

WPLYW STRESU GLINOWEGO NA GEOMETRYCZNY
I ENERGETYCZNY CHARAKTER KORZENI ROŚLIN,
BADANY METODĄ ADSORPCJI AZOTU

Alicja Szatanik-Kloc, Grzegorz Bowanko

Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin
e-mail: akloc@demeter.ipan.lublin.pl

Streszczenie. Jęczmień jary Ars oraz dwie pszenice o zróżnicowanej tolerancji na glin Henika (wrażliwa) i Inia (odporna), poddano stresowi glinowemu w dwóch fazach rozwoju, w fazie krzewienia i w fazie strzelania w źdźbło. Wzrost roślin odbywał się w kulturach wodnych, przy pH = 7 (kontrola) i pH = 4 (bez glinu) oraz pH = 4 + 20 mg·dm³ glinu. Glin dodawano do pożywki w formie AlCl₃. Na otrzymanym materiale korzeniowym przeprowadzono pomiary powierzchni i jej charakterystyk energetycznych w oparciu o teorię adsorpcji Brunauera, Emmeta i Tellera (BET), wykorzystując jako adsorbat azot. Glin powodował wzrost powierzchni właściwej badanych korzeni, przy jednoczesnym spadku energii adsorpcji. Największe zmiany (pod wpływem toksyczności glinu) badanych wielkości fizykochemicznych i to zarówno w stosunku do korzeni jęczmienia rosnących w warunkach kontrolnych, jak i w stosunku do badanych odmian pszenicy oraz różnych faz rozwoju, zaobserwowano u jęczmienia jarego w fazie krzewienia..

Słowa kluczowe: materiał korzeniowy, glin, pH, powierzchnia właściwa, energia adsorpcji azotu

WSTĘP

W większości modeli matematycznych opisujących pobór wody i jonów przez roślinę stosowana jest powierzchnia właściwa. Do jej pomiaru stosuje się między innymi metody adhezji cieczy, geometryczne i sorpcyjne. Powyższe metody pomiarowe traktują powierzchnię właściwą korzeni jako powierzchnię geometryczną (wynoszącą kilka centymetrów kwadratowych na gram materiału). Większość modeli nie uwzględnia obecności włosników korzeniowych. Pomiary powierzchni właściwej oparte na teorii adsorpcji Brunauera, Emmeta i Tellera (BET), które zastosowano w niniejszej pracy, były już wykorzystywane do charakterystyk wybranych wielkości fizykochemicznych materiałów takich jak: minerały, gleby, substancje organiczne między innymi torfy, kwasy huminowe oraz

tkanki roślinne. Powierzchnię właściwą określa się na podstawie pomiarów ilości znanej substancji (adsorbentu) zaadsorbowanej na badanej powierzchni (adsorbentu). Najczęściej jako adsorbat stosuje się parę wodną [13] oraz azot [12,14]. W badaniach powierzchni właściwej materiału korzeniowego roślin do tej pory wykorzystywano jako adsorbat molekuły pary wodnej [7,15].

Fitotoksyczność glinu wpływa na zmiany anatomiczne, morfologiczne i biochemiczne roślin. Zmiany te odzwierciedlają się również w zmianach niektórych wielkości fizykochemicznych. W prezentowanej pracy określono zmiany powierzchni właściwej korzeni roślin i jej energetycznych charakterystyk pod wpływem niskiego pH i toksycznego stężenia glinu wykorzystując azot jako adsorbat.

