

**VPLYV IÓNOV KADMIA NA VYBRANÉ MORFOLOGICKO-FYZIOLOGICKÉ CHARAKTERISTIKY BÔBU OBYČAJNÉHO CV. AŠTAR**  
**EFFECTS OF CADMIUM IONS ON SELECTED MORPHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF FABA BEAN CV. AŠTAR**

*Beáta Piršelová, Peter Lukáč, Terézia Dobroviczská, Patrik Mészáros, Jana Libantová, Jana Moravčíková, Ildikó Matušíková*

**ABSTRACT**

Many aspects of toxic effects of cadmium on plants are clarified, results of several physiological and biochemical analyses are, however, contradictory. In addition, high variability of plant responses to ions of heavy metals also with respect to genotype complicates the ambiguity of conclusions. The aim of this work was to evaluate some morphological and physiological aspects of sensitivity of faba bean cv. Aštar to ions of cadmium in two working concentrations 50 and 100 mg of Cd<sup>2+</sup> per kg of soil. The analysed cultivar of faba bean exerted based on the tested parameters such as length and weight of roots and shoots as well as fresh weight of roots relatively higher rate of tolerance. Despite of no significant visual symptoms of cadmium toxicity, we detected a decrease of dry mass in roots (above 25% at both the tested concentrations of Cd) and decreased content of photosynthetic pigments (by 37-41% of chlorophyll a) in leaves. At the same time, the number of stomata significantly decreased, especially at higher doses of cadmium. In contrast, the content of carotenoids decreased (by 24-26%) in leaves. More in depth analyses might contribute to identifying further possible mechanisms of cadmium tolerance of this faba bean cultivar.

**Keywords:** plant stress, heavy metals, toxicity, *Vicia faba*, tolerance

---

**ÚVOD**

Čeľaď bôbovité je z poľnohospodárskeho hľadiska jednou z najvýznamnejších čeľadí. Z domácich strukovín sa pre semená s vysokým obsahom bielkovín pestuje najmä sója, bôb a hrach siaty (Špaldoň, 1982). Hoci mnohé aspekty toxického účinku kadmia na rastliny sú objasnené, výsledky niektorých fyziologických a biochemických analýz sú kontroverzné. Zmeny v procesoch fotosyntézy a vodného režimu účinkom kadmia u rastlín z čeľade kapustovité sa napríklad výrazne odlišujú (Baryla et al., 2001, Larsson et al., 1998, Haag-Kerwer et al., 1999). Vysokú variabilitu v klíčení semien napr. zaznamenali aj u rôznych odrôd bôbu (Rahoui et al., 2008). Veľká variabilita v reakcii rastlín na ťažké kovy prináša stále nové otázky, ktorých riešenie môže zohrávať dôležitú úlohu z hľadiska zachovania čistoty životného prostredia a zdravia človeka. Bôb napriek veľkej biomase nie je vhodnou rastlinou na dekontamináciu pôd (fytoremediáciu), nakoľko akumuluje značnú časť kadmia v koreňoch. Cieľom našich experimentov bolo posúdiť citlivosť vybranej odrody bôbu voči iónom kadmia na základe morfológických (dĺžka a hmotnosť koreňov a výhonkov) a fyziologických charakteristík (obsah sušiny, počet prieduchov a množstvo chlorofylu) a poukázať na možné mechanizmy rezistencie tejto rastliny na ióny kadmia.

