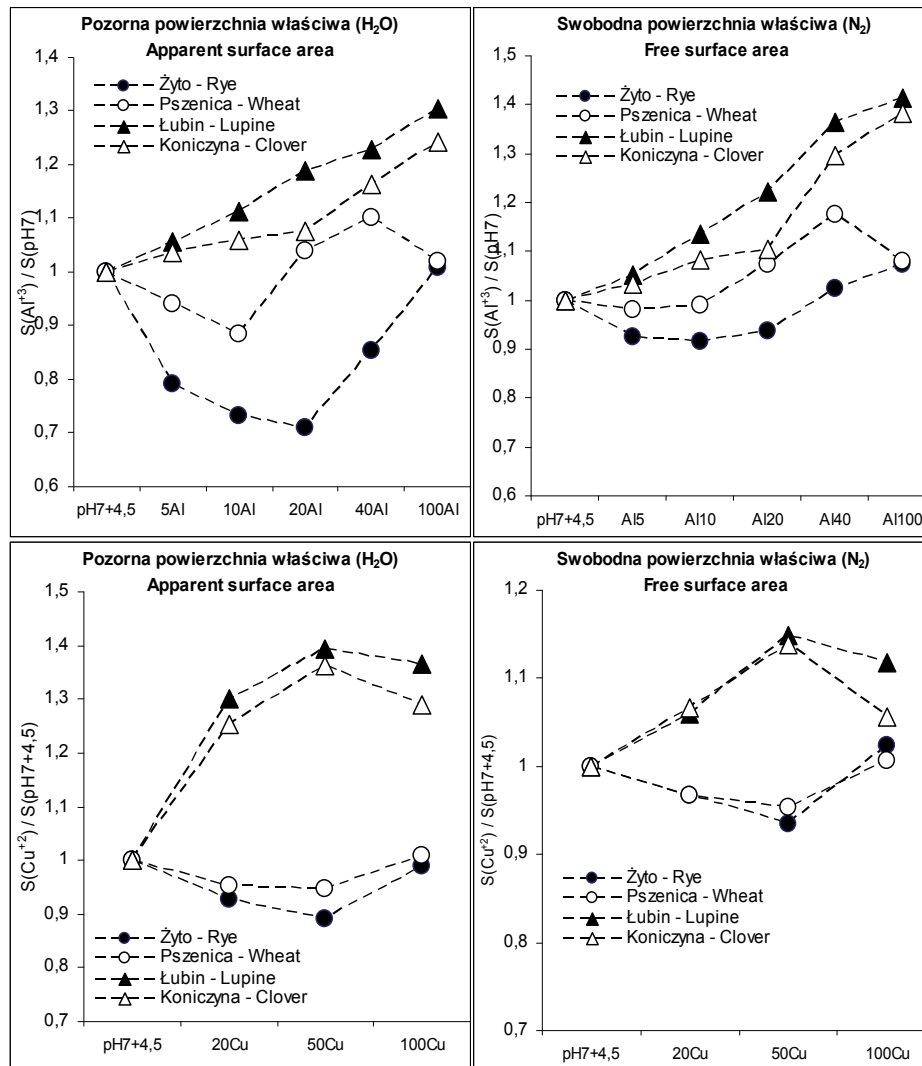
**Rys. 29.** Stosunek całkowitej objętości mikroporów korzeni stresowanych do korzeni kontrolnych  
**Fig. 29.** Ratio of the total micropore volume of stressed roots to that of the control roots

W przypadku stresu glinowego największe zmiany w całkowitej objętości mikroporów zaszły w korzeniach łubinu a dla stresu miedziowego w korzeniach koniczyny. Możemy zatem wnioskować, że porowatość korzeni determinowana jest właściwościami danego gatunku czy też odmiany, które zależą od budowy morfologicznej i anatomicznej korzenia, między innymi od wielkości przestwo-

rów międzykomórkowych i właściwości ściany komórkowej. Na obserwowane zmiany porowatości badanych korzeni miały wpływ zarówno rodzaj, jak i nasilenie stresora a także co było szczególnie istotne w korzeniach stresowanych glinem możliwość włączenia się mechanizmów obronnych rośliny.

Obserwowane pod wpływem czynników stresowych zmiany charakterystyk biometrycznych i charakteru geometrycznego powierzchni korzeni wyrażonego poprzez zmiany funkcji rozkładu mikroporów, wielkości średniego ich promienia oraz całkowitej mikroporowatości, prowadzą do zahamowania transportu wody i jonów. Od strony fizykochemicznej za transport wody i jonów przez korzeń rośliny odpowiadają powierzchnia właściwa i całkowita pojemność kationowymienna. Fitotoksycznemu oddziaływaniu czynników stresowych na korzenie badanych roślin towarzyszyły również zmiany tych wielkości. Względne zmiany powierzchni właściwej (pozornej i swobodnej) korzeni stresowanych, względem powierzchni właściwej korzeni kontrolnych przedstawiono na rysunku 30. Szczególnie istotne zmiany odnotowano dla pozornej powierzchni właściwej wyznaczanej polarnym adsorbentem (parą wodną). Wielkość tej powierzchni determinowana jest obecnością w korzeniu grup polarnych: karboksylowych, hydroksylowych, aminowych. Subletalne i letalne stężenia stresorów stosowane w doświadczeniu wyraźnie wpłynęły na zwiększenie się powierzchni właściwej badanych korzeni.

Wzrost powierzchni właściwej spowodowany jest najprawdopodobniej niedoborem wapnia w korzeniach stresowanych. Wiąże się z tym wspomniana już maceracja tkanki w wyniku ograniczenia cementującej roli pektynianów wapnia, na skutek tego blaszka środkowa (pełniąca rolę lepiszcza poszczególnych komórek) ulega rozpuczeniu. Poszczególne komórki rozsuwają się zwiększając tym samym wolne przestrzenie komórkowe. Ponadto wiązanie glinu i miedzi z grupami karboksylowymi pektyn i hemiceluloz ściany komórkowej mogło doprowadzić do ograniczenia elastyczności tych ścian i w końcowym efekcie do ich rozerwania co spowodowało zmiany strukturalne i chemiczne tkanek korzeni i udostępnienie nowych powierzchni adsorpcyjnych. Zmiany strukturalne i chemiczne powierzchni korzeni stresowanych wpłynęły również na energię adsorpcji ich powierzchni, wyrażoną funkcją rozkładu energii adsorpcji i średnią energią adsorpcji. W badanych korzeniach wzrostowi powierzchni (poza żytem) towarzyszył spadek energii adsorpcji, związany ze zmniejszeniem się wysokoenergetycznych centrów adsorpcyjnych, takich jak grupy karboksylowe, które mogły być blokowane przez jony glinu i miedzi. Zmniejszenie średniej energii adsorpcji związane mogło być także ze wzrostem względnej zawartości niskoenergetycznych centrów adsorpcyjnych w wyniku wydzielania przez korzenie w warunkach stresu, związków słabo kwaśnych (np. kwasu cytrynowego, jabłkowego) a więc niskoenergetycznych.



**Rys. 30.** Stosunek powierzchni właściwej (pozornej i swobodnej) korzeni stresowanych do korzeni kontrolnych

**Fig. 30.** Ratio of the apparent and free surface area of stressed roots to that of control roots

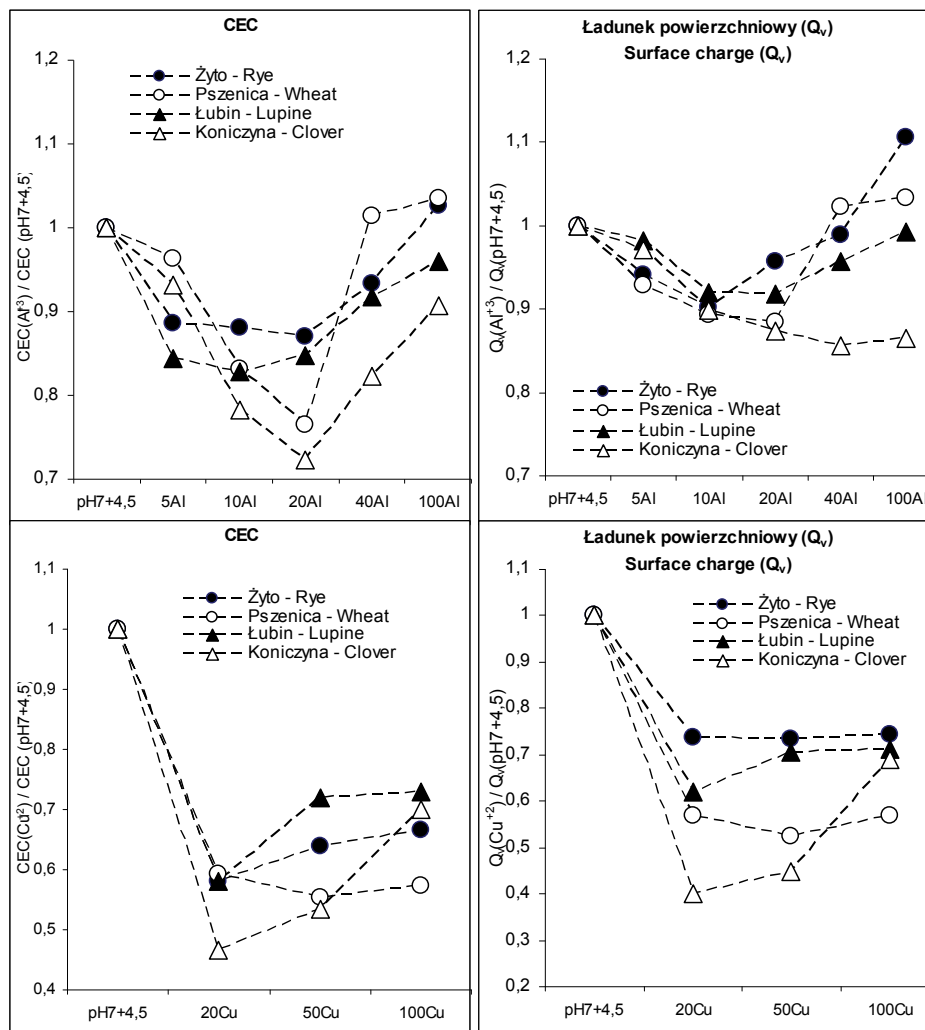
Zarówno w obecności glinu jak i wysokich stężeń miedzi, w korzeniach roślin dwuliściennych odnotowano bardziej wyraźne zmiany wielkości powierzchni właściwej. Praktycznie w całym zakresie stosowanych stężeń stresorów, powierzchnie właściwe (pozorne i swobodne) korzeni tych roślin wykazywały ten-

dencje wzrostowe a różnice w odniesieniu do korzeni kontrolnych były istotne. Mniej jednoznacznie na stosowane w badaniach warunki stresowe zareagowały korzenie roślin jednoliściennych. W obecności stężeń glinu poniżej progu wrażliwości, powierzchnie właściwe korzeni żyta i pszenicy zmniejszyły się. Podobne tendencje odnotowano w korzeniach tych roślin inkubowanych w stężeniach miedzi rzędu 20 i 50 mg dm<sup>-3</sup> pożywki. Tendencje wzrostu powierzchni właściwej w korzeniach roślin jednoliściennych odnotowano dopiero przy ekstremalnych stężeniach miedzi i glinu. Różnice w zmianach powierzchni właściwych korzeni stresowanych wyznaczanych azotem były mniejsze niż powierzchni wyznaczanych parą wodną. Wynika to z różnych właściwości adsorbentu polarnego (bardziej zależnego od zmian chemicznych tkanki korzeniowej) i niepolarnego determinowanego przede wszystkim geometrią badanego adsorbentu. Wpływ na różnice pomiędzy wielkościami powierzchni swobodnej i pozornej miała również wielkość powierzchni siadania cząsteczki molekuly adsorbentu. Większe molekuly azotu nie wykrywały prawdopodobnie mikropęknięć, które mogły powstawać w korzeniach pod wpływem stresorów.

Rezultaty przeprowadzonych badań zmian charakterystyk powierzchniowych potwierdziły doniesienia literaturowe, mówiące o tym, że rośliny charakteryzujące się mniejszą pojemnością jonowymienną są bardziej odporne na obecność w podłożu fitotoksycznych ilości metali ciężkich i jonów glinu (Ślaski 1992, 1994, Jan 1993).

Korzenie badanych roślin dwuliściennych posiadały większą całkowitą pojemność kationowymienną (*CEC*) oraz większy całkowity ładunek powierzchniowy w porównaniu z korzeniami roślin jednoliściennych, jednak tylko korzenie koniczyny istotnie różniły się tymi wielkościami od korzeni pozostałych badanych roślin. Obecność stresorów wyraźnie wpłynęła na zmniejszenie się zarówno całkowitej pojemności kationowymiennej jak i całkowitego ładunku powierzchniowego korzeni wszystkich badanych roślin. Względne zmiany *CEC* i ładunku powierzchniowego pod wpływem jonów glinu i dodatkowej aplikacji jonów miedzi w pożywce zilustrowano na rysunku 31. Większym spadkiem *CEC* i ładunku powierzchniowego pod wpływem stresorów charakteryzowały się korzenie koniczyny najmniejszym korzenie żyta. Na obniżenie ładunku powierzchniowego pod wpływem glinu i miedzi wpłynęło wiązanie jonów tych metali z grupami karboksylowymi pektyn ściany komórkowej. Grupy te z kolei w największym stopniu decydują o ujemnym ładunku korzeni a więc odpowiadają za wielkość *CEC*. O blokowaniu przez jony glinu i miedzi grup karboksylowych obecnych w korzeniu świadczy również zmniejszenie się liczby silnie kwaśnych grup powierzchniowych w korzeniach stresowanych a więc przede wszystkim grup karboksylowych pektyn ściany komórkowej. Z kolei zaobserwowany wzrost frakcji słabo kwaśnych grup powierzchniowych (generujących najmniej ładunku powierzch-

niowego) mógł być związany z produkowaniem przez korzenie stresowane związków o charakterze słabo kwaśnym i /lub ekspozycji nowych powierzchni o słabiej kwaśnym charakterze w wyniku destrukcji ścian komórkowych.

