

J. STANISŁAW KNYPL

## CZY NIKIEL JEST PIERWIĄSTKIEM NIEZBĘDNYM DLA ROŚLIN?

## Występowanie niklu w roślinach

Aczkolwiek nikiel nie jest zaliczany do pierwiastków niezbędnych, występuje w roślinach wyższych regularnie, zwykle w ilościach od 0,1 do 5  $\mu\text{g g}^{-1}$  suchej masy (s.m.) (Ruszkowska 1976, Školnik 1974) przy czym z reguły osiąga wyższe stężenia w nasionach niż w tkankach wegetatywnych (Vanselow 1966). Jednak w przypadku niektórych endemitów — przystosowanych do gleb serpentynowych (Ernst 1974) lub gleb skrajnie alkalicznych, zawartość NiO może przekraczać 10% składników popielnych (Brooks i wsp. 1974, Ernst 1976, Jaffré i wsp. 1976). Gatunki takie, należące łącznie do dwunastu rodzajów (Brooks i wsp. 1979), mogą być wykorzystywane jako swoiste biologiczne wskaźniki zawartości tego metalu w glebach (Brooks i Wither 1977, Brooks i wsp. 1977, Malyuga 1964).

Do „niklolubnych” należą gatunki z rodzaju *Alyssum* (*Cruciferae*), a przede wszystkim endemiczna dla gleb serpentynowych Toskanii bylina *A. bertolonii* Desv. (Minguzzi i Vergnano 1948), endemiczna dla Portugalii *A. serpyllifolium* Desf. ssp. *lusitanicum* Dudley et da Silva (Menzes de Sequeira 1969) oraz *A. murale* Wald. et Kit., *A. tortosum* Willd., *A. argenteum* Allioni i *A. obovatum* (C. A. Meyer) Turcz. (Brooks i Radford 1978, Malyuga 1964, Paribok i Alekseewa-Popova 1966, Ritter-Studnička i Dursun-Grom 1973). Najnowsze analizy materiału zielnikowego wykazały, iż z ogólnej liczby 168 gatunków z rodzaju *Alyssum* aż 46 należy do grupy „hyperakumulatorów” niklu, tj. gromadzących ponad  $\text{mg Ni g}^{-1}$  s.m. Wszystkie te gatunki należą do sekcji *Odontarrhena*, przy czym 14 występuje w Europie a 31 w Turcji i wschodnich rejonach basenu śródziemnomorskiego; sporadycznie występują w Iranie, na Kaukazie, Uralu i Alasce (Brooks i wsp. 1979).

*Alyssum murale* (stanowisko w greckich Bałkanach), *A. cypricum* E. Nyárády (Turcja), *A. corsicum* Duby (Cypr, Korsyka i Kreta) oraz *A. lesbiacum* (Candárgy) Rechinger f. (grecka wyspa Lésvos) gromadząc 12,3—23,6  $\text{mg Ni}^{2+} \text{g}^{-1}$  s.m. zajmują zdecydowanie czołowe miejsce na liście hyperakumulatorów niklu (Brooks i wsp. 1979).

Duże ilości niklu oraz innych metali ciężkich gromadzi rodezyjski endemit *Pearsonia metallifera* Wild (Wild 1974) oraz *Clethra barbinervis* Sieb. et Zucc. (Okamoto i wsp. 1978). Co najmniej 11 gatunków roślin akumulujących Ni wykryto na Nowej Kaledonii i Nowej Zelandii (tabela I). Nowokaledońskie hyperakumulatory

TABELA I

Zawartość niklu i kwasu cytrynowego w roślinach o różnej zdolności akumulowania Ni. Tabelę wg Lee i wsp. (1978) [1] zmodyfikowano i uzupełniono o dane Vergnano Gambi i wsp. (1977) [2] oraz Brooksa i Radforda (1978) [3]. Listę rozpoczynają gatunki z Nowej Kaledonii; gatunki z innych rejonów zaznaczono \*. Zawartość niklu i kwasu cytrynowego podano w  $\mu\text{g g}^{-1}$  suchej masy

Gatunek	Nikiel	Kwas cytrynowy	Literatura
<i>Homalium mathieuanum</i> (Vieill.) Briq.	14,7	170	1
<i>H. polystachyum</i>	46,4	3000	1
<i>H. intermedium</i>	74,6	1190	1
<i>H. le-ratorium</i>	446	7170	1
<i>H. decurrens</i>	505	5590	1
<i>H. austrocaledonicum</i> Seeman	622	5630	1
<i>H. kanaliense</i> (Vieill.) Briq.	3730	14800	1
<i>H. francii</i> Guillaumin	7210	12600	1
<i>H. guillainii</i> (Vieill.) Briq.	9580	13600	1
<i>Hybanthus caledonicus</i> (Turcz.) Cretz.	6820	10900	1
<i>H. austrocaledonicus</i> Schinz et Guillaumin	14900	18600	1
<i>Geissois pruinosa</i> Brongn. et Gris.	6720	9760	1
<i>Psychotria douarrei</i> (G. Beauvis) Däniker	13400	9740	1
<i>Sebertia acuminata</i> Pierre et Baill. (liście)	10200	11100	1
<i>S. acuminata</i> (lateks)	167000	250000	1
* <i>Alyssum bertolonii</i> Desv.	2590	2500	1
* <i>A. bertolonii</i>	7060		3
* <i>A. bertolonii</i>	15600		2
* <i>A. serpyllifolium</i> Desf. ssp. <i>lusitanicum</i> Dudley et P. da Silva	9330	2650	1
* <i>A. serpyllifolium</i> ssp. <i>lusitanicum</i>	5860		3
* <i>Pearsonia metallifera</i> Wild	10600	2500	1