MATERIAŁY I METODY

Badania przeprowadzono na korzeniach roślin zbożowych (o zróżnicowanej genetycznie odporności na glin); użyto korzeni jęczmienia jarego Ars i dwóch odmian pszenicy jarej (Henika – wrażliwa oraz Inia – odporna), otrzymane w wyniku uprawy w kulturach wodnych [7,15]. W fazie krzewienia i w fazie strzelania w źdźbło obniżano odczyn pożywki do pH = 4 i dodawano glin w formie roztworu $AlCl_3$ o stężeniu $20 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$. Izotermy adsorpcji azotu wyznaczano w temperaturze wrzenia ciekłego azotu przy wykorzystaniu firmowego aparatu Sorptomatic 1990 firmy CE FISONs i programu Milestone 200 [11]. Do opisu danych doświadczalnych zastosowano model adsorpcji BET [1,9]. Izoterma adsorpcji BET, 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), a_m ($\text{kg} \cdot \text{kg}^{-1}$) jest ilością zaadsorbowanego adsorbentu przy określonej prężności azotu w danej temperaturze T (K), $C = \exp[-(E_a - E_c)/RT]$ jest stałą w równaniu przy E_a energii adsorpcji i E_c energii kondensacji i stałej gazowej RT . Równanie BET wyprowadzone było w oparciu o model adsorpcji zlokalizowanej na powierzchni homogenicznej. Model ten zakłada tworzenie się wielocząsteczkowych warstw adsorpcji (bez wakatów). Równanie to obejmuje zakres względnych ciśnień adsorbentu p/p_0 od 0,05 do 0,35. Na podstawie równania (1) wyznaczono statystyczną pojemność monowarstwy, w oparciu o którą obliczono powierzchnię korzeni S z równania:

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

$\omega = 1,62 \cdot 10^{-19}$ jest powierzchnią zajmowaną przez jedną molekułę azotu, L (mol^{-1}) liczba Avogadro, M ($\text{kg} \cdot \text{mol}^{-1}$) masa cząsteczkowa azotu.

Niejednorodność energetyczną badanych adsorbentów wyznaczono z danych eksperymentalnych adsorpcji na podstawie teorii adsorpcji na powierzchniach heterogenicznych [5,9]. Niejednorodność energetyczną charakteryzuje funkcja rozkładu energii adsorpcji, pokazująca względny udział (frakcje lub częstotliwość występowania) poszczególnych centrów adsorpcyjnych na całkowitej powierzchni adsorbenta. Z izoterm adsorpcji, w oparciu o uproszczenia i przybliżenia opisane w pracach [2,3,6,9] obliczono funkcje rozkładu energii adsorpcji za pomocą następującej formuły

$$f(E_i) = [(1 - x_{i+1})^{1/2} \Theta_r(E_{i+1}) + (1 - x_i)^{1/2} \Theta_r(E_i)] / (E_{i+1} - E_i) \quad (3)$$

gdzie $\Theta_r = a/a_m$, E_i związana jest z ciśnieniem adsorbentu w sposób:

$$\exp E_i = (p/p_{0,i})^{-1} \quad (4)$$

Funkcja $f(E_i)$ musi spełniać warunek normalizacji,

$$\sum_{i=1}^n f(E_i) = 1 \quad (5)$$

Oznacza to, że, suma udziałów (frakcji) wszystkich rodzajów centrów adsorpcyjnych w powierzchni całkowitej adsorbenta równa jest jedności. Na podstawie otrzymanych wartości funkcji rozkładu energii obliczono średnią energię adsorpcji E_{av} :

$$E_{av} = \sum_{i=1}^n E_i f(E_i) \quad (6)$$

WYNIKI I DYSKUSJA

Zarówno w przeprowadzonym doświadczeniu, jak i we wcześniejszych badaniach, nie zaobserwowano istotnego wpływu pH na badane powierzchnie właściwe korzeni. Natomiast wysokie stężenie jonów glinu wyraźnie wpłynęło na ich wielkość. Fitotoksyczne działanie glinu na strukturę tkanki korzeniowej spowodowało wzrost badanych powierzchni. Wzrost ten może być związany z maceracją tkanki korzeniowej [7,15,16]. Glin powoduje ograniczenie cementującej roli pektynianów blaszki środkowej. Następstwem tego może być ograniczenie elastyczności ściany komórkowej, a dalej jej uszkodzenie (rozerwanie). W wyniku tego odsłonięte zostają nowe powierzchnie adsorpcyjne o różnym charakterze chemicznym. Pod wpływem destrukcyjnego działania jonów glinu powierzchnia właściwa badanych korzeni wzrastała (w stosunku do powierzchni korzeni rosnących w warunkach kontrolnych tj. przy pH 7 i pH 4 bez glinu). Im mniejsza była (genetycznie uwarunkowana) odporność badanych zbóż na toksyczność glinu tym większe były powierzchnie właściwe. Najbardziej istotne zmiany powierzchni właściwej odnotowano dla

jęczmienia jarego Ars a najmniej istotnym zmianom uległa powierzchnia właściwa korzeni pszenicy odpornej (Inia). Wzrost powierzchni właściwej badanych gatunków zbóż zależał również od fazy rozwoju rośliny w momencie stresu. Powierzchnie właściwe korzeni roślin w fazie krzewienia uległy wyraźniejszemu wzrostowi w porównaniu z intensywnością zmian powierzchni tych samych roślin, poddanych stresowi w fazie strzelania w źdźbło (tab. 1). W badanym materiale korzeniowym, wraz ze wzrostem powierzchni malała średnia wartość energii adsorpcji (tab. 2).