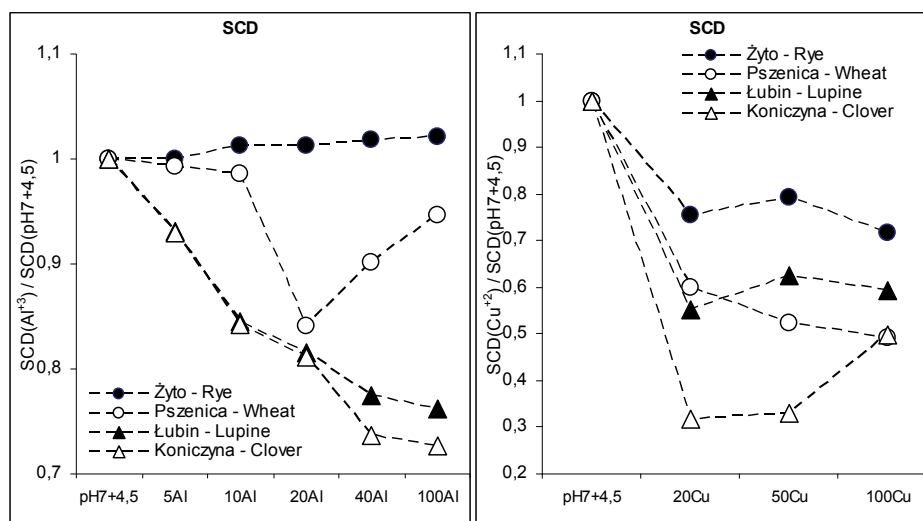


**Rys. 31.** Stosunek CEC i całkowitego ładunku powierzchniowego ( $Q_v$ ) korzeni stresowanych do korzeni kontrolnych

**Fig. 31.** Ratio of the CEC and total surface charge ( $Q_v$ ) of stressed roots to those of control roots

Letalne stężenia stresorów mogły także ograniczyć lub wręcz spowodować całkowitą utratę homeostazy komórkowej w wyniku tego ustały reakcje fizjologiczne i metaboliczne korzeni a więc również zmieniły się ich właściwości jonowymienne.

Zmiany wielkości powierzchni właściwej i ładunku powierzchniowego w warunkach stresu wpłynęły w końcowym efekcie na spadek gęstości ładunku powierzchniowego badanych korzeni, co zilustrowano na rysunku 32.



**Rys. 32.** Stosunek gęstości ładunku powierzchniowego (SCD) korzeni stresowanych do korzeni kontrolnych

**Fig. 32.** Ratio of the surface charge density (SCD) of stressed roots to that of control roots

W obecności jonów glinu korzenie roślin dwuliściennych zareagowały większym spadkiem gęstości ładunku powierzchniowego (SCD) niż korzenie roślin jednoliściennych, natomiast przy dodatkowej aplikacji miedzi w pożywce największy spadek gęstości ładunku powierzchniowego wystąpił dla korzeni koniczyny i pszenicy.

Stosowane w doświadczeniu czynniki stresowe wyraźnie wpłynęły na zmianę właściwości powierzchniowych korzeni roślin. Tendencje tych zmian były jednak różne i zależały od rodzaju stosowanego stresora (glinu lub miedzi), a także od jego nasilenia. Niewątpliwie duże znaczenia miała także tolerancyjność badanych roślin na te czynniki. W warunkach stosowanych w doświadczeniu o odporności badanych roślin decydowała raczej ich genetycznie uwarunkowana tolerancyjność. Zaobserwowane zmiany powierzchniowe i jonowymienne dla korzeni stresowanych miedzią były znacznie bardziej intensywne i jednoznaczne niż w przy-

padku jonów glinu. Być może badane rośliny nie były dostatecznie wyposażone w mechanizmy tolerancji na wysokie stężenia jonów miedzi. Z drugiej jednak strony przebadano i udokumentowano fakt, występowania ko-tolerancji zarówno na metale ciężkie i glin jak i na inne stresory co oznacza, że te same mechanizmy tolerancji mogą być uruchamiane przez roślinę w warunkach stresu glinowego, oksydacyjnego czy związanego z wysokimi stężeniami metali ciężkich (Siedlecka i in. 2001, Kochian 2001, Cuypers i in. 2002, Schutzenhubel i Pollet 2002). Możliwe jest również, że stosowane w doświadczeniu stężenia miedzi uniemożliwiły włączenie się mechanizmów obronnych zanim nastąpiło całkowite załamanie się integralności komórek korzenia.

Oprócz zmian składu mineralnego i ogólnego pogorszenia się rozwoju roślin, zmiany biometryczne i powierzchniowe były praktycznie niezauważalne dla roślin rosnących w pożywce o  $\text{pH} = 4,5$ . Wynika z tego, że podstawowym fizykochemicznym mechanizmem wymierania roślin na glebach o niskim  $\text{pH}$ , jest toksyczność glinu oraz niedobór pokarmowych składników mineralnych, związany ze spadkiem pojemności kationowymiennej korzeni (Graham i Barker 1991).

Zmiany badanych wielkości powierzchniowych pod wpływem stosowanych w doświadczeniu stężeń glinu i miedzi nie wykazały zdecydowanego podziału na grupę roślin jedno i dwuliściennych. W zasadzie tylko zmiany powierzchni właściwej (pozornej i swobodnej) korzeni wyraźnie dzieliły badane rośliny na te dwie grupy. Tendencje zmian średniego promienia mikroporów czy całkowitej ich objętości determinowane były rodzajem, a w przypadku glinu i nasileniem stresora. Zmiany wielkości *CEC* i ładunku powierzchniowego, które uległy wyraźnemu obniżeniu w korzeniach stresowanych, były zdecydowanie większe dla korzeni koniczyny i pszenicy. Z kolei tendencje zmian gęstości ładunku powierzchniowego (*SCD*) dla obu grup badanych roślin, zależały również od rodzaju stresora. Zatem to raczej indywidualne cechy badanych gatunków a być może ich odmian a nie przynależność do danej grupy, decydowały o intensywności i tendencjach zmian ich właściwości fizykochemicznych pod wpływem czynników stresowych. Dokładne potwierdzenie tego stwierdzenia wymagałoby jednak nagromadzenia większej liczby danych, pozwalających na zastosowanie bardziej rzetelnych narzędzi analizy statystycznej niż Test-t stosowany w niniejszych badaniach.

Aby bardziej precyzyjnie móc określić, które z czynników fizjologicznych w warunkach stresu wpłynęły na zmianę właściwości fizykochemicznych korzeni, należałoby jednocześnie zbadać przynajmniej niektóre reakcje biochemiczne korzeni stresowanych. Celowym byłoby również przeprowadzenie podobnych badań fizykochemicznych na samej ścianie komórkowej, której zmiany pod wpły-

wem stresorów prawdopodobnie w największym stopniu determinowały zmianę właściwości powierzchniowych badanych korzeni.

Zastosowanie metod adsorpcyjnych i potencjometrii charakteryzujących przede wszystkim takie wielkości fizykochemiczne korzeni jak powierzchnia właściwa, *CEC*, funkcja rozkładu stałych dysocjacji (charakteryzująca powierzchniowe grupy funkcyjne o różnej mocy kwasowej, a więc generujące różny ładunek powierzchniowy) czy też mikroporowatość tkanki korzeniowej, mogłyby być przydatne w fizjologii roślin. Charakterystyki te mogłyby posłużyć do lepszego opisu procesów pobierania oraz transportu (szczególnie etapu biernego pobierania i tzw. transportu bliskiego) jonów i cząsteczek wody przez korzenie roślin, a także do opisu zmian tych procesów pod wpływem czynników stresowych.

Wielkości *CEC* czy ładunku powierzchniowego korzeni mogłyby również posłużyć jako dodatkowe parametry przy doborze roślin wykorzystywanych w posiewach mieszanych. Rośliny jedno i dwuliścienne charakteryzują się zróżnicowaną pojemnością kationowymienną (*CEC*) i całkowitym ładunkiem powierzchniowym, w wyniku czego różne jest pobieranie przez korzenie tych roślin kationów jedno i wielowartościowych, dlatego w posiewach mieszanych ważny jest odpowiedni dobór roślin tak aby się wzajemnie nie eliminowały.

Rezultaty przeprowadzonych badań potwierdziły przyjętą na wstępie hipotezę, że zmiany anatomiczne morfologiczne i fizjologiczne korzeni związane z obecnością stresorów będą również wpływały na zmiany ich właściwości powierzchniowych.

Wpływ fitotoksycznych stężeń metali ciężkich i glinu na właściwości powierzchniowe korzeni jest stosunkowo mało poznany. Niniejsza rozprawa jest kontynuacją badań, wynikających z zainteresowania autorki problemami fizykochemii roślin. Podstawą rozprawy były dotychczas niepublikowane wyniki badań wpływu stresu glinowego i miedziowego na wielkość powierzchni właściwej, energetykę adsorpcji pary wodnej i azotu, wielkość zmiennego ładunku powierzchniowego, pojemność kationowymienną, rozkład powierzchniowych stałych dysocjacji oraz geometrię powierzchni mikroporów w korzeniach wybranych roślin jedno i dwuliściennych.

Autorka ma nadzieję, że przedstawione w niniejszej pracy wyniki badań choć w pewnym stopniu przyczynią się do poszerzenia wiedzy w zakresie tematyki reakcji roślin na stres, chociaż w trakcie przeprowadzonych badań wciąż pojawiały się coraz to nowe problemy warte rozwiązania, pokazujące, że do osiągnięcia pełnej wiedzy jest jeszcze daleko.

## 8. WNIOSKI

1. Właściwości powierzchniowe korzeni uległy wyraźnym zmianom w obecności stosowanych w doświadczeniu stresorów, natomiast praktycznie nie zmieniły się pod wpływem samych jonów wodorowych.

2. Tendencje zmian właściwości powierzchniowych zależały od rodzaju czynnika stresowego (glinu lub miedzi) i jego natężenia oraz od indywidualnej odporności na stres badanych roślin.

- Powierzchnia właściwa (pozorna i swobodna) korzeni koniczyny i łubinu (rośliny dwuliścienne) zwiększyła się w całym zakresie stosowanych stężeń obu badanych stresorów. Powierzchnia właściwa korzeni pszenicy i żyta (rośliny jednoliścienne) zwiększyła się w korzeniach rosnących w subletalnych i letalnych stężeniach stresorów, a przy niższych stężeniach glinu i miedzi zmniejszyła się.
- Wielkości *CEC* i ładunku powierzchniowego zmniejszyły się wyraźnie w korzeniach stresowanych. Największe zmiany wystąpiły dla korzeni koniczyny i pszenicy.
- W obecności jonów glinu korzenie koniczyny i łubinu zareagowały większym zmniejszeniem się gęstości ładunku powierzchniowego (*SCD*) niż korzenie pszenicy i żyta, natomiast dodatkowa aplikacja miedzi w pożywce wpłynęła na większy spadek gęstości ładunku powierzchniowego korzeni koniczyny (roślina dwuliścienna) i pszenicy (roślina jednoliścienna), a najmniejsze zmiany odnotowano w korzeniach żyta (roślina jednoliścienna).
- Pod wpływem stresu glinowego i miedziowego całkowita objętość mikroporów zmniejszyła się, przy czym zmiany mikroporowatości były większe w korzeniach badanych roślin dwuliściennych. Stres glinowy spowodował szczególnie istotne zmiany w korzeniach łubinu, a dodatkowa aplikacja miedzi w pożywce wpłynęła na większe zmiany mikroporowatości w korzeniach koniczyny.

3. Fitotoksyczne stężenia jonów miedzi (mikroelementu) wpłynęły bardziej wyraźnie i jednoznacznie na zmiany właściwości powierzchniowych korzeni badanych roślin niż jony glinu (pierwiastka balastowego) co oznacza, że badane rośliny wyposażone były w adaptacyjne mechanizmy tolerancji na glin, a nie posiadały wystarczających mechanizmów tolerancji na wysokie stężenia jonów miedzi.

## PIŚMIENNICTWO

- Abratowska A., 2006. *Armeria Maritima* – Gatunek roślin przystosowany do wzrostu na glebach skażonych metalami ciężkimi. *Kosmos*, T 55 ( 2-3), 217-227.
- Alam S.M., 1981. Influence of aluminum on plant growth and mineral nutrition of barley. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 12, 121-138.
- Alcantara E., Ginhans A.M., Ojeda M.A., Benitez M.J., Benlloch M., 2001. Metal accumulation by different plant species grown in contaminated media. W Horst W.J. (Eds) *Plant nutrition – Food security and sustainability of agroecosystems*, 460-461.
- Alva A.K., Edwards D.G., 1990. Response of lupin cultivars to concentration of calcium and activity of aluminium in dilute nutrient solutions. *J. Plant Nutr.*, 13, 57-76.
- Alva A.K., Blamey F.P.C., Edwards D.G., Asher C.J., 1986. An evaluation of aluminum indices to predict aluminum toxicity to plants grown in nutrient solutions. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 17, 1271-1280
- Amory D.E., Dufey J.E., 1984. Adsorption and exchange of Ca, Mg and K-ions on the root cell walls of clover and rye-grass. *Plant and Soil.*, 80, 181-190.
- Andersen W.A., Odegard S., Vogt R.D., Seip H.M., 1994. Background levels of heavy metals on Polish forest soils. *Ecol. Eng.*, 3, 245-253.
- Anioł A., Hill R., Larier E.N., 1980. Aluminum tolerance of spring rye inbred lines. *Crop Sci.*, 20, 205-208.
- Anioł A., 1983. Aluminium uptake by roots of two winter wheat varieties of different tolerance to aluminium. *Biochem. Physiol. Pflanzen.*, 178, 11-20.
- Anioł A., 1985a. Tolerancjność zbóż na toksyczne działanie jonów glinu. *Biul. IHAR*, 156, 185-194.
- Anioł A., 1985b. Breeding of Tricitale for aluminum tolerance. *Eucurapia Meeting*, Clermont-Ferrand, France, 2-5 July 1984. *INRA*, Paris, 573-582.
- Anioł A., 1989. Podstawy hodowli zbóż tolerancyjnych na niskie pH gleby. *Biul. IHAR*, 171/173, 216-221.
- Anioł A., 1990. Genetics of tolerance to aluminum in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant and Soil*, 123, 223-227.
- Anioł A., 1992. Stosowanie fizjologicznych kryteriów w hodowli roślin. *Biul. IHAR*, 183, 3-10.
- Anioł A., 1995. Physiological aspects of aluminium tolerance associated with long arm of chromosome 2D of the wheat (*Triticum aestivum* L.) genome. *Theor. Appl. Genet.*, 91, 510-516.
- Anioł A., Kączkowski J., 1979. Wheat tolerance to low pH and aluminium: comparative aspects. *Cereal Res. Comm.*, 7, 113-122.
- Anioł A, Madej L., 1996. Genetic variation for aluminium tolerance in rye. *Pflanzenz*, 35, 201-211.
- Ansari S.A., Pramond Kumar, Gupta B.N., 1995. Root surface area measurements based on adsorption and desorption of nitrite. *Plant and Soil*, 171, 133-137.
- Antosiewicz D.M., 1992. Adaptation of plants to environment polluted with heavy metals. *Acta Soc. Bot. Pol.*, 61, 281-289.
- Arazi T., Kaplan B., Sunkar R., Fromm H., 2000. Cyclic-nucleotide and Ca<sup>2+</sup>/ calmodulin- regulated channel in plants: targets for manipulating heavy metal tolerance and possible physiological roles. *Biochem. Soc. Trans.*, 28, 471-475.
- Arnon D.I., Johnson C.M., 1942. Influence of hydrogen ion concentration on the growth of higher plants under controlled conditions. *Plant Physiol.*, 17, 525-539.