**MATERIÁL A METODIKA**

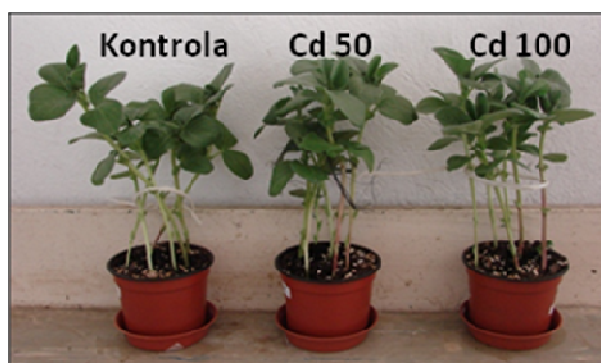
Sterilizované semená bôbu obyčajného (*Vicia faba* L. cv. Aštar) sme nechali napučiať 24 hodín v destilovanej vode a následne nakličovali na Petriho miskách (Ø 15 cm) s navlhčeným filtračným papierom v tme. Po 3 – 4 dňoch nakličovania sme približne rovnako naklíčené semená zasiali do plastových nádob (15 cm Ø; 250 ml), do 150 g zmesi rašeliny a perlitu (v pomere 4:1), zaliatej destilovanou vodou, ktorá zodpovedala maximálnej sorpčnej kapacite pôdy (~100 ml). Rastliny sme nechali rásť do štádia prvých asimilačných listov. Následne

sme ich zaliali destilovanou vodou (rastliny kontrolného variantu) alebo roztokmi ťažkých kovov do výslednej koncentrácie 50 mg a 100 mg Cd<sup>2+</sup>/kg substrátu. Zálievky v ďalších štádiách pokusu už neobsahovali kov a aplikovali sme ich podľa potreby v podobe destilovanej vody, ktorej množstvo zodpovedalo polovičnej dávke maximálnej sorpčnej kapacity substrátu (50 ml). Nádobové pokusy sme uskutočnili v rastovej komore s kontrolovanou klímou pri teplote 20 °C, vlhkosti vzduchu 60 - 70 %, svetelnej perióde 12 hod. svetlo/12 hod. tma, pri intenzite žiarenia maximálne 800 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>. Po 10 dňoch sme výhonky oddelili od koreňov, korene očistili od pôdy a dôkladne premyli vodou. Následne sme odmerali ich dĺžku, čerstvú a suchú hmotnosť, hustotu prieduchov (počet v zornom poli svetelného mikroskopu prepočítaný na 1 mm<sup>2</sup>) na adaxiálnej a abaxiálnej strane listu v 20 opakovaniach každého variantu. Prieduch s úplnou absenciou prieduchovej štrbiny sme vykazovali ako uzatvorený. Obsah chlorofylov sme stanovili podľa Lichtenthaler a Wellburn (1983) a prepočítali na 1 g listov. Pokus sme uskutočnili v troch opakovaniach. Toleranciu koreňov a výhonkov k iónom ťažkých kovov sme stanovili tolerančným indexom podľa Wilkinsa (1978).

Získané údaje sme analyzovali matematicko-štatistickými metódami pomocou programu MS Excel. Signifikantnosť rozdielov pri porovnávaní súborov sme stanovili Studentovým t-testom.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

V rámci experimentu rastliny bôbu nevykazovali navonok žiadne vizuálne symptómy toxického účinku kovu (Obr. 1). Pri zvolených dávkach kadmia 50 a 100 mg.kg<sup>-1</sup> pôdy sme nedetegovali žiadne výrazné zmeny týkajúce sa dĺžok a biomasy výhonkov oproti kontrolným rastlinám. Mierne stimulačný účinok nižšej dávky kadmia na rastové parametre výhonkov môže byť daný účinkom NO<sub>3</sub><sup>-</sup> iónov v aplikovanom roztoku kovu. Zmeny v obsahu sušiny v koreňoch, obsahu chlorofylu *a* a karotenoidov v listoch naznačujú, že rastlina na zmenené podmienky prostredia reaguje a do určitej miery bráni.



**Obrázok 1** Vplyv iónov kadmia na rast bôbu obyčajného cv. Aštar. Koncentrácia kovu je vyjadrená v mg.kg<sup>-1</sup> pôdy.

Korene reagovali na zvolené dávky kadmia citlivejšie, inhibičný účinok kadmia sa prejavil v poklese čerstvej hmotnosti koreňov o 26% (Cd 50) a 33% (Cd 100), ako aj sušiny (24 resp. 18 % pri jednotlivých koncentráciách Cd) (Tab. 1).