Tabela 1. Powierzchnia S, korzeni roślin w dwóch fazach rozwoju (średnie z 3 cykli uprawowych x 3 pomiary izoterm adsorpcji) $\pm 95\%$ przedział ufności. K – faza krzewienia, S – faza strzelania w źdźbło

Table 1. Surface area S of plant roots in two growth stages (averages from 3 growth cycles x 3 isotherm replicates) $\pm 95\%$ confidence intervals. K – tillering stage, S – shooting stage

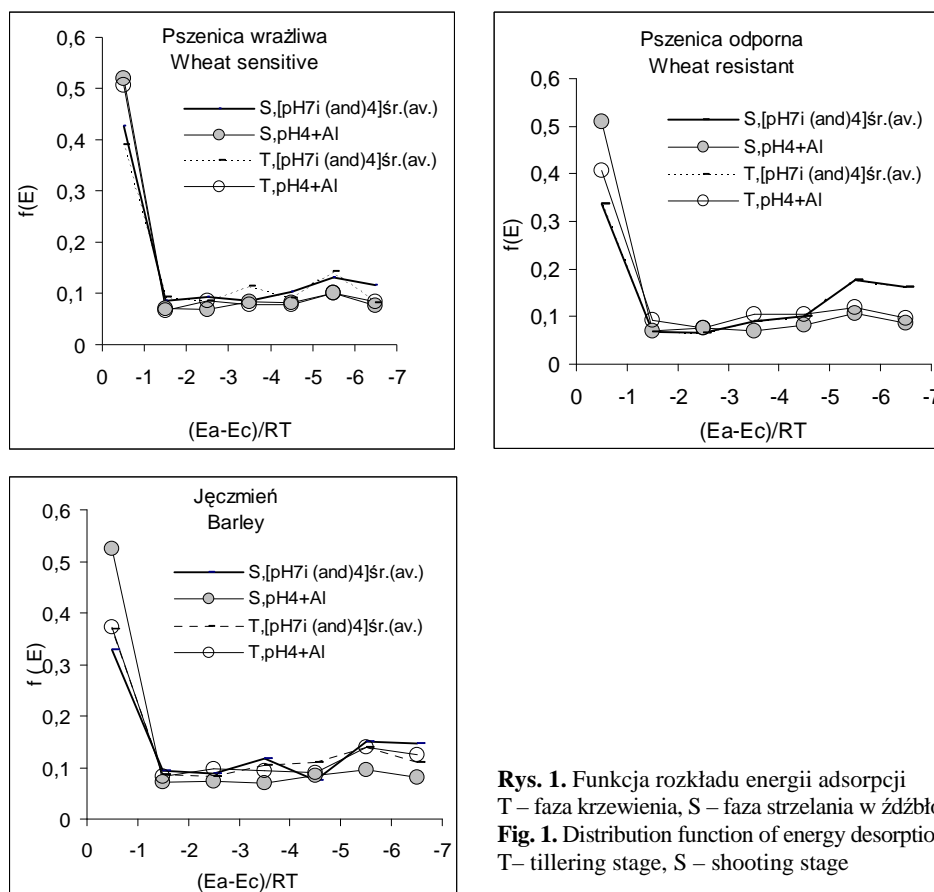
S (m ² ·g ⁻¹)	Pszenica Wheat K	Wrażliwa Sensitive S	Pszenica Wheat K	Odporna Resistant S	Jęczmien Barley K	S
pH 7	24,3±0,01	35,3±0,01	24,9±0,01	22,2±0,008	29,1±0,02	27,3±0,01
pH 4	24,2±0,01	35,7±0,009	25,1±0,01	22,4±0,006	28,9±0,03	27,2±0,01
pH 4+Al	28,5±0,02	39,9±0,02	28,3±0,02	24,6±0,01	37,8±0,04	32,2±0,03