- Badora A., Filipek T., 1994a. Reakcja zbóż na silne zakwaszenie gleb. Cz.II. Wpływ silnego zakwaszenia gleb na skład mineralny pszenicy w fazie kłoszenia. *Roczniki Gleboznawcze*, XLV, 77-87.
- Badora A., Filipek T., 1994b. Reakcja zbóż na silne zakwaszenie gleb. Cz.III. Wpływ silnego zakwaszenia gleb na skład mineralny jęczmienia w fazie kłoszenia. *Roczniki Gleboznawcze*, XLV, 85-90.
- Baker A.J., Walker P.L., 1990. Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. [W:] Heavy metal tolerance in plants: evolutionary aspects. Shaw J. (red). CRC Press, Inc., Boca Raton. Florida, 155-177.
- Baranowska-Morek A., 2003. Roślinne mechanizmy tolerancji na toksyczne działanie metali ciężkich. *Kosmos*, T.52, 2-3, 283-298.
- Bartlett R.J., Riego D.C., 1972. Toxicity of hydroxy-aluminium in relation to pH and phosphorus. *Soil Sci.*, 114 194-201.
- Blake L., Johnson A.E., Goulding K.W.T., 1994. Mobilization of aluminium in soil by acid deposition and its uptake by grass cut fir hay-a Chemical Time Bomb. *Soil Use and Management*, 10, 51-55.
- Bertsch P.M., 1989. Aqueous polynuclear aluminium species. w: G. Sposito (Ed.) *The Environmental Chemistry of Aluminum*. CRC Press, Boca Raton, Fl. USA, 87-115.
- Bertsch P.M., Parker D.R., 1996. Aqueous polynuclear aluminium species. W: *The environmental chemistry of aluminium*. Red., Sposito G., CRC Lewis Publ. Boca Raton, Fl. 117-168.
- Blum A., 1988. *Plant breeding for stress environments*. CRC Press. Inc. Boca Raton. Floryda
- Bohm W., 1979. *Method of studying root system*. Springer Verlag. Berlin.
- Boguszewski W., 1980. *Wapnowanie gleb*. PWRiL.
- Bouldin D.R., 1961. Mathematical description of the diffusion processes in the soil-plant system. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 25, 476-479.
- Brown D.A., 1955. Ion exchange in soil-plant root environments. II. The effect of type of clay mineral upon nutrient uptake by plants. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 19, 296-300.
- Buchanan B.B, Grissem W., Jones R., L., 2000. *Biochemistry. Molecular biology of plants*. American society of plant physiologists. Rockville, Maryland.
- Buffle J., Altmann R.S., Filella M., 1990. Effect of physico-chemical heterogeneity of natural complexants. Part II. Buffering action and role of their background sites. *Analitica Chimica Acta* 232, 225-237.
- Carley H.E., Watson R.D., 1966. A new gravimetric method for estimating root-surface areas. *Soil Sci.*, 102, 289-291.
- Carpita N, Sabulase D, Montezinos D, Delmer D.P., 1976. Determination of the pore size of cell walls of living plant cells. *Science*, 205, 144-147.
- Chiou C.T., Lee J.F. and Boyd S.A., 1990. The surface area of organic matter. *Environ. Sci. Technol.*, 24, 1164-1166.
- Chen Rong Fu, Shen Ren Fang., 2008. Root phosphate exudation and pH shift in the rhizosphere are not responsible for aluminium resistance in rice. *Acta Physiol. Plant.*, 30, 817-824.
- Choma J., Jaroniec M., 2007. Porównanie klasycznych metod wyznaczania funkcji rozkładu objętości porów materiałów krzemionkowych MCM-41 i SBA-15. *Ochrona środowiska*, 2, 3-8.
- Clarkson D.T., 1991. Root structure and sites of ion uptake. In: Weisel Y., Eshel A., Kafkafi U. (eds) *Plant roots the hidden half*. Marcel Dekker Inc NY, 351-373.

- Clemens S., 2001. Molecular mechanism of plant metal homeostasis and tolerance. *Planta*, 212, 475-486.
- Clemens S., Palmgreen MG., Kramer U., 2002. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation. *Trends Plant Sci.*, 7, 309-315.
- Crush J.R., Caradus J.R., 1992. Response to soil aluminium of two white clover (*Trifolium repens* L.) genotypes. *Plant and Soil*, 146, 39-43.
- Cuypers A., Vangroneveld J., Clijsters H., 2002. Peroxidases in roots and primary leaves of *Phaseolus vulgaris*. Copper and zinc phytotoxicity: a comparison. *J. Plant Physiol.*, 159, 869-876.
- Dahmani-Muller H., Van Oort F., Gelie B., Balabane M., 2000. Strategies of heavy metal uptake by three plant species growing near a metal smelter. *Environ. Pollut.*, 109, 231-238.
- Darco E., Ambrus H., Syefanovits-Banyai E., Fodor J., Bakos F. and Barnabas B., 2004. Aluminium toxicity, Al tolerance and oxidative stress in Al-sensitive wheat genotype and Al-tolerance lines developed by in vitro microscope selection. *Plant Sci.*, 166, 583-591.
- Dechnik I., Stawiński J., 1974. Powierzchnia właściwa w badaniach fizykochemicznych i fizycznych właściwości gleb. *Problemy Agrofizyki*, 6, 43.
- Dechnik I., Gliński J., Kaczor A., Kern H., 1990. Rozpoznanie wpływu kwaśnych deszczy na glebę i roślinę. *Problemy Agrofizyki*, 60, 1-70.
- Dechnik I., Labuda S. Filipek T., 1991. Reakcja jęczmienia jarego na zróżnicowaną wilgotność i wysycenie kompleksu sorpcyjnego gleby kationami. *Roczniki Gleboznawcze*, XLI, 95-100.
- De Jonge H., Mittelmeier-Hazeleger M.C., 1996. Adsorption of CO<sub>2</sub> and N<sub>2</sub> on soil organic matter: nature of porosity, surface area and diffusion mechanism. *Environ. Sci. Technol.*, 30, 408-413.
- Dębicki R., Filipek T., Gliński J., Sikora E., 1994. Natural and anthropogenic causes and effects of soil acidification. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 413, 1-334.
- 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.
- Dunham C.W., 1958. Use of methylene blue to evaluate rooting of cuttings. *Proc. Am. Soc. Hortic. Sci.*, 72, 450-453.
- Elgabaly M.M., Wiklander L., 1959. Effect of exchange capacity of clay mineral and acidoid content of plant on uptake of sodium and calcium by excised barley and pea roots. *Soil Sci.*, 67, 419-425.
- Epstein E., Leggett J.E., 1954. The absorption of alkaline earth cations by barley roots. Kinetics and mechanism. *Am. J. Bot.*, 41, 785-791.
- Filipek T., 1990. Kształtowanie się równowagi jonowej w życie w zależności od wysycenia gleb kationami. *Roczniki Gleboznawcze*, XLI, 133-143.
- Filipek T. Badora A., 1993. Reakcja zbóż na silne zakwaszenie gleb. Cz.1. Żyto. *Roczniki Gleboznawcze XLIV*, 47-53.
- Filipek T., 1994. The content of exchangeable aluminium in soils and plant growth. *J. Ecol. Chem.*, 3, 367-375.
- Filipek T. Badora A., 1999. Oddziaływanie nawożenia na kwasowość gleby. *Zesz. Nauk AR w Krakowie*, 64, 81-88.

- Foy C.D., 1988. Plant adaptation to acid, aluminum - toxic soils. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 19, 959-987.
- Ganev S., Arsova A., 1984. To the quantitative theory of cation uptake by plants. *Soil Sci. Agrochem.*, XIX, 21-30.
- Ganev S., Arsova A., 1985. Cation exchange composition in water soluble and exchange adsorbed state in the leaves of various plants. *Bulg. Plant Physiol.*, XI, 3-11.
- Ganev S., Arsova A., 1989. Method for determining of the strongly acid and weakly acid ion exchangers of plant tissues. *Bulg. Plant Physiol.*, XV, 72-79.
- Gliński J., Lipiec J., 1990. Soil physical conditions and plant roots. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
- Gonelli C., Galardi F., Gabbrielli R., 2001. Nickel and copper tolerance and toxicity in three Tuscan population of *Silene paradoxa*. *Physiol. Plant.*, 113, 507-514.
- Gong C., Donahoe R.J., 1997. An experimental study of heavy metal attenuation and mobile tie In sandy loam soils. *Appl. Geochem.*, 12, 243-253.
- Golikov A.P., 1995. Metod razszczioata kislотно-osnovnykh charakteristik sorbienta po riezultatam potencjomietriczieskogo titrowania. *Zhurnal Fiziczeskoj Chimii*, 69, 664-667.
- Graham E.R. Baker W.L., 1991. Ionic saturation of plant roots with special reference to hydrogen. *Soil Sci.*, 72, 435-442.
- Grauer U.E., Horst W.J., 1991: Comments on the calcium-aluminium balance (CAB). *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 55, 897-898.
- Gray B., Drake M., Colby W.G., 1953. Potassium competition in grass-legume associations as a function of root cation exchange capacity. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 17, 235-239.
- Gustafson J.P., Ross E., 1990. Control of alien gene expression for aluminium tolerance in wheat. *Genome*, 13, 8-12.
- Hartwell B.L., Pember F.R., 1918. The presence of aluminum as reason for the difference in the effect of so-called acid soil on barley and rye. *Soil Sci.*, 6, 259-281.
- Haug W.J., Caldwell C.R., 1985. Aluminum toxicity in plants. The role of the root plasma membrane and calmodulin. w: John J.B. Berlin E. Jackson P.C. (Eds) *Frontiers of membrane research in agriculture*. Sci. Publ. N.Y.
- Heintze S.G., 1964. Studies on cation exchange capacities of roots. *Plant and Soil*, 4, 365- 383.
- Hede A.R., Skovmand B., Lopez-Cesati J., 2001. Acid soils and aluminium Toxicity. (eds) Reynolds M.P, Ortiz-Monasterio J.I., McNab A. *Application of Physiology in wheat Breeding*. Mexico, D.F. CIMMUT, 172-181.
- Helmy A.K., Elgabaly M.M., 1958. Exchange capacity of plant roots. I. Factors affecting the titration value. *Plant and Soil*, 1, 78-100.
- Horst W.J., Wagner A., Marschner H., 1983. Effect of aluminum on root growth, cell-division rate and mineral element contents in roots of *Vigna Unguiculata* genotypes. *Z. Pflanzenphysiol.*, 109, 95-103.
- Horst W.J., Asher C.J., Cakmak J., Szulkiewicz P., Wissenmeier A.H., 1991. Short-term responses of soybean root to aluminum. w: Wright R.J., Baligar V.C., Murrann R.P. (Eds) *Plant-Soil Interactions at low pH*. Kluwer Academic Publ., Dordrecht.
- Hrebelska N., Szatanik-Kloc A., Sokołowska Z., 2008. Wpływ jonów kadmu na pozorną powierzchnię właściwą korzeni jęczmienia (*Hordeum Vulgare* L. ). *Acta Agrophysica*, 12(2), 337-347.

- Huffaker R.C., Wallace A., 1958. Possible relationships of cation-exchange capacity of plant roots to cation uptake. *Soil Sci Soc. Am. Proc.*, 22, 392-394.
- Jan F., 1991. Aluminium effects on growth, nutrient uptake and transport in 3 rice cultivars with different sensitivity to aluminium. *Physiol. Plantarum*, 83, 441-448.
- Jan F., 1993. Effects of a pre growth period in Al-free nutrient solution on macronutrient composition of two upland rice cultivars with various Al sensitivity. *Physiol. Plant.*, 88, 123-128.
- Jasińska Z., Kotecki A., 2003. *Szczegółowa uprawa roślin*. Wrocław, t. II.
- Jaroniec M., Brauer P., 1986. Recent progress in determination of energetic heterogeneity of solids from adsorption data. *Surface Sci., Reports*, 6, 65-117.
- Jaroniec M., Rudziński W., Sokołowski S., Smarzewski R., 1975. Determination of energy distribution function from observed adsorption isotherms. *J. Colloid and Polymer Science*, 253, 164-166.
- Jędrzejczak R., Ręczajska W., 1996. Miedź i molibden w żywności. W: *Miedź i molibden w środowisku - problemy ekologiczne i metodyczne*. Red. Kabata-Pendias A., Szeke B. PAN Kom. Nauk. Człowiek i Środowisko, Z.N.14, 174-180.
- Józefaciuk G., Sokołowska Z., Sokołowski S., Alekseev A, Alekseeva T., 1993. Changes of mineralogical and surface properties of water dispersible clay after acid treatment of soils. *Clay Minerals*, 28, 145-148.
- Józefaciuk G., Shin J.S., 1996a. Water vapor adsorption on soils: II. Estimation of adsorption energy distributions using local BET and Aranovich isotherms. *Korean J. Soil Sci. and Fertilizer*, 29, 218-225.
- Józefaciuk G., Shin J.S., 1996b. A modified back-titration method to measure soil titration curves minimizing soil acidity and dilution effects. *Korean J. Soil Sci. and Fertilizer*, 29, 321-327.
- Józefaciuk G., Shin J.S., 1996c. Distribution of apparent surface dissociation constants of some Korean soils as determined from back titration curves. *Korean J. Soil Sci. and Fertilizer*, 29, 328-335.
- Józefaciuk G., 1998. Zmiany własności powierzchniowych gleb i minerałów ilastych w procesach zakwaszenia i alkalizacji. *Acta Agrophysica*, 15.
- Józefaciuk G., Szatanik-Kloc A., 2001. Aluminium induced changes in the surface and micropore properties of wheat roots: a study using the water vapour adsorption-desorption technique. *Plant Soil*, 233, 95-108.
- Józefaciuk G., Szatanik-Kloc A., 2002. Kwasowość gleby i jej wpływ na rośliny. *Acta Agrophysica*, 56, Monografia.
- Józefaciuk G., Szatanik-Kloc A., 2003. Changes in specific area and energy of root surface of cereal plants in Al-solution cultures. Water vapor adsorption studies. *Plant Soil*, 250, 129-140.
- Józefaciuk G., Szatanik-Kloc A., 2004. Decrease in variable charge and acidity of root surface under Al treatment as correlated with Al tolerance of cereal plants. *Plant Soil*, 260, 137-145.
- Kabata-Pendias A., Pendias H., 1999. *Biogeochemia pierwiastków śladowych*. Wydawnictwo PWN, Warszawa.
- Kabata-Pendias A., Matowicka-Terelak T., Piotrowska M., 1993. Ocena stopnia zanieczyszczenia gleb i roślin metalami ciężkimi i siarką. *Ramowe wytyczne dla rolnictwa*. IUNG, P (53), Puławy, 20.
- Kacperska A., 2007a. *Gospodarka wodna*. w: Kacperski J., Lewak S. *Fizjologia roślin*. Wydawnictwo Naukowe PAN SA, Warszawa.

