

AKTYWNOŚĆ FIZJOLOGICZNA SIEWEK PSZENICY W WARUNKACH STRESU CHEMICZNEGO WYWOŁANEGO LOTNYM ETYLOBENZENEM

¹Anna STOLARSKA, ²Krystyna PRZYBULEWSKA, ³Andrzej WIECZOREK

¹Katedra Fizjologii Roślin, astolarska@agro.ar.szczecin.pl

²Katedra Mikrobiologii i Biotechnologii Środowiska, kprzybulewska@agro.ar.szczecin.pl

Akademia Rolnicza w Szczecinie, ul. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin

³Instytut Chemii i Podstaw Ochrony Środowiska, Politechnika Szczecińska, Al. Piastów 42, 71-065 Szczecin, anwiecz@ps.pl

STRESZCZENIE

Przebadano wpływ par etylobenzenu w powietrzu w zakresie stężeń 81-6570 mg/m³ na reakcję fizjologiczną oraz zmiany anatomiczne siewek pszenicy ozimej, odmiany Tonacja. Przy najniższym stężeniu obserwowano działanie intensyfikujące asymilację CO₂ oraz zwiększające efektywność wykorzystania wody w fotosyntezie. Przy stężeniach 730 do 6570 mg/m³ pary etylobenzenu ograniczały kiełkowanie i rozwój roślin oraz obniżały aktywność fotosyntetyczną siewek. Powodowały często wyraźną degradację chlorofilu oraz nekrotyczne plamy na powierzchni liści, odwodnienie komórek i zmiany ich kształtu.

1. Wstęp

Wraz z rozwojem cywilizacji następuje wzrost emisji szkodliwych substancji do środowiska naturalnego. Jednym z bardziej uciążliwych dla środowiska związków jest etylobenzen, przyczyniający się do tworzenia ozonu przyziemnego w powietrzu. Dopuszczalne jego stężenie w powietrzu atmosferycznym wynosi 0,5 mg/m³ w okresie 30 minutowym, 0,2 mg/m³ w 24 godzinnym i 0,038 mg/m³ rocznym [1]. W sąsiedztwie emitatorów, przy niekorzystnych warunkach dla rozprzestrzeniania w powietrzu (inwersja) i niskich wyrzutniach, stężenie etylobenzenu może być jednak znacznie wyższe, co wynika ze stosunkowo wysokich dopuszczalnych stężeń na stanowiskach pracy 100-350 (NDSCh) mg/m³ [2], powodujących, że stężenia etylobenzenu w powietrzu wentylacyjnym mogą być bliskie temu wyższemu, a nawet je przekraczać. Ponadto etylobenzen, którego pary mają gęstość większą od powietrza, łatwo gromadzi się w zagłębieniach terenu, co dodatkowo przyczynia się do zwiększenia skażenia nim środowiska. Organizmy żywe, w tym rośliny ekosystemów zlokalizowanych w bliskich odległościach od źródeł emisji etylobenzenu, mogą być więc narażone na jego toksyczne oddziaływanie.

Celem pracy było zbadanie reakcji fizjologicznej siewek, zmian morfologicznych i anatomicznych na stres wywołany, obecnością etylobenzenu.

2. Materiał i metody

Doświadczenia przeprowadzono w komorach fitotronowych o pojemności 25 dm³ z kontrolowaną atmosferą i fotoperiodem. Wilgotność względna wynosiła 80%, temperatura 20°C, a natężenie promieniowania fotosyntetycznie czynnego Phar 200-300 μmol/(m²·s¹). Stosowane stężenia etylobenzenu w powietrzu: 81, 243, 730, 2190 i 6570 mg/m³ uzyskiwano poprzez wstawienie do każdej z komór naczynka z roztworem etylobenzenu w oleju silikonowym o odpowiednim stężeniu (równowagowa prężność jego par w 20°C wynosi 930 Pa [3]). Założone stężenie etylobenzenu ustalało się po około 6 godzinach, co stwierdzono

wykonywając analizy chromatograficzne. Odchylenia stężeń od oczekiwanych wartości mieściły się w przedziale +10 – 20%. Następnie w komorach umieszczano doniczki z nasionami pszenicy ozimej, odmiany Tonacja (po 10 w każdej doniczce), wysianymi do gleby o składzie granulometrycznym gliny lekkiej pylistej i odczynie ($\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}} = 7,0$). Doświadczenie przeprowadzono w trzech seriach w czterech powtórzeniach. Nasiona oraz wyrastające z nich siewki były poddane ciągłemu oddziaływaniu powietrza, zawierającego etylobenzen w podanych wyżej stężeniach przez okres około trzech tygodni. W 18. dniu na siewkach pszenicy wykonywano niżej wymienione pomiary.