Tabela 2. Średnie energia E śr., adsorpcji azotu na korzeniach roślin w dwóch fazach rozwoju (średnie z 3 powtórzeń 3 cykle uprawy x 3 pomiary izoterm adsorpcji) $\pm 95\%$ przedział ufności. K – faza krzewienia, S- faza strzelania w źdźbło

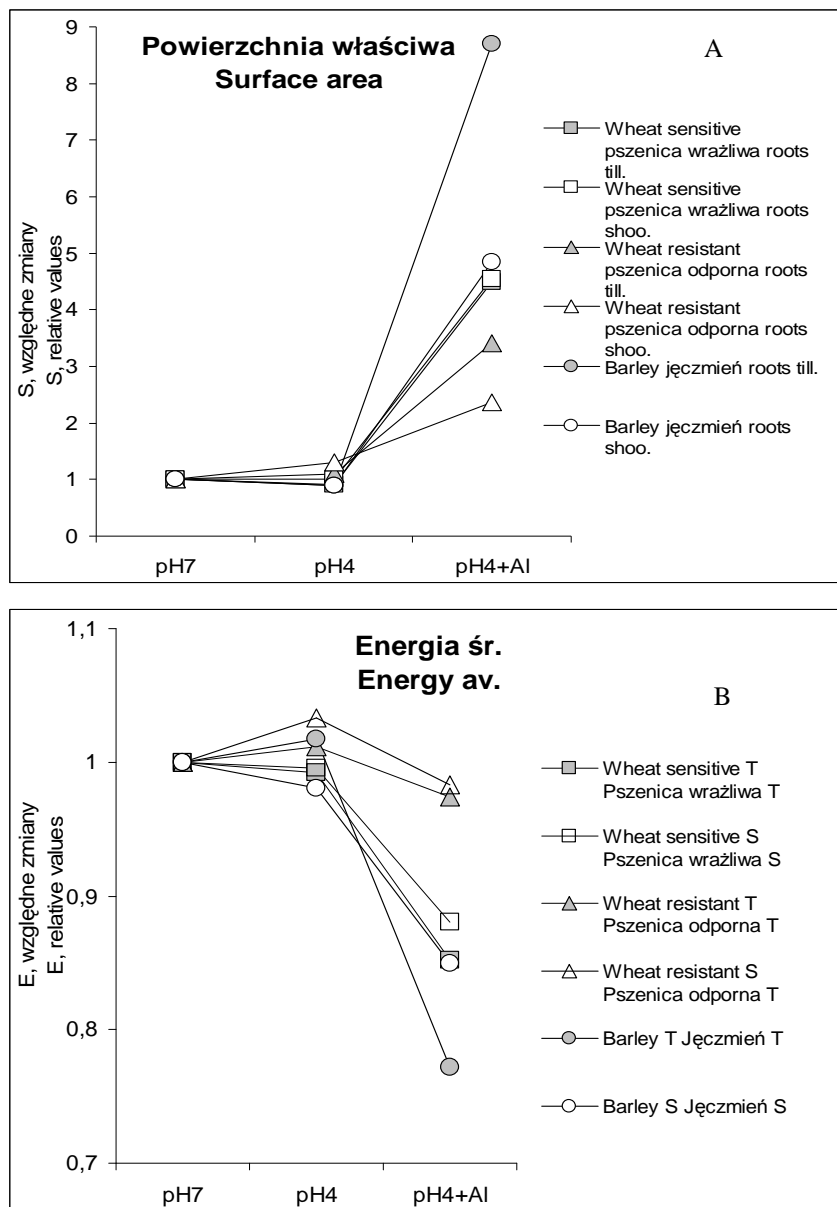
Table 2. Average energy E av. of nitrogen adsorption on plant roots in two growth stages (averages from 3 growth cycles x 3 isotherm replicates) $\pm 95\%$ confidence intervals. K – tillering stage, S – shooting stage