- Kacperska A., 2007b. Reakcja roślin na abiotyczne czynniki stresowe. w: Kacperski J., Lewak S. Fizjologia roślin. Wydawnictwo Naukowe PAN SA, Warszawa.
- Keltiens W.G., 1988. Short-term effects of Al on nutrient uptake, H<sup>+</sup> efflux, root respiration and nitrate reductase activity of sorghum genotypes differing Al-susceptibility. *Soil Sci. Plant Anal.*, 19, 1155-1163.
- Keltjens W.G., 1990. Effects of aluminium on growth and nutrient status of Douglas-fir seedlings grown in culture solution. *Tree Physiology*, 6, 165-175.
- Kern H., 1985. Odczyn i zawartość węglanu wapnia w glebach użytków rolnych Polski. Praca habilitacyjna, IUNG Puławy, 1-97.
- Kinraide T.B., 1989. Assessing the phytotoxicity of mononuclear hydroxy-aluminum. *Plant, Cell and Environment*, 12, 479-487.
- Kimura K., Kikuchi S., Yamasaki S., 1999. Accurate root length measurement by image analysis, *Plant and Soil*, 216, 117-127.
- Kimura K., Yamasaki S., 2001. Root length and diameter measurement using NIH Image: application of the line-intercept principle for diameter estimation, *Plant and Soil*, 234, 37-46.
- Kimura K., Yamasaki S., 2003. Accurate root length and diameter measurement using NIH Image: use of Pythagorean distance for diameter estimation, *Plant Soil*, 254, 305-315.
- Kinraide T.B., Parker D.R., 1987. Non-phytotoxicity of the aluminum sulphate ion, AlSO<sub>4</sub><sup>+</sup>. *Physiol. Plant.*, 71, 207-212.
- Kinraide T.B., Parker D.R., 1989. Comments on the calcium-aluminium balance (CAB). *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 53, 1919-1920.
- Kinraide T.B., Ryan P.R., 1991. Cell surface charge may obscure the identity of the rhizotoxic aluminium species. *Current Topics in Plant Biochem. and Physiol.*, 10, 94-106.
- Kinraide T.B., Ryan P.R., Kochian L.V., 1991. Interactive effects of Al<sup>3+</sup>, H<sup>+</sup> and other cations on root elongation considered in terms of cell surface electric potential. *Plant Physiol.*, 99, 1461-1468.
- Klimashevskij E.L., 1990. Gienieticzieskije aspekty mineralnogo pitania rastienii. Nauka. Moskwa.
- Knight A.H., Crooke 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.
- Kochian L.V., 1985. Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plant. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 46, 237-260.
- Kochian L.V., 2001. Aluminium and heavy metal toxicity and resistance - Lessons to be learnt from similarities and differences. w: J Horst. *Plant nutrition- food sustainability of agro-ecosystem*, 442-443.
- Kotowski M., Pawłowski L., Seip H.M., Vodt R.D., 1994. Mobilization of aluminium in soil columns exposed to acid salt solution. *Ecol. Emgon.*, 3, 279-290.
- Kotowski M., Kotowska U., 2000. Uwalnianie i migracja glinu, cynku, miedzi i ołowiu w glebach bielicowych pod wpływem zakwaszenia. *Acta Agrophysica*, 31, Monografia.
- Kruk M., Jaroniec M., 2001. Gas Adsorption characterization of order organic- inorganic nanocomposite materials. *Chem. Mater.*, 13, 3169-3183.
- Langauer-Lewowicka H., 2005. Glin-zagrozenia środowiska. *Med. Środowiska*, 8(1), 59-64.
- Levitt J., 1980. Response of plants to environmental stresses. Academic Press. New York.
- Linberd S., Szynekier K., Greper M., 1991. Aluminium effects on transmembrane potentials in cells on fibrilous root of sugar beet. *Physiol. Plantarum*, 83, 54-62.

- Lipoth S.L., Schoenau J. J., 2007. Cooper, zinc and cadmium accumulation in two prairie soils and crops as influenced by repeated applications of manure. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 170, 378-386.
- Lombini A., Poschenrieder, Llugany M., Dinelli E., Barcelo J., 2001. Copper resistance in *Silene armeria* ecotypes: Does co-tolerance play a role. [Horst W.J. et al.] *Plant nutrition- Food security and sustainability of agro-ecosystems*, 456-467.
- Ma J., Ryan P.R., Delhaize E., 2001. Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids. *Trends Plant. Sci.*, 6, 273-278.
- McLean I.B., 1980. The toxic aluminum reaction in corn and barley roots: An ultrastructural and morphological study. w: *Masters Abstracts. Michigan St. Univ., Ann Arbor. Sci.*
- Maksymiec W., 1997. Effect of copper on cellular processes in higher plants. *Photosynthetica*, 34, 321-342.
- Mantovi P., Bonazzi G., Maestri E., Marmiroli N., 2003. Accumulation of Cooper and zinc from liquid manure in agricultural soils and crop plants. *Plant Soil*, 250, 249-257.
- Manunza B., Gessa C., Deiana S., Rausa R., 1992. A normal distribution model for the titration curves of humic acids. *J. Soil Sci.*, 43, 127-131.
- Marschner H., 1986. *Mineral nutrient of higher plants*. Academic press, London.
- Masłowski J., 1993. Tolerancyność różnych genotypów pszenicy jarej na stresowe działanie jonów glinu. *Zeszyty Naukowe AR Wrocław*, 223, 279-284.
- Matsumoto H., 1988. Inhibition of proton transport activity of microsomal membrane vesicles of barley roots by aluminium. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 34, 499-506.
- Matsumoto H., 1991. Biochemical mechanism of the toxicity of aluminium and sequestration of aluminium in plant cells. In *Plant-Soil Interactions at Low pH*, (Ed. Wright R.J., Baligar V.C., Murrmann R.P. p 825-838, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Matsumoto H., Morimura S., 1980. Repressed template activity of chromatin of pea roots treated by aluminium. *Plant and Cell Physiol.*, 21, 951-959.
- Matsumoto H., Chung G.C., 1988. Repression of asolectin-dependent activation of partially lipid depleted ATPase prepared from the plasma membrane-enriched fraction of cucumber roots due to  $Ca^{+2}$  starvation. *Plant Cell Physiol.*, 25, 1501-1511.
- Matsumoto H, Yamamoto Y., Kasai M., 1992. Changes of some Properties of the plasma membrane-enriched fraction of barley roots related to aluminium stress: Membrane-associated ATPase, aluminium and calcium. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 38 (3), 411-419.
- Matyka-Sarzyńska D., Sokołowska Z., 2005. Właściwości fizykochemiczne utworów murszowych o różnym stopniu wtórnego przeobrażenia. *Acta Agrophysica*, 6, Monografia.
- McBiride M.B., Martinez C.E., 2000. Copper phytotoxicity in a contaminated soil: remediation tests with adsorptive materials. *Environmental Science & Technology*, vol. 34. nr. 20, 4386-4391.
- Meychlik N.R., Yermakov L.P., 2001. Ion exchange properties of plant root cell walls. *Plant Soil*, 234, 182-193.
- Meychlik N.R., Yermakov L.P., Sawwatiewa M.W., 1999. Jonogenne Grupy ściany komórkowej korzeni pszenicy. *Fizjologia Roślin*, T. 46, 5, 742-747 (in Russian).
- Miyasaka S.C., Kochian L.V., Schaff J.E., Foy C.D., 1989. 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.
- Morvan C., Demarty M., Thellier M., 1979. Titration of isolated cell walls of *Lemna minor* L. *Plant Physiol.*, 63, 1117-1122.

- Mossor-Pietraszewska T., 2001. Effect of aluminium on plant growth and metabolism. *Acta Biochemica Polonica*, Vol.48 (3), 673-686.
- Mouat M.C.H., 1983. Competitive adaptation by plants to nutrient shortage through modification of root growth and surface charge. *New Zealand J. Agric. Research.*, 26, 327-332.
- Nasiadek M., Sapota A., 2004. Toksyczne oddziaływanie pyłów i dymów glinu oraz jego związków na drogi oddechowe pracowników. *Med. Pracy*, 55, 495-500.
- 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.
- Nye P.H., Tinker P.B., 1977. *Solute movement in the soil-plant system*. Blackwell. Oxford.
- Okhi K., 1986. Photosynthesis, chlorophyll and transpiration response in aluminum stressed wheat and sorghum. *Crop Science*, 26, 572-575.
- Olivetti G.P., Etherton H., 1991. Aluminium interactions with cora rootplasma membrane. *Plant Physiology*, 91, 1188-1195.
- Olma K., Ohira K. 1983. Characterization of aluminum and manganese tolerant cell lines selected from carrot cell cultures. *Plant Cell Physiol.*, 24, 789-797.
- Olma K., Ohira K., 1985. Reduction of aluminum toxicity by audition of conditioned medium from aluminum-tolerant cells of carrot. *Plant Cell Physiol.*, 26, 281-286.
- Olsen S.R., Kemper W.D., 1968. Movement of nutrients to plant roots. *Adv. Agron.*, 20, 257-261.
- Ościk J., 1983. *Adsorpcja*. PWN Warszawa.
- Pachepsky Ya.A., Polubesova T.A., Hajnos M., Józefaciuk G., Sokołowska Z., 1995. Parameters of surface heterogeneity from laboratory experiments on soil degradation. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 59, 410-417.
- Parker D.R., Bertsch P.M., 1992a. Identification and qualification of the "Al<sub>13</sub>" tridecameric polycation using ferron. *Environ. Sci. Technol.*, 26, 908-914.
- Parker D.R., Bertsch P.M., 1992b. Formation of the "Al<sub>13</sub>" tridecameric polycation under diverse synthesis conditions. *Environ. Sci. Technol.*, 26, 914-921.
- Parker D.R., Kinraide T.B., Zelazny L.W., 1989. On the phytotoxicity of polynuclear hydroxy-aluminium complexes. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 53, 789-796.
- Peller D.M., Papernik L.A., Jones D.L., Darrah P.R., Grunes D.L., Kochian L.V., 1997. Involvement of multiple aluminium exclusion mechanisms in aluminium tolerance in wheat. *Plant and Soil*, 192, 63-68.
- Pettersson S., Strid H., 1989. Initial uptake of aluminum in relation to temperature and phosphorus status of wheat roots. *Journal of Plant Physiology*, 134, 672-677.
- Pellet D.M., Grunes D.L. and Kochian L.V., 1995. Organic acid exudation as an aluminium tolerance mechanism in maize (*Zea mays* L.). *Planta*, 196, 788-795.
- Petersen L.W., Moldrup P., Jacobsen O.H. and Rolston D.E., 1996. Relation between specific surface area and soil physical and chemical properties. *Soil. Sci.*, 161, 9-21.
- Pokojska U., 1994. Nowe poglądy na toksyczność różnych form glinu. *Roczniki Gleboznawcze*, XLV, 109-117
- Polska Norma PN-Z-19010-1, 1997. Jakość gleby. Oznaczenie powierzchni właściwej gleb metodą sorpcji pary wodnej (BET). Polski Komitet Normalizacyjny, Warszawa.
- Poschenrieder C., Llugany M., Bech J., Barcelo J., 2001. Copper uptake and transport patterns in pseudometallophytes from soils with a large range of Cu concentration. w: Horst et. al. Eds. *Plant nutrition- Food security and sustainability of agro-ecosystems*, 458-459.