Deskryptory reakcji fizjologicznej roślin wyznaczano mierząc analizatorem LCA-4 (ADC Bioscientific Ltd. Hoddesdon, Wielka Brytania) parametry wymiany gazowej, takie jak intensywność asymilacji CO_2 (A) [$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s}^1)$] i transpiracja (E) [$\text{mmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s}^1)$]. Kamera pomiarowa obejmowała fragment liścia o powierzchni $0,5 \text{ cm}^2$. Oznaczano też indeks szparkowy (liczba aparatów szparkowych na 1 mm^2) za pomocą mikroskopu CX21 SD/SF firmy Olympus Optical CO.LTD Tokio, Japan. Fotografie wykonano aparatem cyfrowym C5050Z Olympus Optical CO.LTD Tokio, Japan. Parametry biometryczne tj. wysokość roślin oznaczono przymiarem liniowym (cm). Efektywność wykorzystania wody (WUE, $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol}^1 \text{H}_2\text{O}$) wyliczano jako stosunek asymilacji CO_2 do transpiracji.

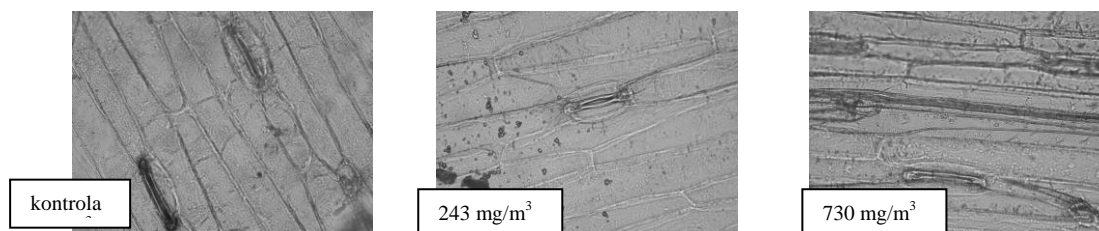
3. Wyniki i dyskusja

Opierając się na uzyskanych wynikach badań, przy jednoczesnym niedostatku tematycznych doniesień literaturowych, trudno jest precyzyjnie wyjaśnić wywoływane oddziaływaniem par etylobenzenu zmiany aktywności fizjologicznej siewek pszenicy oraz apertury aparatów szparkowych. Z kilku powodów, w tym czysto ekologicznych, takie wysiłki są konieczne i już wcześniej wielu autorów wskazywało na celowość prowadzenia badań nad fitotoksycznym oddziaływaniem lotnych związków organicznych, w tym etylobenzenu [4-7].