E _{śr} E _{av} (kJ·mol ⁻¹)	Pszenica Wheat K	Wrażliwa Sensitive S	Pszenica Wheat K	Odporna Resistant S	Jęczmien Barley K	S
pH 7	7,3±0,002	7,2±0,001	7,3±0,0001	7,5±0,0002	7,4±0,002	7,6±0,002
pH 4	7,3±0,002	7,2±0,001	7,3±0,0004	7,5±0,0002	7,5±0,003	7,5±0,001
pH 4+Al	7,1±0,003	7,0±0,002	7,0±0,0006	7,4±0,0003	7,0±0,005	7,3±0,003

Funkcja rozkładu energii adsorpcji prezentowana na rysunku 1 pokazuje, że w wyniku stresu glinowego spada ilość wysokoenergetycznych centrów adsorpcyjnych (od -5 do -7 $E = (E_a - E_c)/RT$ oraz wzrasta względna ilość centrów nisko-energetycznych (od 0 do -1 $E = (E_a - E_c)/RT$). Względne zmiany ilości centrów adsorpcyjnych były wyraźniejsze w korzeniach roślin mniej odpornych na fitotoksyczność glinu.



W wyniku stresu glinowego rośliny intensywniej uruchamiają swoje mechanizmy obronne. Należą do nich między innymi: wiązanie glinu z grupami karboksylowymi pektyn, chelatowanie jonów glinu na powierzchni wierzchołków wzrostu i w apoplacie, dzięki wzmożonemu wydzielaniu substancji śluzowatych (głównie polisacharydów i kwasów uronowych), wydzielaniu fosforanów, maleinianów, kwasów cytrynowego i jabłkowego [4,8,10]. Intensywność tych, jak też szeregu innych mechanizmów obronnych zależy od genetycznie uwarunkowanej odporności. Możemy zatem przypuszczać, że spadek wysokoenergetycznych i wzrost niskoenergetycznych centrów adsorpcyjnych pod wpływem stresu, może być związany ze zmianą reakcji biochemicznych korzeni.



Rys. 2. Względne zmiany A – powierzchni właściwej dla azotu (S), B – średniej energii ($E_{\text{śr}}$) adsorpcji azotu. T – faza krzewienia, S – faza strzelania w źdźbło

Fig. 2. Relative values of A – surface area for nitrogen (S), B- average nitrogen adsorption energy (E_{av}). T – tillering stage, S – shooting stage

Również maceracja tkanek korzeniowych może wpływać na zmiany ilościowe centrów adsorpcyjnych. Tendencje względnych zmian powierzchni i energii adsorpcji, prezentowane na rysunku 2, pokazują, że w największym stopniu zarówno powierzchnia jak i energia adsorpcji zmieniły się u jęczmienia jarego. Ponadto korzenie roślin poddane stresowi glinowemu w fazie krzewienia, uległy w większym stopniu destrukcji, niż korzenie tych samych roślin w warunkach stresu w fazie strzelania w źdźbło. Podobne tendencje zmian pod wpływem glinu uzyskano w badaniach powierzchni i energii adsorpcji, w których jako adsorbentu użyto pary wodnej [7,15]. Tak więc zmiany badanych wielkości fizykochemicznych, które zachodzą pod wpływem toksycznego stężenia glinu mają ten sam charakter niezależnie od rodzaju zastosowanego adsorbentu.

WNIOSKI

1. Niski odczyn pH pożywki nie wpłynął na zmiany wielkości powierzchni w badanym materiale korzeniowym.
2. Na skutek destruktywnego działania glinu powierzchnie badanych korzeni wzrastały, a intensywność tych zmian zależała od genetycznie uwarunkowanej odporności i fazy rozwoju rośliny (większym zmianom ulegały korzenie roślin wrażliwych jęczmienia jarego *Ars* w fazie krzewienia, najmniejsze zmiany odnotowano u pszenicy jarej odpornej *Inia* w fazie strzelania w źdźbło).
3. Zmiany pod wpływem stresu glinowego, biochemiczne i anatomiczne (między innymi: maceracja tkanki korzeniowej, rozerwania ściany komórkowej powoduje odsłonięcie nowych chemicznie różnych powierzchni) spowodowały spadek względnej ilości wysokoenergetycznych centrów adsorpcyjnych i wzrost niskoenergetycznych centrów adsorpcyjnych.