- Reddy K.J., Wang L., Gloss S.P., 1995. Solubility and mobility of copper, zinc and lead in acidic environments. *Plant Soil*, 171, 53-58.
- Rengel Z., Elliott D.C., 1992. Mechanism of Al inhibition of net <sup>45</sup>Ca uptake by *Amaranthus* protoplasts. *Plant Physiology*, 98, 632-638.
- Rengel Z., Jurkic V., 1992. Genotypic differences in wheat Al tolerance. *Euphytica* 62, 111-127.
- Rees W.J., Sidrak G.M., 1961. Interrelationship of aluminum and manganese toward plants. *Plant and Soil*, 14, 101-107.
- Rinkis G.J., Nollendorf W.F., 1982. Sbalansirovanoje pitanie rastienij makro- i mikroelementami. Wyd. Zinatne Ryga.
- Ritchie R. J., Larkun A.W.D., 1982. Cation exchange properties of the cell walls of *Enteromorpha intestinalis* (L.) Link. (Ulvae, Chlorophyta). *J. Experimental Bot.*, 132, 125-139.
- Robards A.W., 1970. Electron microscopy and plant ultra structure. McGraw-Hill, New York.
- Rouquerol J, Avnir D, Fairbridge CW, Everett DH, Haynes JH, Pernicone N, Ramsay JFD, Sing KSW, Unger KK., 1994. Recommendations for the characterization of porous solids. *Pure Appl Chem.*, 66, 1739-1758,
- Ruszkowska M., Wojcieszka-Wyskupajtyś U., 1996. Mikroelementy- fizjologiczne i ekologiczne aspekty ich niedoboru i nadmiaru. *Z. Probl. Post. Nauk Roln.*, 431, 1-11.
- Salisbury F.B., Ross C.W., 1995. *Physiologie Vegetale*, Zanichelli, 649-673.
- Schat H, Vooijs R., 1997. Multiple tolerance and co-tolerance to heavy metals *Silene vulgaris*: a cosegregation analysis. *New Phytol.*, 136, 489-496.
- Schutzenhubel A., Polle A., 2002. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *J. Exp. Bot.*, 53, 1351-1365.
- Schmohl N., Horst W.J., 2001. Cell-wall composition modulates aluminium toxicity. W: Horst W.J. *et al.* *Plant nutrition – Food security and sustainability of agro-ecosystems*, 262-263.
- Siedlecka A., 1995. Some aspects of interactions between heavy metals and plant mineral nutrients. *Acta Soc. Bot. Pol.*, 64, 365-372.
- 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.
- Siuta J., Kucharska A., 1997. Wieloczynnikowa degradacja ziemi w Polsce. Instytut Ochrony Środowiska. Warszawa.
- Smith R.L., Wallace A., 1954. Preliminary studies of some physiological root characteristics in citrus and avocado. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, 63, 133-145.
- 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.
- Smith R.L., Wallace A., 1957. Influence of nitrogen fertilization, cation concentration, and root cation-exchange capacity on calcium and potassium uptake by plants. *Soil Sci.*, 82, 168- 172.
- Sokołowska Z., 1989. Rola niejednorodności powierzchni w procesach adsorpcji zachodzących na glebach. *Problemy Agrofizyki*, 58.
- Sokołowska Z., 1992. On the role of energetic and geometric heterogeneity in desorption of water vapour by soils: Application of the fractal approach. *Geoderma*, 52, 59-72.
- Sokołowska Z., Hajnos M., Borówko M. Sokołowski S., 1999. Adsorption of Nitrogen on Thermally Treated Peat Soils: The Role of Energetic and Geometric Heterogeneity. *Journal of Colloid and Interface Science*, 219 1-10.

- Sokołowska Z., Matyka-Sarzyńska D., 2002. Metodyczne aspekty wyznaczania powierzchni właściwej utworów murszowych metodą adsorpcji-desorpcji pary wodnej. *Acta Agrophysica*, 68, 205-214.
- Sokołowska Z., Matyka-Sarzyńska D., Bowanko G., 2004. Specific surface area of Lublin Polesie mucks determined from water vapor and nitrogen adsorption data. *Int. Agrophysics*, vol. 18, No. 4, 363-369.
- Soldatov W.S., 1996. Rzeźbiot kriwych potencjometriczeskiego titrowania jonitow. *Zhurnal Fizichieskoy Chimii*, 70, 154-158.
- Starck Z., 2007a. Gospodarka mineralna roślin. w: Kacperski J., Lewak S. *Fizjologia roślin*. Wydawnictwo Naukowe PAN SA, Warszawa.
- Starck Z., 2007b. Pobieranie i dystrybucja jonów. w: Kacperski J., Lewak S. *Fizjologia roślin*. Wydawnictwo Naukowe PAN SA, Warszawa.
- Starska, 1993. Glin w żywności. *Roczn. PZH*, 44, 55-63.
- Szatanik-Kloc A., 1999. Wpływ stresu glinowego na wzrost oraz anatomiczne i morfologiczne cechy korzeni wybranych zbóż. *Acta Agrophysica*, 23, 167-175.
- Szatanik-Kloc A., 2000a. Wpływ pH i  $Al^{3+}$  na zawartość składników mineralnych oraz wzrost i rozwój pszenicy jarej. *Acta Agrophysica*, 38, 229-236.
- Szatanik-Kloc A., 2000b. Wpływ pH i stresu glinowego na właściwości fizykochemiczne powierzchni korzeni roślin zbożowych. Praca doktorska, IA PAN w Lublinie.
- Szatanik-Kloc A., 2001. Wpływ pH na zawartość manganu w roślinach pochodzących z siedlisk naturalnych i uprawianych w kulturach wodnych. *Acta Agrophysica*, 57, 139-146.
- Szatanik-Kloc A., 2003a. Zastosowanie metody adsorpcji-desorpcji pary wodnej do badań powierzchni korzeni. *Acta Agrophysica*, 84, 153-158.
- Szatanik-Kloc A., 2003b. Zawartość miedzi i cynku w glebach i roślinach *Taraxacum officinale* L. *Acta Agrophysica*, 84, 159-166.
- Szatanik-Kloc A., 2006a. Właściwości powierzchniowe korzeni wybranych roślin jedno i dwuliściennych; oznaczane metodą adsorpcji-desorpcji pary wodnej i azotu. *Acta Agrophysica*, 7(4), 1015-1027.
- Szatanik-Kloc A., 2006b. Zmiany mikroporowatości korzeni jęczmienia pod wpływem stresu glinowego. *Acta Agrophysica*, 8(1), 239-249.
- Szatanik-Kloc A. Bowanko G., 2005. Wpływ stresu glinowego na geometryczny i energetyczny charakter korzeni roślin, badany metodą adsorpcji azotu. *Acta Agrophysica*, 6(2), 561-568.
- Szatanik-Kloc A., Bowanko G., 2007. Effect of pH and zinc on surface area of rye (*Secale Cereale* L.) roots as determined from nitrogen adsorption-desorption data. *Acta Agrophysica*, 10(3), 705-714.
- Szatanik-Kloc A., Józefaciuk G., 1997. Effect of pH and aluminium on surface properties of barley roots as determined from water vapour adsorption. *Acta Physiol. Plantarum*, 19, 327-332.
- Szatanik-Kloc A. and Józefaciuk G., 2005. Effect of aluminium on micropore system of plant roots. Spatial distribution of some physical properties in relation to soil compaction. Monitoring and modeling the properties of soil as porous medium. Institute of Agrophysics PAS, Lublin 2005 ISBN83-87385-95-6, 196-203.
- Szatanik-Kloc A., Józefaciuk G., 2007. Changes in micropore system of roots of wheat and triticale seedlings under aluminium stress as determined using water vapor adsorption-desorption. *Acta Phys. Plantarum* Volume, 29(5), 425-430.

- Szatanik-Kloc A., Sokołowska Z., Hrebela N., 2007a. Wpływ pH w warunkach stresu kadmowego na ładunek powierzchniowy korzeni jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.), *Acta Agrophysica* 10(2), 473-482.
- Szatanik-Kloc A., Sokołowska Z., Hrebela N., 2007b. Effect of Pb-stress on selected physicochemical surface properties of barley (*Hordeum vulgare* L.) roots. *Int. Agrophysics*, 21(4), 399-405.
- Szatanik-Kloc A., Boguta P., Bowanko G., 2009. Effect of Aluminium ions on free surface area and energetic characteristics of barley and clover roots. *Int. Agrophysics*, 23(4), 383-389.
- Szatanik-Kloc A., Warchulska P., Józefaciuk G., 2009. Changes In variable charge and acidity of rye (*Secale cereale* L.) roots surface under Zn-stress. *Acta Physiol. Plant.*, 31, 59-64.
- Szatanik-Kloc A., Józefaciuk G., Masłowski J., Muranyi A., Farkas C., 2001. Changes in the surface properties of the young sieve roots after 24 h. aluminum stress. *Int. Agrophysics*, 15(3), 201-207.
- Szwejkowska A. Szwejkowski J., 2000. *Botanika*. Wydawnictwo Naukowe PAN, Warszawa, t. I.
- Szwejkowska A., 2000. *Fizjologia roślin*. Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań.
- Szymańska M., Molas J., 1996. The effect of aluminium on the root growth. *Mat. Konf. Uprawienie Produkcjonny Processom Rastienij w Regulirujemych Usłowiach*, St. Petersburg, 103-104.
- Ślaski J., 1989. Effect of aluminum on calmodulin-dependent and calmodulin-independent NAD kinase activity in wheat (*Triticum aestivum* L.) root tips. *J. Plant Physiol.*, 133, 696-701.
- Ślaski J., 1990. Response of calmodulin-dependent and calmodulin-independent NAD kinase to aluminium in root tips from various cultivated plants. *J. Plant Physiol.*, 136, 40-44.
- Ślaski J., 1992. Mechanizmy tolerancyności na toksyczne działanie jonów glinu u roślin wyższych. *Wiad. Botaniczne*, 36, 31-35.
- Ślaski J., 1994. Differences in the metabolic response of root tips of wheat and rye to aluminium stress. *Plant Soil*, 167, 165-171.
- Taylor G.J., 1988a. The physiology of aluminum phytotoxicity. w: Siegel H., Siegel A. (Eds) *Metal Ions in Biological Systems*. Marcel Dekker Inc. New York, Basel.
- Taylor G.J., 1988b. The physiology of aluminum tolerance in higher plants. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 19, 1179-1194.
- Taylor G.J., 1998. Exclusion of metals from the symplast a possible mechanism of metal tolerance in higher plants. *J. Plant Nutr.*, 10, 1213-1227.
- Tretyn A., 2001. Błona komórkowa. w: Woźny A., Michejda J., Ratajczyk L. (red.), *Podstawy biologii komórki roślinnej*. Wydawnictwo Naukowe. Poznań.
- Tretyn A., 2007. Podstawy strukturalno-funkcjonalne komórki roślinnej. w: Kacperski J., Lewak S. (red) *Fizjologia roślin*. Wydawnictwo Naukowe PAN SA, Warszawa.
- Tukiendorf A., 1993. Fitochelaty- roślinne peptydy wiążące metale ciężkie. *Post. Biochemii*, 39, 60-67.
- Qian P., Schoenau J.J., Wu T., Mooleki S.P., 2003. Copper and zinc amounts and distribution in soil as influenced by application of animal manure in E-central Saskatchewan. *Can. J. Soil Sci.*, 83, 107-202.
- Ulrich B., 1990. An ecosystem approach to soil acidification. w: Ulrich B., Sumner M.E. (Eds) *Soil Acidity*, Springer-Verlag.
- Wagatsuma T., 1983. Characterization of absorption sites for aluminum in the roots. *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 29, 499-515 .
- Wagatsuma T., Ezoe Y., 1985. Effect of pH on ionic species of aluminum and on aluminum toxicity under solution culture. *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 31, 547-561.

- Wagatsuma T., Kaneko M., 1987. High toxicity of hydroxyaluminum polymer ions to plant roots. *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 33, 57-67.
- Wagatsuma T., Kaneko M., Hayasaka Y., 1987. Destruction process of plant root cells by aluminum. *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 33, 161-175.
- Wagatsuma T., Ishikawa S., Obata H., Tawaraya K., Katohda S., 1995. Plasma membrane of younger and outer cells is the primary specific site aluminum toxicity in roots. *Plant and Soil* 171, 105-112.
- Weryszko-Chmielewska E., 1993. Anatomical and morphological copper provision indexes in wheat (*Triticum aestivum* L.), *Acta Agrobot.*, 46, 83-97.
- Wierzbicka M., 1995. Oddziaływanie metali ciężkich na rośliny. *Kosmos*, 44, 639-651.
- Wiklander L., Elgabaly M.M., 1956. Relative uptake of adsorbed monovalent and divalent cations by excised barley roots as influenced by the exchange capacity. *Soil Sci.*, 80, 91-93.
- Williams D.E., Coleman N.T., 1950. Cation exchange properties of plant root surfaces. *Plant and Soil*, II, 243-256.
- Woodward R.A., Harper K.T., Tiedemann A.R., 1984. An ecological consideration of the significance of cation-exchange capacity of roots of some Utah range plants. *Plant and Soil*, 78, 169-180.
- Wojtaszek P., 2001. Ściana komórkowa. w: Woźny A., Michejda J., Ratajczyk L (red.), *Podstawy biologii komórki roślinnej*. Wydawnictwo Naukowe, Poznań.
- Wong M.H., Zhang Z.Q., Wong W.C., Lan C.Y., 1998. Trace metal contents (Al, Cu and Zn) of tea: Tea and soil from tea plantations and tea products from different provinces of China. *Environ. Geochem. Health.*, 20, 87-94.
- Wójcik M., 2000. Fitoremediacja-sposób oczyszczania środowiska. *Kosmos*, 49, 135-147.
- Wójcik A., Tukiendorf A., 1995. Strategia unikania stresu w odporności roślin na metale ciężkie. *Wiadomości Botaniczne*, 39 (3/4), 33-40.
- Yapa P.A.L., Kawasaki T., Matsumoto H., 1986. Changes of some membrane-associated enzyme activities and degradation of membrane phospholipids in cucumber roots due to  $Ca^{+2}$  starvation. *Plant Cell Physiol.*, 27, 223-232.
- Van Hoof A.L.M., Wassinen V., Hakvoort H., Ballintijn K., Schat H., Verkleij J., Ernst W., Karenlampi S., Tervachauta A., 2001. Enhanced copper tolerance in *Silene vulgaris* (Moench) Garcke populations from copper mines is associated with increased transcript levels of 2b-type metallothionein gene. *Plant Physiol.*, 126, 1519-1526.
- Van Riemsdijk W.H., Koopal L.K., De Wit J.C.M., 1987. Heterogeneity and electrolyte adsorption: intrinsic and electrostatic effects. *Neth. J. Soil Sci.*, 35, 241-257.
- Veltruppe W., 1983. The in vivo and in vitro effects of  $Ca^{2+}$  and  $Al^{3+}$  upon ATP-ases from barley roots. *J. Plant Nutr.*, 6, 349-361.
- Vierstra R., Haug A., 1978. The effect of  $Al^{+3}$  on the physical properties of membrane lipids in *Thermo plasma acidophilum*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 84, 138-143
- Vilee C.A., 1978. *Biologia*. PWRiL, Warszawa.
- Zurzycki J., Michniewicz M., 1990. *Fizjologia roślin*. PWRiL, Warszawa.

## 9. STRESZCZENIE

W pracy przedstawiono wyniki badań dotyczące wpływu stresu glinowego i miedziowego na wielkość powierzchni właściwej, energetykę adsorpcji pary wodnej i azotu, wielkość zmiennego ładunku powierzchniowego, pojemność kationowymienną, rozkład powierzchniowych stałych dysocjacji oraz geometrię powierzchni mikroporów w korzeniach wybranych roślin jedno i dwuliściennych.