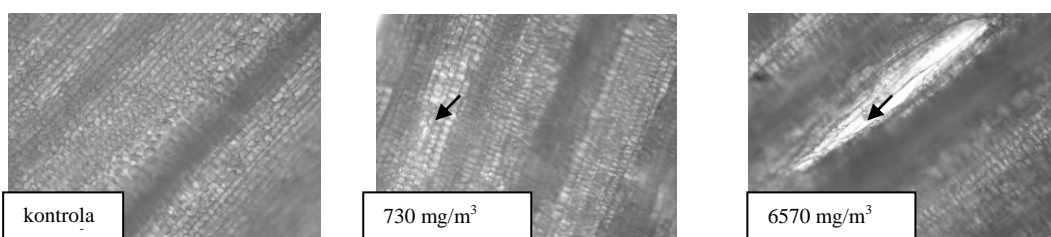
Z wykonanych badań wynika że etylobenzen przy zastosowanych stężeniach miał wyraźny wpływ na termin kiełkowania nasion pszenicy. Nasiona pszenicy w obiekcie kontrolnym i przy stężeniu etylobenzenu w powietrzu $81 \text{ mg}/\text{m}^3$ skiełkowały po 7 dniach, przy stężeniach od $730\text{-}2190 \text{ mg}/\text{m}^3$ – po 10 dniach, a przy stężeniu $6570 \text{ mg}/\text{m}^3$ – po 12 dniach od terminu siewu. Wskazuje to, że etylobenzen przy większych stężeniach działa inhibitująco na kiełkowanie pszenicy. Ponadto siewki pszenicy rosnące w atmosferze, w której stężenie etylobenzenu mieściło się w zakresie od $2190\text{-}6570 \text{ mg}/\text{m}^3$, charakteryzowały się wyraźnie wolniejszym wzrostem elongacyjnym w stosunku do kontroli i wykazywały zmiany morfologiczne, redukując szczególnie powierzchnie liści. Przy stężeniu etylobenzenu $6570 \text{ mg}/\text{m}^3$ blaszki liściowe pszenicy były wyraźnie grubsze, sztywniejsze, wysyczone większą ilością sklerenchymy, z dużą warstwą kutyny i wosku. Są to cechy roślin kseromorficznych pozwalające im racjonalnie gospodarować wodą.

W warunkach wysokiego stężenia etylobenzenu, $730\text{-}6570 \text{ mg}/\text{m}^3$, obserwowano też postępującą plazmolizę komórek epidermy, odwodnienie komórek szparkowych i deformację aparatów szparkowych (rys.1.) Zdaniem McLachlana [8], lotne związki organiczne są pobierane przez aparaty szparkowe, co między innymi przejawia się zmianami indeksu szparkowego. Zjawisko to potwierdzili też Stolarska i in. [9], badając wpływ lotnego styrenu na wzrost roślin. W niniejszej pracy stwierdzono, że pary etylobenzenu w stężeniach powyżej $2190 \text{ mg}/\text{m}^3$, przyczyniały się do odwodnienia komórek szparkowych i zmian ich kształtu, ale nie miały istotnego wpływu na ilość aparatów szparkowych (tabela 1). Wraz ze wzrostem stężenia etylobenzenu obserwowano postępujące chlorozy i nekrozy (rys. 2). Podobne objawy

toksycznego oddziaływania na rośliny uprawne zaobserwował Miller [10], w odniesieniu do benzenu oddziałującego przy stężeniu 10 000 mg/m³.



Rys. 1. Obraz mikroskopowy aparatów szparkowych liści pszenicy pod wpływem oddziaływania par etylobenzenu

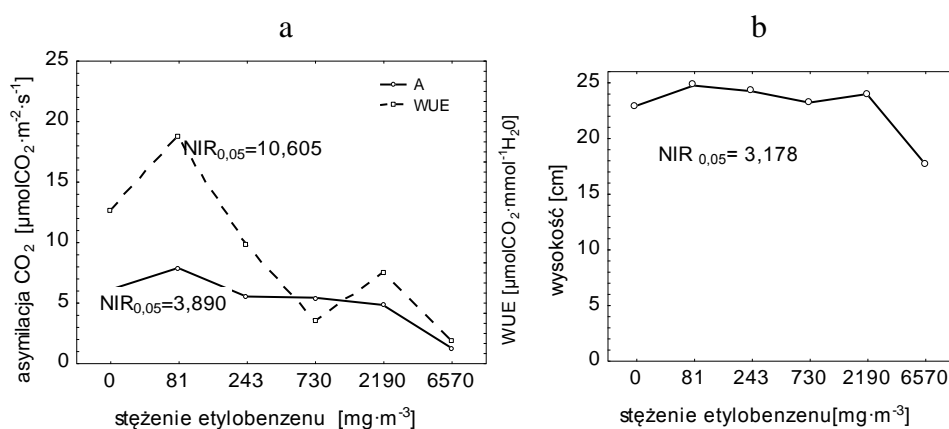


Rys. 2. Obraz mikroskopowy epidermy z zaznaczonymi nekrozami i chlorozami wywołanymi oddziaływaniem par etylobenzenu

Tabela 1. Wpływ etylobenzenu na liczbę aparatów szparkowych

Stężenie, mg/m ³	Ilość aparatów/mm ²
0,0	100
81	110
243	90
730	100
2190	98
6570	124
NIR _{0,05}	40

W pracy wykazano również istotny wpływ par etylobenzenu na reakcję fizjologiczną siewek pszenicy (rys. 3a).