Ni należą do następujących rodzajów i rodzin: *Geissois* Labillardière — *Cunoniaceae* (Jaffré i Schmid 1974); *Homalium* N. Jacquin — *Flacourtiaceae* (Brooks i wsp. 1974, Jaffré i Schmid 1974); *Hybanthus* N. Jacquin — *Violaceae* (Brooks i wsp. 1974, Jaffré i Schmid 1974); *Psychotria* Linnaeus — *Rubiaceae* (Jaffré i Schmid 1974); oraz *Sebertia* Pierre — *Sapotaceae* (Jaffré i wsp. 1976). Z 16 gatunków *Homalium* rozpoznanych na Nowej Kaledonii, aż 7 gromadzi duże ilości Ni. Rosną one na glebach ultraalkalicznych. Wszystkie superakumulatory  $\text{Ni}^{2+}$  przystosowane są do warunków skrajnych; niejednokrotnie są jedynymi przedstawicielami roślin wyższych na terenach gleb serpentynowych (Brooks i wsp. 1979).

Uwagi godny jest fakt akumulacji niklu w skamielinach okresu karbońskiego przede wszystkim u przedstawicieli *Calamariaceae* i *Pteridospermatae* (Meisch i wsp. 1978), ponieważ nikiel ten uwalniany jest obecnie do środowiska przy spalaniu kopalin, głównie węgla kamiennego.

#### Dystrybucja niklu w roślinach

Zawartość Ni w *Alyssum bertolonii* zależy w dużej mierze od rodzaju podłoża. Na glebach serpentynowych Toskanii waha się ona od 231 do 340  $\mu\text{moli g}^{-1}$  s.m. (zależnie od pory roku); a na glebie ogrodowej obniża się do 0,56—0,65  $\mu\text{moli g}^{-1}$  s.m. (Pancaró i wsp. 1978). Nadmienić należy, iż na glebie ogrodowej wymieniony gatunek źle rośnie. Zdaje się to świadczyć, iż Ni jest niezbędny do prawidłowego przebiegu procesów życiowych w tej roślinie. Jednak fakt występowania ogromnych ilości Ni w roślinach z naturalnych stanowisk nie oznacza, iż wszystkie metal jest czynny metabolicznie. Znaczna jego część zlokalizowana jest w wakuolach (Vergnano Gambi 1967) bądź skompleksowana (Lee i wsp. 1978).

Zawartość Ni w *A. bertolonii* ze stanowisk naturalnych zależy od długości okresu wegetacji. Jest ona niska w młodych pąkach bocznych (6,5  $\text{mg g}^{-1}$  s.m.), rozwijających się liściach (3  $\text{mg g}^{-1}$  s.m.) i w młodocianych pędach (7,5  $\text{mg g}^{-1}$  s. m.), po czym w ciągu kilkunastu dni szybko wzrasta (Vergnano Gambi i wsp. 1977). Stosunkowo dużo Ni występuje w drewnie oraz uschłych łodygach, analizowanych wiosną następnego roku. Około 80% Ni w tej roślinie występuje w formie rozpuszczalnej w wodzie. Skoro intensywne deszcze nie wymywają Ni z martwych roślin, należy wnioskować, iż część niklu występuje w formie trwale związanej z makromolekułami. Szczególnie dużo Ni gromadzi się w nasionach (do 12% składników popielnych), do których przenoszony jest ze starzejących się liści (Vergnano Gambi i wsp. 1977).

O dużej ruchliwości niklu w roślinach i tendencji do gromadzenia się tego pierwiastka w nasionach przejrzycie świadczą wyniki analiz, przedstawione w tab.II. W okresie starzenia się soi około 70% Ni z liści deponowane jest w nasionach (Cataldo i wsp. 1978b).