Inhibíciu rastu bôbu v závislosti od dávky kovu pozorovali aj Perfus-Barbeoch et al. (2002). Zvýšená citlivosť koreňov je zrejme daná zvýšenou akumuláciou kovu v koreňoch. Dávky 50 a 100 mg kg<sup>-1</sup>/ pôdy aplikované v podobe CdCl<sub>2</sub> na rastliny podzemnice olejnej spôsobili až 43% a 55% zmenšenie biomasy výhonkov a 13% a 41% zmenšenie biomasy koreňov (Shi and Caia, 2009).

Citlivejšie reagoval na dávky kadmia fotosyntetický aparát, čo sa prejavilo redukciou obsahu najmä chlorofylu *a* (o 37 a 41%) a karotenoidov (o 26 a 24%). Zmeny v obsahu chlorofylu *b*

sa prejavili iba pri vyššej dávke kadmia (redukcia obsahu o 7%) (Tab. 1). Negatívny dopad na efektivitu fotosyntetického aparátu je jedným z typických znakov účinku mnohých abiotických stresov ako sucho, vysoká teplota, a taktiež ťažké kovy. Okrem týchto zmien bola v pletivách bôbu pozorovaná aj zvýšená akumulácia fytochelatínov (Béraud et al., 2007) a fenolov (Megías et al., 2009), ktoré napomáhajú tejto plodine vysporiadať sa so zvýšenou environmentálnou záťažou prostredia. V koreňoch bôbu odrody Aštar bola pozorovaná aj de novo syntéza izoforiem chitináz, ktoré pravdepodobne tiež zohrávajú určitú úlohu v obranných procesoch tejto rastliny voči iónom kadmia (Békésiová et al., 2008).

**Tabuľka 1** Vplyv iónov kadmia na morfológické a fyziologické parametre bôbu obyčajného cv. Aštar

parameter	korene		
	K	Cd 50 (mg.l <sup>-1</sup> )	Cd 100 (mg.l <sup>-1</sup> )
dĺžka (cm)	25,06 ± 6,01	25,71 ± 5,99	25,95 ± 6,36
čerstvá hmotnosť (g/rastlina)	2,78 ± 0,95	2,06 ± 0,84 *	1,86 ± 0,85 *
hmotnosť sušiny (g/rastlina)	0,17 ± 0,03	0,13 ± 0,03 *	0,14 ± 0,03 *
	výhonky		
dĺžka (cm)	19,81 ± 3,78	20,58 ± 3,00	21,28 ± 2,55
čerstvá hmotnosť (g/rastlina)	3,52 ± 0,94	3,67 ± 0,71	3,98 ± 0,80
hmotnosť sušiny (g/rastlina)	0,28 ± 0,09	0,31 ± 0,04	0,31 ± 0,05
	listy		
obsah chlorofylu a (mg/g)	0,51 ± 0,04	0,32 ± 0,03 ***	0,30 ± 0,07 ***
obsah chlorofylu b (mg/g)	0,29 ± 0,02	0,29 ± 0,02	0,27 ± 0,02 *
pomer chlorofylov a/b	0,018	1,10	1,110
obsah karotenoidov (mg/g)	1,45 ± 0,10	1,08 ± 0,12 ***	1,10 ± 0,17 ***
	adaxiálna strana listu		
počet prieduchov/mm <sup>2</sup> listovej plochy	53,62 ± 12,54	49,58 ± 10,64	58,20 ± 9,54 *
počet otvorených prieduchov/ mm <sup>2</sup> listovej plochy	48,99 ± 11,72	35,56 ± 14,99 ***	24,78 ± 15,14 ***
	abaxiálna strana listu		
počet prieduchov/mm <sup>2</sup> listovej plochy	81,48 ± 12,83	76,43 ± 17,84	84,35 ± 17,93 ***
počet otvorených prieduchov/ mm <sup>2</sup> listovej plochy	79,07 ± 15,36	67,35 ± 17,09 ***	50,13 ± 19,85 ***

Údaje zodpovedajú priemeru ± štandardná odchýlka (n=15).