Rys. 3. Wpływ par etylobenzenu na asymilację CO₂, efektywność wykorzystania wody w fotosyntezie (a) oraz wysokość siewek (b)

Przy najniższym zastosowanym stężeniu etylobenzenu w komorze, siewki pszenicy intensywnie asymilowały dwutlenek węgla i efektywnie wykorzystywały wodę w tym procesie. Wartości tych parametrów były istotnie większe od stwierdzonych u siewek narażonych na oddziaływanie etylobenzenu w stężeniach 2190 i 6570 mg/m³. Tendencja zmian w efektywności wykorzystania wody w fotosyntezie bardzo dobrze korespondowała ze zmianami w wysokości siewek (rys. 3b).

4. Wnioski

Pary etylobenzenu istotnie wpływały na aktywność fizjologiczną siewek pszenicy odmiany Tonacja; stymulowały aktywność fotosyntetyczną siewek przy najmniejszym stężeniu (81 mg/m³), a hamowały przy stężeniach powyżej 730 mg/m³

Etylobenzen o stężeniu w powietrzu 2190 i 6570 mg/m³ powodował wyraźne ograniczenie kiełkowania nasion pszenicy oraz przyczyniał się do degradacji chlorofilu i tworzenia się nekroz na liściach siewek pszenicy

Siewki pszenicy rosnące w atmosferze zawierającej etylobenzen o stężeniu 6570 mg/m³ charakteryzowały dużą ilością wosku i kutyny oraz sklerenchymy, co jest charakterystyczne dla roślin kseromorficznych.

Literatura

1. Rozporządzenie Ministra Ochrony Środowiska, Zasobów Naturalnych i Leśnictwa z dnia 28 kwietnia 1998 r. w sprawie dopuszczalnych wartości stężeń substancji zanieczyszczających w powietrzu. (Dz. U. Nr 55, poz. 355)
2. Rozporządzenie Ministra Pracy i Polityki Społecznej, z dnia 29 listopada 2002 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. (Dz. U. 2002 Nr 217, poz. 1833)
3. Centralny Instytut Ochrony Pracy, ETYLOBENZEN C₈H₁₀ 0225, <http://www.ciop.pl/3821.html>
4. Wagrowski, D.M., Hites, R. A.: Polycyclic aromatic hydrocarbon accumulation in urban, suburban and rural vegetation. *Environ. Sci. Technol.*, 1997, vol. 31, 279-282
5. Nakajima D., Teshima T., Ochiai M., Tabata M., Suzuki J., Suzuki S.: Determination of 1-nitropyrene retained in leaves in roadside trees. *B. Environ Contam. Tox.*, 1994, vol. 53, 888-894
6. Simonach S.L., Hites, R.A.: Vegetation – atmosphere partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ. Sci. Technol.*, 1994, vol. 28, 939-943
7. Horstmann, M, McLachan, M.S.: Atmospheric deposition of semivolatile organic compounds to two forest canopies. *Atmos. Environ.*, 1998, vol. 32, 1799-1809
8. McLachlan M.S.: Framework for the interpretation of measurement of SOCs in plants. *Environ. Sci. Technol.*, 1999, vol. 33, 1799-1804
9. Stolarska A, Przybulewska K, Wieczorek A.: The physiological activity of wheat seedlings exposed to chemical stress induced by volatile styrene. *Chemosphere*, 2008, skierowany do druku
10. Miller T.A., Rosenblatt D.H., Darce J.C., Pearson J.G., Kulkarni R.K., Welch J.L., Cogley D.R., Woodard G.: Problem definition studies on potential environmental pollutants. 4. Physical, chemical, toxicological and biological properties of benzene, toluene, xylenes and p-chlorophenyl methyl sulfide, sulfoxide and sulfone. Army Medical Bioengineering Research and Development Lab Fort Detrick MD, 1976, <http://handle.dtic.mil/100.2/ADA040435>