Badania przeprowadzono na korzeniach żyta ozimego i pszenicy ozimej oraz na korzeniach dwóch roślin motylkowych reprezentowanych przez łubin wąskolistny i koniczynę łąkową. Do uprawy roślin wybrano metodę hydroponiczną.

Charakterystyki powierzchni właściwej, energii adsorpcji i mikroporowatości korzeni oraz zmiany tych właściwości pod wpływem stresorów, badano metodami adsorpcji-desorpcji dwóch adsorbatów: pary wodnej i azotu. Do charakterystyk jonowymiennych (*CEC*, ładunku powierzchniowego, rozkładu stałych dysocjacji) wykorzystano metodę miareczkowania potencjometrycznego.

Stwierdzono, że pod wpływem subletalnych i letalnych stężeń glinu i miedzi zwiększyła się powierzchnia właściwa pozorna (wyznaczana parą wodną) oraz powierzchnia właściwa swobodna (wyznaczana azotem). Zdecydowanie bardziej istotny wzrost powierzchni odnotowano dla korzeni roślin dwuliściennych. Wzrostowi powierzchni towarzyszył spadek średniej energii adsorpcji, związany ze zmniejszeniem się ilości wysokoenergetycznych centrów adsorpcyjnych (najprawdopodobniej grup karboksylowych) i zwiększeniem ilości centrów niskoenergetycznych.

Obecność glinu i oraz dodatkowa aplikacja miedzi w pożywce wpłynęły na zmniejszenie się całkowitej pojemności kationowymiennej (*CEC*) i spadek całkowitego ładunku powierzchniowego ( $Q_v$ ) w korzeniach stresowanych. Zmianie tych wielkości pod wpływem stresorów towarzyszył spadek liczby silnie kwaśnych grup powierzchniowych (generujących najwięcej ładunku powierzchniowego) i wzrost liczby grup słabo kwaśnych. Większe zmiany tych wielkości zachodziły w korzeniach koniczyny i pszenicy.

Zmiany powierzchni właściwej i ładunku powierzchniowego korzeni w warunkach stresu wpłynęły na znaczne zmniejszenie się gęstości ładunku powierzchniowego (*SCD*) badanych korzeni. Zmiany tej wielkości były większe dla korzeni roślin dwuliściennych.

Przeprowadzone badania wykazały również wpływ badanych stresorów na zmiany porowatości tkani korzeniowej. Pod wpływem subletalnych i letalnych stężeń glinu, średni promień i całkowita objętość mikroporów zwiększyły się, natomiast miedź dodatkowo dodana do pożywki wpłynęła na zmniejszenie się całkowitej objętości mikroporów.

Tendencje zmian właściwości powierzchniowych korzeni w warunkach stresowych zależały od rodzaju stresora (glinu lub miedzi) od jego nasilenia a także od genetycznie uwarunkowanej odporności badanych roślin na stresory. Największymi zmianami wielkości powierzchniowych charakteryzowały się korzenie koniczyny a najmniejszy wpływ stresorów odnotowano dla korzeni żyta ozimego.

Słowa kluczowe: korzenie, glin, miedź, powierzchnia właściwa, *CEC*, całkowity ładunek powierzchniowy, objętość i promień mikroporów

## 10. SUMMARY

### CHANGES IN SURFACE PROPERTIES OF PLANT ROOTS DETERMINED BY ALUMINIUM AND COPPER PHYTOTOXICITY

This thesis presents the results of the research concerning the influence of aluminium and copper stress on the surface area as well as on the adsorption energy of water vapour and nitrogen, the size of variable surface charge, the cation exchange capacity, the surface distribution of dissociation constants and the geometry of microporosity of roots of selected monocotyledonous and dicotyledonous plants.

The research was carried on the roots of winter rye and winter wheat as well as on the roots of two Fabaceae plants represented by blue lupine and red clover. The hydroponics method was used in the cultivation of the plants.

The characteristics of the surface area, adsorption energy and roots microporosity, together with the changes of these characteristics due to the stress factors, were examined using the methods of adsorption-desorption of two adsorbates which were water vapour and nitrogen. The potentiometric titration was used for ionic-exchangeable characteristics (*CEC*, the surface charge and the distribution of dissociation constants).

It was discovered that the apparent specific surface area (determined by water vapour) and the free specific surface area (determined by nitrogen) increased under the sub-lethal and lethal concentrations of aluminium and copper. What is more, the root surface area of dicotyledonous plants increased much more significantly. The surface area grew while the average adsorption energy declined, which was due to a decrease of the fraction of high energy adsorption and an increase of low energy adsorption.

The presence of aluminium and the additional application of copper in the culture medium caused a decrease of the total cation exchange capacity and the total surface charge in stressed roots. These changes caused by the stress factors were followed by a decrease of the amount of highly acid surface groups (generating

the biggest amount of the surface charge) and an increase of the amount of slightly acid surface groups. More significant changes occurred in the roots of red clover and wheat.

The changes of the surface area and the surface charge of roots under the stress caused a significant decrease of the surface charge density. More notable changes occurred in the roots of dicotyledonous plants.

The research showed also an influence of the mentioned stress factors on the porosity of the root callus. The average radius and the total volume of the micropores increased under the sub-lethal and lethal concentrations of aluminium while the additional application of copper decreased the total volume.

The tendencies of change of root surface features under the stress depended on the stress factor (aluminium or copper) and its intensity, as well as on the genetically determined resistance of the examined plants. The most significant changes of the surface occurred in the roots of red clover while a less notable influence of the stress factors was noticed in the roots of winter rye.

Keywords: roots, aluminium, copper, surface area, *CEC*, total surface charge, micropore volume and radius

Adres autora:

Alicja Szatanik-Kloc  
Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN  
ul. Doświadczalna 4  
20-290 Lublin  
e-mail: a.kloc@ipan.lublin.pl

Adresse of Author:

Alicja Szatanik-Kloc  
Institute of Agrophysics Polish Academy of Sciences  
ul. Doświadczalna 4  
20-290 Lublin  
e-mail: a.kloc@ipan.lublin.pl

W serii *Acta Agrophysica*  
ukazały się następujące pozycje:

- Nr 0: Marek A. Malicki: *Wpływ fizycznych właściwości gleby na elektryczne parametry układu elektrody-gleba w aspekcie pomiaru jej wilgotności i zasolenia*, Lublin 1993.
- Nr 1: Józef Horabik: *Wpływ właściwości mechanicznych ziarna pszenicy na rozkład obciążenia w zbiorniku*, Lublin 1994.
- Nr 2: Jerzy Niewczas: *Ocena uszkodzeń mechanicznych ziarna pszenicy wykrywanych techniką rentgenograficzną*, Lublin 1994.
- Nr 3: Riccardo Paolo Bennicelli: *Wpływ zlokalizowanego stresu tlenowego w glebie na rozwój korzeni i części nadziemnych kukurydzy (modelowe badania rizotronowe)*, Lublin 1994.
- Nr 4: Marek Molenda, Józef Horabik, Marian Grochowicz, Bogusław Szot: *Tarcie ziarna pszenicy*, Lublin 1995.
- Nr 5: Wiktor Pietrzyk: *Electric field influence on grain*, Lublin 1996.
- Nr 6: Jerzy Tys: *Czynniki kształtujące właściwości agrofizyczne rzepaku*, Lublin 1997.
- Nr 7: Henryk Czachor: *Geometria fazy stałej i przestrzeni porów w rolniczych ośrodkach granularnych na przykładzie gleby mineralnej*, Lublin 1997.
- Nr 8: Andrzej L. Marciniak, Andrzej Fijołek, Jerzy Podgórski, Piotr Sieczka: *Wariacyjne metody tworzenia modeli roślinnych*, Lublin 1997.
- Nr 9: Ryszard T. Walczak, Cezary Sławiński, Henryk A. Sobczuk, Jan Gliński: *Aspekt hydrologiczny w modelu EURO-ACCESS (Agroclimatic Change and European Soil Suitability)*, Lublin 1998.
- Nr 10: Praca zbiorowa: *Profesor Bohdan Dobrzański - sesja z okazji 10-tej rocznicy śmierci*, Lublin 1998.
- Nr 11: Henryk A. Sobczuk: *Opis stanu fizycznego gleby jako ośrodka nieuporządkowanego na przykładzie krzywych retencji wody*, Lublin 1998.
- Nr 12: Marek Molenda: *Wpływ struktury złoża nasion na stan naprężenia*, Lublin 1998.
- Nr 13: Bohdan Dobrzański jr: *Mechanizmy powstawania uszkodzeń nasion roślin strączkowych*, Lublin 1998.
- Nr 14: Jarosław Pytka, Krystyna Konstankiewicz: *Metody wyznaczania naprężeń i przemieszczeń w glebie pod obciążeniem*, Lublin 1998.
- Nr 15: Grzegorz Józefaciuk: *Zmiany własności powierzchniowych gleb i minerałów ilastych w procesach zakwaszania i alkalizacji. Badania modelowe*, Lublin 1998.
- Nr 16: Wiktor Pietrzyk, Stanisław Grundas, Marek Horyński, Andrzej Sumorek: *Wykorzystanie pola elektrostatycznego i ozonu do obniżania energochłonności procesu suszenia ziarna zbóż*, Lublin 1998.
- Nr 17: Mieczysław Hajnos: *Energia powierzchniowa i wielkości jej składowych jako parametry określające zwilżalność i stan agregacyjny wybranych minerałów ilastych i gleb*, Lublin 1999.
- Nr 18: Bogusław Szot: *Właściwości agrofizyczne amarantusa (Amaranthus cruentus L.)*, Lublin 1999.

- Nr 19: Marek A. Malicki: *Metodyczne zagadnienia monitoringu statusu wody w wybranych materiałach biologicznych*, Lublin 1999.
- Nr 20: Jan Gliński, Krystyna Konstankiewicz: *Agrofizyka dla środowiska i bezpiecznej produkcji biologicznej*, Lublin 1999.
- Nr 21: Piotr Baranowski, Wojciech Mazurek, Ryszard T. Walczak: *Zastosowanie termografii do badania stresu wodnego roślin i ewapotranspiracji rzeczywistej*, Lublin 1999.
- Nr 22: Zbiór publikacji: *Procesy agrofizyczne: monitorowanie i modelowanie*, Lublin 1999.
- Nr 23: Zbiór publikacji: *Procesy degradacji gleb i metody ich rekultywacji*, Lublin 1999.
- Nr 24: Zbiór publikacji: *Fizyczne właściwości rolniczych ośrodków o strukturze dyskretnej*, Lublin 1999.
- Nr 25: Stefan Szwał, Adam Pukos: *Plowing theory*, Lublin 2000.
- Nr 26: Zbiór publikacji: *Degradation of peat soils and differentiation of habitat conditions of hydrogenic areas*, Lublin 2000.
- Nr 27: Grzegorz Szwed: *Kształtowanie fizycznych i technologicznych cech nasion rzepaku w modelowanych warunkach przechowywania*, Lublin 2000.
- Nr 28: Teresa Włodarczyk: *Emisja i absorpcja  $N_2O$  na tle emisji  $CO_2$  w glebach brunatnych w zróżnicowanych warunkach oksydoredukcyjnych*, Lublin 2000.
- Nr 29: Bogusław Usowicz: *Statystyczno-fizyczne modele przepływu masy i energii w ośrodku porowatym*, Lublin 2000.
- Nr 30: Barbara Witkowska-Walczak: *Wpływ struktury agregatowej gleb mineralnych na ich hydrofizyczne charakterystyki. (Badania modelowe)*, Lublin 2000.
- Nr 31: Marek Kotowski, Urszula Kotowska: *Uwalnianie i migracja glinu, cynku, miedzi i ołowiu w glebach bielicoziemnych pod wpływem zakwaszania*, Lublin 2000.
- Nr 32: Jan Gliński, Witold Stepniowski, Zofia Stepniowska, Janusz Ostrowski, Teresa Włodarczyk, Małgorzata Brzezińska: *Agroekologiczne aspekty warunków tlenowych gleb ornych*, Lublin 2000.
- Nr 33: Janusz Stawiński, Jan Gliński, Janusz Ostrowski, Zofia Stepniowska, Zofia Sokołowska, Grzegorz Bowanko, Grzegorz Józefaciuk, Alicja Księżopolska, Dorota Matyka-Sarzyńska: *Przestrzenna charakterystyka powierzchni właściwej gleb ornych Polski*, Lublin 2000.
- Nr 34: Zbiór publikacji: *Klimat pola uprawnego*, Lublin 2000.
- Nr 35: Zbiór publikacji: *The role of physical and physicochemical properties of soils in functioning of ecosystems*, Lublin 2000.
- Nr 36: Piotr Gliński, Ryszard Dębicki: *Ocena zagrożeń erozyjnych oraz charakterystyka jakości wód przy zastosowaniu symulacji komputerowej*, Lublin 2000.
- Nr 37: Zbiór publikacji: *Fizyczne właściwości wybranych materiałów roślinnych*, Lublin 2000.
- Nr 38: Zbiór publikacji: *Czynniki agrofizyczne środowiska warunkujące wzrost i rozwój roślin*, Lublin 2000.