Na abaxiálnej aj adaxiálnej strane listu sme zaznamenali štatisticky významné zmeny v počte prieduchov ako dôsledok aplikácie vyššej dávky kadmia (Tab. 1). Zvýšený počet prieduchov epidermy vplyvom ťažkých kovov zaznamenali aj iní autori (Weryszko-Chmielewska and Chwil, 2006; Shi and Caia, 2009). Naopak, listy rezistentných druhov vykazujú xeromorfné charakteristiky, ktoré pravdepodobne pomáhajú rastlinám adaptovať sa na zvýšené koncentrácie ťažkých kovov a plynov (Kutschera-Mitter et al., 1982; Nikolaevkij, 1989). Vplyvom kadmia dochádza k zatváraní prieduchov (Tab. 1), čo spôsobuje zníženú difúziu

CO<sub>2</sub> do listov a následné narušenie fotosyntetického aparátu. Nie vždy sa však znižuje výťažok fotosystému II (Perfus-Barbeoch et al., 2002).

Veľkosť prieduchovej štrbiny podľa (Rahoui et al., 2008) nie je úmerná koncentrácii kadmia. Do určitej koncentrácie sa veľkosť štrbín znižuje a pri vyššej dávke naopak znižuje. Táto skutočnosť sa nám však pri nami testovaných dávkach nepotvrdila. Vplyv iónov kadmia na činnosť prieduchov doteraz nie je celkom objasnená. Predpokladá sa priamy účinok na zatváracé bunky prieduchov, do ktorých sa ióny kadmia dostávajú prostredníctvom Ca<sup>2+</sup> prenášačov, pričom K<sup>+</sup> prenášače nie sú ovplyvnené iónmi tohto kovu (Perfus-Barbeoch et al., 2002).

## ZÁVER

Mnohé aspekty toxického účinku kadmia na rastliny sú objasnené, výsledky niektorých fyziologických a biochemických analýz sú však kontroverzné. Zároveň vysoká variabilita reakcií rastlín na ióny ťažkých kovov v závislosti od genotypu komplikuje jednoznačnosť záverov. Cieľom tejto práce bolo zhodnotiť niektoré morfológické a fyziologické aspekty citlivosti bôbu obyčajného (cv. Aštar) k iónom kadmia v dvoch pracovných koncentráciách 50 a 100 mg Cd<sup>2+</sup>kg<sup>-1</sup> pôdy. Testovaná odroda bôbu vykazovala na základe testovaných parametrov, akými sú dĺžka a hmotnosť výhonkov a čerstvá hmotnosť koreňov, pomerne vysokú mieru tolerancie. Napriek tomu, že žiadne výrazné vizuálne symptómy toxického účinku kovu neboli zreteľne viditeľné, detekovali sme zníženie obsahu sušiny v koreňoch (vyššie 25 % pri oboch testovaných koncentráciách kadmia v pôde) aj obsahu fotosyntetických pigmentov (37-41% chlorofylu a) v listoch. Zároveň sa signifikantne zvýšil počet prieduchov v listoch, najmä vplyvom vyššej dávky kadmia. Naopak, znížil sa obsah karotenoidov (o 24-26%) v listoch. Hlbšie biochemické a molekulárno-biologické analýzy môžu prispieť k odhaleniu ďalších možných mechanizmov odolnosti tejto odrody bôbu voči iónom kadmia.