PIŚMIENNICTWO

1. **Brunauer S., Emmet P.H., Teller E.:** Adsorption of gases in multimolecular layers. *J. Am. Chem. Soc.*, 60, 309-314, 1938.
2. **Cerofolini G.F.:** Localized adsorption on heterogeneous surfaces. *Thin Solid Films*, 23, 129-152, 1974.
3. **Harris L.B.:** Adsorption on a patchwise heterogeneous surface. III. Errors incurred in using the condensation approximation to estimate the energy distribution on a Hill-De Boer adsorbent. *Surface Sci.*, 15, 182-187, 1969.
4. **Horst W.J., Wagner A., Marschner H.:** Effect of aluminum on root growth, cell-division rate and mineral element contents in roots of *Vigna Unguiculata* genotypes. *Z. Pflanzenphysiol.*, 109, 95-103, 1983.
5. **Jaroniec M., Rudziński W., Sokołowski S., Smarzewski R.:** Determination of energy distribution function from observed adsorption isotherms. *J. Colloid and Polymer Science*, 253, 164-166, 1975.

6. **Józefaciuk G., Shin J.S.:** 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, 1996.
7. **Józefaciuk G., Szatanik-Kloc A.:** Aluminium-induced changes in the surface and micropore properties of wheat roots: a study using the water vapor adsorption-desorption technique. *Plant and Soil*, 233(1), 95-108, 2001.
8. **Olma K., Ohira K.:** Reduction of aluminum toxicity by addition of conditioned medium from aluminum-tolerant cells of carrot. *Plant Cell Physiol.*, 26, 281-286, 1985.
9. **Óściak J.:** Adsorpcja. PWN Warszawa, 1979.
10. **Peller D.M., Papernik L.A., Jones D.L., Darrah P.R., Grunes D.L., Kochian L.V.:** Involvement of multiple aluminium exclusion mechanisms in aluminium tolerance in wheat. *Plant and Soil*, 192, 63-68, 1997.
11. **Petersen L.W., Moldrup P., Jacobsen O.H., Rolston D.E.:** Relation between specific surface area and soil physical and chemical properties. *Soil Sci.*, 161, 9-21, 1996.
12. **Sokołowska Z., Hajnos M., Borówko M., Sokołowski S.:** Adsorption of Nitrogen on Thermally Treated Peat Soils: The Role of Energetic and Geometric Heterogeneity *Journal of Colloid and Interface Science*, 219, 1-10, 1999,
13. **Sokołowska Z., Matyka-Sarzyńska D.:** Methodical aspects of determining the specific surface area of peat-muck soils by use of water sorption data. *Acta Agrophysica*, 68, 203-214, 2002.
14. **Sokołowska Z., Matyka-Sarzyńska D., Bowanko G.:** Specific surface area of Lublin Polesie mucks determined from water vapour and nitrogen adsorption data. *Int. Agrophysics*, 18(4), 366-369, 2004.
15. **Szatanik-Kloc A.:** Wpływ stresu glinowego na wzrost oraz anatomiczne i morfologiczne cechy korzeni wybranych zbóż. *Acta Agrophysica*, 23, 167-175, 1999.
16. **Szatanik-Kloc A., Józefaciuk G.:** Effect of pH and aluminum on surface properties of barley roots as determined from water vapor adsorption. *Acta Physiologiae Plantarum*, 19(3), 327-332, 1997.

EFFECT OF ALUMINIUM STRESS ON GEOMETRIC AND ENERGETIC CHARACTER OF ROOTS DERIVED FROM NITROGEN ADSORPTION

Alicja Szatanik-Kloc, Grzegorz Bowanko

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

Abstract. Spring barley (Ars) and two wheat varieties (Henika – sensitive and Inia – resistant) of various tolerance to aluminum stress, were studied. The plants were stressed with different Al concentrations at two growth stages – shooting and tillering. The plants were grown in nutrient solution at pH = 7 and pH = 4 (noAl) and pH = 4 + 20 mg dm⁻³ aluminium (AlCl₃). Nitrogen adsorption isotherms were measured for the roots of the plants. From the isotherms, surface areas and surface energetic parameters were calculated using Brunauer, Emmett and Teller (BET) theory. Under Al stress the root surface area increased and the average adsorption energy decreased. The most intensive changes were noted for spring barley in tillering stage. Similar tendencies were derived previously from water vapour adsorption method.

Keywords: roots materials, aluminium, nitrogen adsorption isotherms, pH, surface area, adsorption energy