- Nr 39: Dorota Wójcicka-Migasiuk: *Zastosowanie metody potencjałów węzłowych do analizy i projektowania instalacji słonecznych ciepłej wody*, Lublin 2001.
- Nr 40: Marek Horyński: *Wpływ pola elektrostatycznego na właściwości elektryczne zbóż*, Lublin 2001.
- Nr 41: Andrzej Sumorek: *Wpływ pola elektrycznego na konwekcyjne suszenie ziarna zbóż*, Lublin 2001.
- Nr 42: Wiktor Pietrzyk: *Modele ziarniaków zbóż stosowane w analizie elektrodynamicznej*, Lublin 2001.
- Nr 43: Wiktor Pietrzyk, Stanisław Grundas, Marek Horyński, Andrzej Sumorek, Marek Ścibisz, Stanisław Walusiak: *Uzwojenia bifilarne do odpylania w przemyśle rolno-spożywczym*, Lublin 2001.
- Nr 44: Jerzy Tys, Roman Rybacki: *Rzepak - jakość nasion, procesy zbioru, suszenia, przechowywania*, Lublin 2001.
- Nr 45: Zbiór publikacji: *Właściwości fizyczne niektórych roślin, owoców i warzyw*, Lublin 2001.
- Nr 46: Zbiór publikacji: *Właściwości fizyczne nasion niektórych roślin uprawnych i surowców przemysłu spożywczego*, Lublin 2001.
- Nr 47: Bogusław Michał Kaszewski, Szczepan Mrugała: *Wybrane charakterystyki temperatury powietrza i opadów atmosferycznych na obszarze Lubelszczyzny (1951-1990). Tom II*, Lublin 2001.
- Nr 48: Zbiór publikacji: *Gleboznawstwo w badaniach naukowych i dydaktyce*, Lublin 2001.
- Nr 49: Grażyna Skubisz: *Metody oceny właściwości mechanicznych łądy rzepaku ozimego*, Lublin 2001.
- Nr 50: Zbiór publikacji: *Role of soil in functioning of terrestrial ecosystems*, Lublin 2001.
- Nr 51: Zbiór publikacji: *Role of soil in functioning of anthropogenic and degraded ecosystems*, Lublin 2001.
- Nr 52: Zbiór publikacji: *Human induced soil-plant relations in various ecosystems*, Lublin 2001.
- Nr 53: Zbiór publikacji: *Fizyka wody glebowej*, Lublin 2001.
- Nr 54: Józef Horabik: *Charakterystyka właściwości fizycznych roślinnych materiałów sypkich istotnych w procesach składowania*, Lublin 2001.
- Nr 55: Artur Zdunek, Krystyna Konstankiewicz: *Emisja akustyczna w badaniu procesów pęknięcia tkanek roślinnych*, Lublin 2001.
- Nr 56: Zbiór publikacji: *Gleboznawstwo w badaniach naukowych i dydaktyce. Część II*, Lublin 2001.
- Nr 57: Zbiór publikacji: *Właściwości agrofizyczne środowiska glebowego*, Lublin 2001.
- Nr 58: Zbiór publikacji: *Właściwości agrofizyczne materiałów roślinnych*, Lublin 2001.
- Nr 59: Grzegorz Józefaciuk, Alicja Szatanik-Kloc: *Kwasowość gleby i jej wpływ na rośliny*, Lublin 2002.

- Nr 60: Zbiór publikacji: *Agrofizyka na początku XXI wieku. Część I*, Lublin 2002.
- Nr 61: Antoni Murkowski: *Oddziaływanie czynników stresowych na luminescencję chlorofilu w aparacie fotosyntetycznym roślin uprawnych*, Lublin 2002.
- Nr 62: Zbiór publikacji: *Oddziaływanie pól elektromagnetycznych na materiały rolnicze*, Lublin 2002.
- Nr 63: Zbiór publikacji: *Agrofizyka na początku XXI wieku. Część II*, Lublin 2002.
- Nr 64: Józef Łukaszuk, Józef Horabik: *Wyznaczanie kąta tarcia wewnętrzznego roślinnych materiałów sypkich*, Lublin 2002.
- Nr 65: Jan Gliński, Ryszard Turski: *Ewolucja, zasoby i główne zagrożenia gleb*, Lublin 2002.
- Nr 66: Zbiór publikacji: *Środowisko przyrodnicze Polesia - stan aktualny i zmiany. Część I*, Lublin 2002.
- Nr 67: Zbiór publikacji: *Środowisko przyrodnicze Polesia - stan aktualny i zmiany. Część II*, Lublin 2002.
- Nr 68: Zbiór publikacji: *Środowisko przyrodnicze Polesia - stan aktualny i zmiany. Część III*, Lublin 2002.
- Nr 69: Rafał Rybczyński, Bohdan Dobrzański jr: *Fizyczne aspekty pomiaru jędrności jabłek*, Lublin 2002.
- Nr 70: Zbiór publikacji: *Odpady organiczne a ochrona i produktywność agrocenozy. Część I*, Lublin 2002.
- Nr 71: *Badania naukowe w Katedrze Elektrotechniki Ogólnej*, Lublin 2002.
- Nr 72: Zbiór publikacji: *Zastosowania fizyki w naukach rolniczych. Część I*, Lublin 2002.
- Nr 73: Zbiór publikacji: *Odpady organiczne a ochrona i produktywność agrocenozy. Część II*, Lublin 2002.
- Nr 74: Józef Horabik, Marek Molenda: *Właściwości fizyczne sypkich surowców spożywczych. Zarys katalogu*, Lublin 2002.
- Nr 75: Riccardo Paolo Benicelli: *Indukcja systemu obronnego u pszenicy i pszenżyta w warunkach stresu tlenowego*, Lublin 2002.
- Nr 76: Artur Boguta: *Reakcja dynamiczna nasion na obciążenie udarowe*, Lublin 2002.
- Nr 77: Zbiór publikacji: *Properties of water in foods*, Lublin 2002.
- Nr 78: Zbiór publikacji: *Agrofizyka na początku XXI wieku. Część III*, Lublin 2002.
- Nr 79: Ryszard T. Walczak, Janusz Ostrowski, Barbara Witkowska-Walczak, Cezary Sławiński: *Hydrofizyczne charakterystyki mineralnych gleb ornych Polski*, Lublin 2002.
- Nr 80: Zbiór publikacji: *Advances in plasma chemistry*, Lublin 2002.
- Nr 81: Grzegorz Bowanko, Mieczysław Hajnos: *Wybrane właściwości urbanoziemów. Badania modelowe*, Lublin 2003.
- Nr 82: Zbiór publikacji: *Agrofizyka w badaniach surowców i produktów rolniczych. Część I*, Lublin 2003.

- Nr 83: Zbiór publikacji: *Agrofizyka w badaniach surowców i produktów rolniczych. Część II*, Lublin 2003.
- Nr 84: Zbiór publikacji: *Agrofizyka na początku XXI wieku. Część IV*, Lublin 2003.
- Nr 85: Zbiór publikacji: *Dolistne dokarmianie roślin*, Lublin 2003.
- Nr 86–89: 2003, Vol. 1(1-4).
- Nr 90: Cezary Sławiński: *Wpływ fizycznych parametrów gleby na wartości współczynnika przewodnictwa wodnego (Badania modelowe)*, Lublin 2003.
- Nr 91: Pod redakcją Stanisława Radwana: *Przyrodnicze podstawy ochrony i odnowy ekosystemów wodno-torfowiskowych w obszarze funkcjonalnym Poleskiego Parku Narodowego na tle antropogenicznych przekształceń środowiska przyrodniczego*, Lublin 2003.
- Nr 92: Jarosław Frączek, Janusz Kaczorowski, Zbigniew Ślipek, Józef Horabik, Marek Molenda: *Standaryzacja metod pomiaru właściwości fizyczno-mechanicznych roślinnych materiałów ziarnistych*, Lublin 2003.
- Nr 93: Pod redakcją Ryszarda T. Walczaka i Wandy Woźniak: *Zastosowanie fizyki w naukach rolniczych. Część II*, Lublin 2003.
- Nr 94: Jerzy Niewczas: *Metoda oceny zmian jakości materiałów rolniczych przy zastosowaniu tablic przejścia*, Lublin 2003.
- Nr 95-98: 2003, Vol. 2(1-4).
- Nr 99: Jerzy Tys, Wiesław Piekarski, Izabella Jackowska, Adam Kaczor, Grzegorz Zając, Paweł Starobrat: *Technologiczne i ekonomiczne uwarunkowania produkcji biopaliwa z rzepaku*, Lublin 2003.
- Nr 100: Ryszard T. Walczak, Jan Gliński, Józef Horabik: *Agrofizyka i jej rola w rozwoju nauk rolniczych*, Lublin 2003.
- Nr 101: Marcin Turski, Barbara Witkowska-Walczak: *Fizyczne właściwości gleb pływych wytworzonych z utworów pyłowych różnej genezy*, Lublin 2004.
- Nr 102: Stanisław Grundas: *Charakterystyka właściwości fizycznych ziarniaków w kłosach pszenicy zwyczajnej *Triticum aestivum* L.*, Lublin 204.
- Nr 103: Bogusław Usowicz, Mieczysław Hajnos, Zofia Sokołowska, Grzegorz Józefaciuk, Grzegorz Bowanko, Jan Kossowski: *Przestrzenna zmienność fizycznych i chemicznych właściwości gleby w skali pola i gminy*, Lublin 2004.
- Nr 104-106: 2004, Vol. 3(1-3).
- Nr 107: Mariusz Szymanek, Ignacy Niedziółka, Bohdan Dobrzański jr: *Właściwości fizyczne ziarna kukurydzy cukrowej w aspekcie jego mechanicznego odcinania*, Lublin 2004.
- Nr 108: Pod redakcją Jana Glińskiego i Stanisława Nawrockiego: *Bonitacja i klasyfikacja gleb Polski*, Lublin 2004.
- Nr 109: Ryusuke Hatano, Jerzy Lipiec: *Effects of land use and cultural practices on greenhouse gas fluxes in soil*, Lublin 2004.
- Nr 110-112: 2004, Vol. 4(1-3).

- Nr 113: Zofia Stępniewska, Grażyna Przywara, Riccardo Paolo Bennicelli: *Reakcja roślin w warunkach anaerobiozy*, Lublin 2004.
- Nr 114: Ignacy Niedziółka, Mariusz Szymanek, Rafał Rybczyński: *Technologia produkcji kukurydzy cukrowej*, Lublin 2004.
- Nr 115-117: 2005, Vol. 5(1-3).
- Nr 118: Andrzej Bieganowski: *Metrologiczne aspekty wyznaczania potencjalnej gęstości strumienia tlenu w glebie*, Lublin 2005.
- Nr 119: Urszula Kotowska, Teresa Włodarczyk: *Przemiany mineralnych form azotu w glebie nawadnianej oczyszczonymi ściekami*, Lublin 2005.
- Nr 120: Pod redakcją Stefana Russela i Andrzeja I. Wyczółkowskiego: *Metody oznaczania aktywności enzymów w glebie*, Lublin 2005.
- Nr 121: Pod redakcją Wenantego Olszty i Dariusza Kowalskiego: *Zintegrowany system zabezpieczeń przeciwerozyjnych i ochrony wód terenów wyżynnych intensywnie użytkowanych rolniczo*, Lublin 2005.
- Nr 122: Wojciech Skierucha: *Wpływ temperatury na pomiar wilgotności gleby metodą reflektometryczną*, Lublin 2005.
- Nr 123: Dorota Matyka-Sarzyńska, Zofia Sokołowska: *Właściwości fizykochemiczne utworów murszowych o różnym stopniu wtórnego przeobrażenia*, Lublin 2005.
- Nr 124: Stanisław Uziak, Zygmunt Brogowski, Tomasz Komornicki: *Właściwości frakcji granulometrycznych gleb wytworzonych z różnych utworów macierzystych*, Lublin 2005.
- Nr 125-127: 2005, Vol. 6(1-3).
- Nr 128: Antoni Miś: *Wpływ wybranych czynników na wodochłonność i właściwości reologiczne glutenu pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.)*, Lublin 2005.
- Nr 129: Alicja Buczek: *Siedliskowe uwarunkowania, ekologia, zasoby i ochrona kłoci wiechowatej *Cladium mariscus* (L.) Pohl. w makroregionie lubelskim*, Lublin 2005.
- Nr 130: Stanisław Sosnowski: *Przyczyny powstawania uszkodzeń mechanicznych nasion fasoli podczas zbioru*, Lublin 2006.
- Nr 131: Małgorzata Brzezińska: *Aktywność biologiczna oraz procesy jej towarzyszące w glebach organicznych nawadnianych oczyszczonymi ściekami miejskimi (Badania polowe i modelowe)*, Lublin 2006.
- Nr 132-135: 2006, Vol. 7(1-4).
- Nr 136: Jerzy Rejman: *Wpływ erozji wodnej i uprawowej na przekształcenie gleb i stoków lessowych*, Lublin 2006.
- Nr 137: Małgorzata Kalicka: *Zmiany właściwości rędzin kredowych wraz z sukcesją roślinności kserotermicznej na wybranych stanowiskach Wyżyny Lubelskiej*, Lublin 2006.
- Nr 138: Adam Kuczyński: *Studia nad dynamiką brązowienia i jej wykorzystaniem w ocenie świeżości miąższu jabłek*, Lublin 2006.
- Nr 139-142: 2006, Vol. 8(1-4).
- Nr 143: Andrzej Bieganowski: *Problematyka normalizacyjna z zakresu terminologii, badań i klasyfikacji gleb oraz zagadnień pokrewnych*, Lublin 2006.
- Nr 144: Janusz Nowak, Małgorzata Bzowska-Bakalarz, Wojciech Przystupa. Pod redakcją: Janusza Nowaka: *Straty polowe w produkcji siana i kiszonek*, Lublin 2007.

- Nr 145: Pod redakcją Henryka Domżała i Elżbiety Jolanty Bielińskiej: *Ocena przeobrażeń środowiska glebowego i stabilności ekosystemów leśnych w obszarze oddziaływania Zakładów Azotowych "Puławy" S.A.*, Lublin 2007.
- Nr 146-148, 2007, Vol. 9(1-3).
- Nr 149: Andrzej Plak: *Czynniki kształtujące zawartość i formy arsenu w glebach aglomeracji lubelskiej*, Lublin 2007.
- Nr 150: Pod redakcją Ewy A. Czyż, J. Lecha Jugowara i Cezarego Sławińskiego: *Emisja gazów cieplarnianych i amoniaku w rolnictwie*, Lublin 2007.
- Nr 151-153, 2007, Vol. 10(1-3).
- Nr 154: Krzysztof Lamorski: *Modelowe badania pola temperatury w profilu glebowym z lokalnym zaburzeniem właściwości cieplnych*, Lublin 2007.
- Nr 155: Artur Zdunek: *Instrumentalna metoda oceny wybranych cech tekstury jabłek na podstawie emisji akustycznej*, Lublin 2008.
- Nr 156-158, 2008, Vol. 11(1-3).
- Nr 159: Piotr Baranowski: *Temperatura radiacyjna wybranych owoców i nasion jako parametr oceny ich jakości*, Lublin 2008.
- Nr 160: Stefania Jezierska-Tys, Magdalena Frąc: *Badania nad wpływem osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich na aktywność mikrobiologiczną i biochemiczną gleby*, Lublin 2008.
- Nr 161-163, 2008, Vol. 12(1-3).
- Nr 164: Jan Paluszek, Wojciech Żembrowski: *Ulepszanie gleb ulegających erozji w krajobrazie lessowym*, Lublin 2008.
- Nr 165: Tomasz Słowik, Izabella Jackowska, Wiesław Piekarski: *Problemy zanieczyszczenia środowiska przez infrastrukturę transportową na przykładzie Roztoczańskiego Parku Narodowego*, Lublin 2008.
- Nr 166-168, 2009, Vol. 13(1-3).
- Nr 169: Pod redakcją Jacka Leśnego: *Climate change and agriculture in Poland – impacts, mitigation and adaptation measures*, Lublin 2009.
- Nr 170-172, 2009, Vol. 14(1-3).
- Nr 173: Pod redakcją Henryka Czachora: *Analiza czynników wpływających na żwilżalność gleb mineralnych*, Lublin 2009.
- Nr 174: Wojciech Rybiński, Bogusław Szot: *Związki między agrofizyką a genetyką i hodowlą roślin zbożowych oraz strączkowych*, Lublin 2009.
- Nr 175: Magdalena Ryzak, Piotr Bartmiński, Andrzej Bieganowski: *Metody wyznaczania rozkładu granulometrycznego gleb mineralnych*, Lublin 2009.