## LITERATÚRA

- BARYLA, A., CARRIER, P., FRANCK, F., COULOMB, C., SAHUT, C., HAVAUX, M., 2001. Leaf chlorosis in oilseed rape plants (*Brassica napus*) grown on cadmium-polluted soil: causes and consequences for photosynthesis and growth. In *Planta*, roč. 212, 2001, s. 696–709.
- BÉKÉSIOVÁ, B., HRAŠKA, Š., LIBANTOVÁ, J., MORAVČÍKOVÁ, J., MATUŠÍKOVÁ, I., 2008. Heavy-metal stress induced accumulation of chitinase isoforms in plants. In *Mol Biol Rep*, roč. 35, 2008, s. 579–588.
- BÉRAUD, E., COTELLE, S., LEROY, P., FÉRARD, J. F., 2007. Genotoxic effects and induction of phytochelatins in the presence of cadmium in *Vicia faba* roots. In *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, roč. 633, 2007, č. 2, s. 112–116
- HAAG-KERWER, A., SCHAFFER, H. J., HEISS, S., WALTER, C., RAUSCH, T., 1999. Cadmium exposure in *Brassica juncea* causes a decline in transpiration rate and leaf expansion without effect on photosynthesis. In *J. Exp. Bot.*, roč. 341, 1999, s. 1827–1835.
- KUTSCHERA-MITTER, L., LICHTENEGGER, E., SOBOTIK, M., 1982. Vegetationswandel und Schadgasbelastung auf Grün- und Ackerland. In: Halbwachs, G. (ed), *Das Immisionsökologische Projekt Arnoldstein. Sonderh.*, roč. 39, 1982, s. 121–168.
- LARSSON, E. H., BORNMAN, J. F., ASP, H., 1998. Influence of UV-B radiation and Cd<sup>2+</sup> on chlorophyll fluorescence, growth and nutrient content in *Brassica napus*. In *J. Exp. Bot.*, roč. 323, 1998, s. 1031–1039.
- LICHTENTHALER, H. K., WELLBURN, A. R., 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. In *Biochem Soc Trans*, roč. 11, 1983, s. 591–592.

- Megfás, C., Pastor-Cavada, E., Torres-Fuentes, C., Girón-Calle, J., Alaiz, M., Juan, R., Pastor, J., Vioque, J., 2009. Chelating, antioxidant and antiproliferative activity of *Vicia sativa* polyphenol extracts. In *Journal European Food Research and Technology*, roč. 230, 2009, s. 353–359.
- NIKOLAEVKIJ, V. S., 1989. Ecologo-Morphological Basis of Gas Resistance of Plants. In *Moscovsk. Inst. Forest. Publ.*, Moscow (in Russian).
- PERFUS-BARBEOCH, L., LEONHARDT, N., VAVASSEUR, A., FORESTIER, C., 2002. Heavy metal toxicity: cadmium permeates through calcium channels and disturbs the plant water status. In *The Plant Journal*, roč. 32, 2002, s. 539–548.
- RAHOUI, S., CHAOUI, A., EL FERJANI, E. 2008. Differential sensitivity to cadmium in germinating seeds of three cultivars of faba bean (*Vicia faba* L.). In *Acta Physiol Plant*, roč. 30, 2008, s. 451–456.
- SHI, G., CAIA, Q., 2009. Leaf plasticity in peanut (*Arachis hypogaea* L.) in response to heavy metal stress. In *Environmental and Experimental Botany*, roč. 67, 2009, s. 112–117.
- ŠPALDOŇ, E., 1982. Rastlinná výroba. Bratislava : Príroda, 1982, 628 s.
- WERYSZKO-CHMIELEWSKA, E., CHWIL, M., 2006. Lead-Induced Histological and Ultrastructural Changes in the Leaves of Soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). In *Soil science and plant nutrition*, roč. 51, 2006, č. 2. s. 203-212.
- WILKINS, D. A., 1978. The measurement of tolerance to edaphic factors by means of root length. In *The New Phytologist*, roč. 80, 1978, s. 623-633.

**Pod'akovanie:**

Práca bola vypracovaná v rámci riešenia projektov APVV LPP-0125-07 a COST FA 0605

**Kontaktná adresa:**

RNDr. Beáta Piršelová, PhD., Mgr. Peter Lukáč, Mgr. Terézia Dobroviczka, Mgr. Patrik Mészáros, Katedra botaniky a genetiky, UKF Nitra, Nábřežie mládeže 91, 949 74 Nitra, [pirselova@ukf.sk](mailto:pirselova@ukf.sk)

Ing. Jana Libantová, CSc., Ing. Jana Moravčíková, CSc., Mgr. Ildikó Matušiková, PhD. Ústav genetiky a biotechnológií rastlín SAV, Akademická 2, P.O. Box 39A, 950 07 Nitra, [ildiko.matusikova@savba.sk](mailto:ildiko.matusikova@savba.sk)