# ACTA AGROPHYSICA

## Rozprawy i monografie

### Instrukcja dla autorów

W serii ACTA AGROPHYSICA – Rozprawy i monografie, publikowane są recenzowane opracowania oparte na oryginalnych wynikach badań oraz monografie z zakresu agrofizyki.

Tekst pracy winien być napisany czcionką Times New Roman CE nr 11, interlinia 13, wyrównanie dwustronne, wcięcie akapitowe 0,6 cm, z marginesami: górny i dolny – 5,65 cm; lewy i prawy – 4,1 cm dla formatu papieru A4.

Praca rozpoczyna się WYKAZEM WAŻNIEJSZYCH OZNACZEŃ (jeśli tego wymaga praca) – jest to rozdział bez numeracji

Tytuły rozdziałów i podrozdziałów powinny być ponumerowane cyframi arabskimi i zróżnicowane w następujący sposób:

- TYTUŁY ROZDZIAŁÓW GŁÓWNYCH: duże litery, czcionka nr 10, wyrównanie lewostronne, odstęp nad tytułem 15 pt, pod tytułem 10 pt;
- **Tytuły podrozdziałów:** z dużej litery czcionka nr 11, pogrubiona (bold), wyrównanie lewostronne, odstęp (nad i pod tytułem) 10 pt;

Nie należy dzielić wyrazów w tytułach.

**Tabele:** Wszystkie opisy tabel (tytuły i zawartość tabel) winny być dwujęzyczne: polskie i angielskie, pisane czcionką nr 9. Należy stosować pełny zapis w tytułach tabel, tj. **Tabela 1.** (**Table 1.**) i używać czcionki **bold** do zapisu wyrazu tabela; na końcu tytułu tabeli nie stawiać kropki; wyrównywanie dwustronne, np.:

**Tabela 1.** Charakterystyka badanych odmian

**Table 1.** Characteristics .....

W tekście używamy pełnego zapisu np. tabela 1, lub w tabeli 1, a cytując zapisujemy w nawiasie – (tab. 1).

Tekst w nagłówkach tabeli należy rozpoczynać z dużej litery. Jeżeli pod tabelą znajdują się objaśnienia należy zakończyć je kropką. Tabele należy składać bez linii bocznych i wewnętrznych. Powinny one mieć tylko cienkie linie poziome zamykające tabelę od góry i od dołu oraz podkreślające nagłówek.

**Rysunki:** Wszystkie opisy rysunków (podpisy, opisy osi, legendy, itp.) winny być dwujęzyczne: polskie i angielskie. Należy stosować w podpisie skrót **Rys. 1.** (**Fig. 1.**), a na końcu podpisu nie stawiać kropki. W tekście pracy należy używać pełnego wyrazu „rysunek”, a w cytowaniu skrótu (rys. 1). Podpis pod rysunkiem zapisujemy z wyrównaniem dwustronnym, np.

**Rys. 1.** Zależność ilości jonów Fe(II) uruchamianych z gleby lessowej ( $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) od czasu trwania doświadczenia w dwóch temperaturach

**Fig. 1.** Relation between Fe(II) ions ( $\text{mg dm}^{-3}$ ) activated in the loess soil and the experimental time at two temperatures

W opisach osi rysunków stosujemy następującą zasadę: zaczynamy dużą literą i podajemy jednostkę w nawiasie okrągłym, np. **Wilgotność – Moisture (%)**. Jeśli opis jest długi zapisujemy wersję polską w jednej linijce, angielską w drugiej, a po niej jednostkę, np.

**Udział ziaren uszkodzonych i zdolność kiełkowania**  
**Share of damaged grains and germination capacity (%)**

**Wzory:** należy zapisać czcionką nr 11, wyrównywanie centralne. Odstęp nad i pod wzorem powinien wynosić 0,5 cm. Wzory powinny być ponumerowane, a numery należy umieścić w nawiasach okrągłych przy prawym marginesie.

**Kursywą** należy wyróżnić zarówno w tekście jak i we wzorach:

- symbole wielkości fizycznych;
- jedno- i wieloliterowe skróty wyrazów w indeksach ( $t_n$ ,  $W_{końc.}$ ) lub wykładnikach ( $b^3$ );
- nazwy łacińskie.

**Prostym pismem** składa się:

- cyfrowe wykładniki potęg oraz cyfrowe frakcje górne i dolne ( $2^2$ ,  $b^3$ ,  $t_2$ ,  $k_2$ );
- skróty funkcji trygonometrycznych i hiperbolicznych (cos, tg), symbole operatorów wektorowych (grad, div), znaki pierwiastka i całki oraz stałe symbole funkcyjne (d, f,  $\pi$ ,  $\Sigma$ , const, exp), symbole jednostek miary ( $\Omega$ ,  $\mu\text{m}$ ), symbole jednostek miary w indeksach dolnych ( $h_m$ ), symbole pierwiastków chemicznych (Cu,  $k_{Fe}$ ), symbole stałych fizycznych (Re - liczba Reynoldsa), oznaczenia typów maszyn i przyrządów, litery przy numerach rysunków (Rys. 15a), wszelkie nawiasy.

**Cytowane pozycje literatury** powinny być w PIŚMIENICTWIE (REFERENCES w wersji angielskiej) uszeregowane alfabetycznie według nazwisk autorów. W przypadku prac pisanych w języku innym niż angielski, tytuły publikacji należy podawać w języku angielskim (z wyjątkiem publikacji francusko- i niemieckojęzycznych) z zaznaczeniem oryginalnego języka, np. (in Polish), (in Russian). Literatura powinna być cytowana w tekście w nawiasach okrągłych poprzez podanie nazwiska autora i roku wydania publikacji – (Kowalski 1999) lub (Kowalski i Dorn 1998) – w wersji angielskiej (Kowalski and Dorn 1998). Przy cytowaniu nazwisk autorów publikacji, gdy jest ich więcej niż dwóch, należy stosować skrót: (Kowalski i in. 2002), w wersji angielskiej (Kowalski *et al.* 2002). **Nie powinno się jednorazowo cytować więcej niż 5 pozycji literatury.**

Przykład:

PIŚMIENICTWO

- Horabik J., 1994. Wpływ właściwości mechanicznych ziarna pszenicy na rozkład obciążenia w zbiorniku. Acta Agrophysica, 1.
- Jury W.A., Roth K., 1990. Transfer Function and Solute Movement through Soil: Theory and Applications. Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland.
- Ostrowski E.W., 1971. Opriedzielenije mechaniczeskich swoistw sacharnoj swiokły. Sacharnaja Promyszlenost, 1, 17-20.

- Rampazzo N., Blum W.E.H., Strauss P., Čurlík J., 1993. Structure assessment of two agricultural soil of Lower Austria. *Int. Agrophysics*, 7, 47-59.
- Tardieu F., 1991. Spatial arrangement of maize roots in the field. In: *Plant Roots and Their Environment* (Eds B.L. McMichael, H. Persson). Elsevier, Amsterdam, 506-514.

Na końcu pracy powinno być streszczenie w języku polskim i angielskim (SUMMARY) – około 1 strony) wraz z angielskim tytułem pracy i słowami kluczowymi (do 5 wyrazów) oraz adresy autorów.

W zapisie liczb dziesiętnych w języku polskim używamy przecinków (10,12), a w angielskim kropki (10.12). W liczbach dziesiętnych może być 5 miejsc łącznie z przecinkiem.

Obowiązuje system jednostek SI. Jednostki należy zapisywać potęgowo: w wersji polskiej: ( $\mathbf{m \cdot s^{-1}}$ ), w wersji angielskiej ( $\mathbf{m s^{-1}}$ ) – w nawiasach okrągłych.

Autor/autorzy zobowiązani są złożyć oświadczenie, że praca nie była publikowana w innym czasopiśmie.

Autorzy prac partycypują w kosztach jej wydania. Informacja o opłatach oraz dodatkowe informacje dla autorów znajdują się na stronie internetowej

**[www.ipan.lublin.pl/instytut/wydawnictwo/Actaagr](http://www.ipan.lublin.pl/instytut/wydawnictwo/Actaagr)**

# ACTA AGROPHYSICA

## Papers and Monographs Instructions for Authors

The ACTA AGROPHYSICA series – Papers and Monographs, publishes reviewed papers based on original research results as well as monographs pertaining to the field of agrophysics.

Texts should be presented using font type Times New Roman CE No. 11, interline 13, with justification on both sides, paragraph indentation of 0.6 cm, upper and lower margins of 5.65 cm; left and right margins of 4.1 cm, for A4 paper size.

Papers should begin with a LIST OF SYMBOLS USED (if required) – this section is not numbered.

Section and sub-section titles should be numbered with Arabic numerals and identified as follows:

- **TITLES OF MAIN SECTIONS:** capital letters, font size 10, left justification, line spacing above the title at 15 pts, below the title at 10 pts;
- **Titles of sub-sections:** beginning with a capital letter, font size 11, bold type, left justification, line spacing (above and below the title) 10 pts;

No division of words in titles is recommended.

**Tables:** All descriptions of tables (titles and headings) should be in type size 9. Full wording should be used in table titles, i.e. **Table 1.**, and the word “table” should be in bold type; no dot should be used at the end of table title; justification on both sides, e.g.:

**Table 1.** Composition of batters of finely comminuted sausages of the wiener type

In the text of the paper full wording should be used, e.g. Table 1, and when quoting, an abbreviated form should be put in brackets – (Tab. 1). Text in table headings should begin with a capital letter. If explanations are added below the table, they should end with a dot. Tables should be composed without side border lines and internal division lines. Only thin horizontal lines defining the table beginning and end (from above and below) are to be used, as well as lines underlining the headings.

**Figures:** In figure captions the abbreviated form should be used - **Fig. 1.**, and no dot should be placed at the end of the caption. In the text of the paper the full word „Figure” should be used, and when quoting, the abbreviated form in brackets (Fig. 1). Figure captions are to be written with justification on both sides, e.g.

**Fig. 1.** Relation between Fe(II) ions ( $\text{mg dm}^{-3}$ ) activated in the loess soil and the experimental time at two temperatures

In axis description in figures, the following principle is used – the description is begun with a capital letter, and units used are given in brackets, e.g. Moisture (%)

Formulae and equations: use font size 11, with central justification. Formulae and equations should be numbered, the numbers being put in brackets at the right margin. Line spacing above and below formulae and equations should be 0.5 cm.

**Italics** should be used, both in the text and in formulae, to highlight the following:

- symbols of physical values;
- single- and multi-letter abbreviations in lower ( $t_n$ ,  $W_{końc.}$ ) and upper ( $b^5$ ) indexes;
- Latin names.

**Straight characters** are used for:

- index exponents of powers and numerical upper and lower fractions ( $2^2$ ,  $b^3$ ,  $t_2$ ,  $k_2$ );
- abbreviations of trigonometric and hyperelliptic functions (cos, tg), symbols of vector operators (grad, div), root and integer signs and constant functional symbols (d, f,  $\pi$ ,  $\Sigma$ , const, exp), symbols of units of measurement ( $\Omega$ ,  $\mu\text{m}$ ), symbols of measurement units in lower indexes ( $h_m$ ), symbols of chemical elements (Cu,  $k_{Fe}$ ), symbols of physical constants (Re – Reynold's number), designation of machine and apparatus types, letters in figure numbering (Fig. 15a), all brackets.

**Quoted literature references** in the REFERENCES section should be arranged alphabetically, according to the authors' names. In the case of publications in a language other than English, the titles quoted should be in English (except for publications in French and German) with an indication of the original language of the publication, e.g. (in Polish), (in Russian), etc. Literature should be quoted in the text using brackets, by giving the author's name and the year of publication of the publications referenced – (Kowalski 1999) or (Kowalski and Dorn 1998). When quoting names of authors of publications with more than two authors, the abbreviated form should be used („Kowalski *et al.*”). **At one time, not more than 5 items of literature should be referenced.**

Example:

#### REFERENCES

- Horabik J., 1994. Load distribution in a model bin as influenced by mechanical properties of wheat grain (in Polish). *Acta Agrophysica*, 1.
- Jury W.A., Roth K., 1990. *Transfer Function and Solute Movement through Soil: Theory and Applications*. Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland.
- Ostrowski E.W., 1971: Evaluation of sugar beet mechanical properties (in Russian). *Sacharnaja Promyslennost*, 1, 17-20.
- Rampazzo N., Blum W.E.H., Strauss P., Čurlík J., 1993. Structure assessment of two agricultural soil of Lower Austria. *Int. Agrophysics*, 7, 47-59.
- Tardieu F., 1991. Spatial arrangement of maize roots in the field. In: *Plant Roots and Their Environment* (Eds B.L. Mc Michael, H. Persson). Elsevier, Amsterdam, 506-514.

SI system is compulsory throughout. Units should be given as powers in round brackets – ( $\text{m s}^{-1}$ )

Authors of submitted papers participate in the costs of publication. Information on the costs, as well as additional information for authors, can be found on our website:

**[www.ipan.lublin.pl/instytut/wydawnictwo/Actaagr](http://www.ipan.lublin.pl/instytut/wydawnictwo/Actaagr)**

**Cena: 20 zł**