TABELA II

Dystrybucja niklu w soi w okresie następującym po 24-godz. absorpcji  $^{63}\text{Ni}^{2+}$  z 1  $\mu\text{M}$  roztworu  $\text{NiCl}_2$  przez 94-dniowe rośliny *Glycine max* (L.) Merr. var. Williams. [Wg Cataldo i wsp. (1978b); zmodyfikowane]

Tkanka	Dystrybucja $^{63}\text{Ni}^{2+}$ (%)		Zmiana stężenia w tkance (ng Ni $\text{g}^{-1}$ s.m.)	Zmiana suchej masy (g)
	24 h	21 dni		
Korzenie	85	50	-126	+0,3
Łodygi	5	4	-8	-0,4
Liście	6	4	-7	+3,2
Strąki	2	3	-1	+2,5
Nasiona	2	39	+65	+24,9

Nikiel łatwo pobierany jest przez system korzeniowy i transportowany do łodygi i liści z sokiem ksylemowym. W soku ksylemowym takich gatunków jak pomidor, ogórek, marchew, kukurydza i *Arachis* nikiel — oprócz kationowej formy swobodnej wykrywalnej przy nadmiarze  $\text{Ni}^{2+}$  w pożywce, występuje w kompleksie anionowym (o ładunku ujemnym). Substancji kompleksującej Ni nie zidentyfikowano; wydaje się, iż jest to jeden z aminokwasów (Tiffin 1971). Ilość tej substancji w korzeniach pomidora i *Arachis* wystarcza — odpowiednio, do skompleksowania ok. 4 i 100  $\mu\text{moli Ni}^{2+}$  (Tiffin 1972).

Natomiast w roślinach niklotubnych pierwiastek ten występuje w kationowych kompleksach z kwasami organicznymi (Kelley i wsp. 1975, Timperley i wsp. 1973). W przypadku flory gleb serpentynowych Nowej Kaledonii jest to kwas cytrynowy (Lee i wsp. 1977, 1978); zawartość Ni w wymienionych roślinach koreluje z zawartością cytrynianu (Tab. 1). W *Alyssum bertolonii* i *A. serpyllifolium* ssp. *lusitanicum* są to kwasy jabłkowy i malonowy (Pelosi i wsp. 1974, 1976). Ilość tych kwasów koreluje z zawartością Ni, co wykazano hodując *A. bertolonii* na różnych glebach (Pancaro i wsp. 1978).

W soi hodowanej wobec 10  $\mu\text{M Ni}^{2+}$  nie wykryto wolnego niklu. Metodą ultrafiltracji kompleksy niklowe rozdzielono na trzy grupy o masie molowej w przedziałach powyżej 10 000, 10 000—500 i poniżej 500 daltonów (Cataldo i wsp. 1978b). Frakcję 10 000—500 D (ok. 77% ogólnej zawartości Ni) rozdzielono z kolei metodami TLC i TLE na kilka składników, zarówno anodowych, jak i katodowych. Cztery kompleksy kationowe i anionowe transportowane są w ksylemie do liści. W liściach kompleksy kationowe podlegają modyfikacji, sprowadzającej się do zaniku formy transportowej B i C z wytworzeniem formy D. W roślinach kontrolnych, nie dokarmianych  $\text{Ni}^{2+}$ , 42% i 21% ogólnej zawartości Ni odpowiednio w korzeniach i liściach występuje w formie kompleksów o masie molowej ponad 10 000 D; mogą to być kompleksy z białkami. W nasionach z ogólnej zawartości 81  $\mu\text{g Ni}$  (w 1 nasieniu) ok. 8,5% występowało w otoczkach nasiennych, ok. 4% w zarodku i ok. 87,5% w liścieniach. 7% Ni liścieni związane jest z białkami zapasowymi; 82% Ni nasion występuje w „serwatce” pozostającej po wytrąceniu białek zapasowych kwasem, z czego aż 29% pod postacią kompleksów o masie molowej ponad 10 000 daltonów (Cataldo i wsp. 1978 b).

Opisane analizy Cataldo i wsp. (1978b) w połączeniu z wynikami badań Tiffina (1971, 1972) zdają się wskazywać, iż Ni *in vivo* występuje w kompleksach z substancjami organicznymi, do białek włącznie. Przy umiarkowanym dostępie  $\text{Ni}^{2+}$  z zewnątrz, w roślinach zasadniczo nie występuje wolny kation niklowy.

Kinetyka pobierania  $\text{Ni}^{2+}$  przez system korzeniowy nienaruszonych siewek soi jest trójfazowa, zależnie do stężenia niklu w pożywce (Cataldo i wsp. 1978; tabela III). Pobieranie niklu hamowane jest od 25 do 45% przez jony  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  i  $\text{Co}^{2+}$ ; natomiast jony  $\text{Mg}^{2+}$  i  $\text{Mn}^{2+}$  nie wpływają na absorpcję  $\text{Ni}^{2+}$ . Ponieważ jony miedzi i cynku hamują absorpcję  $\text{Ni}^{2+}$  konkurencyjnie, należy wnioskować, iż wszystkie te trzy metale są pobierane przez roślinę za pośrednictwem tego samego przenośnika bądź identycznych miejsc receptorowych (Cataldo i wsp. 1978a).

TABELA III

Stale Michaelisa-Mentena ( $K_m$ ) dla każdej z trzech faz pobierania  $Ni^{2+}$  przez korzenie soi [Cataldo i Wildung (1978)]; zmodyfikowane]

Faza absorpcji	Zakres stężeń Ni, $\mu M$	$K_m$ $\mu M$	$V_{max}$ mg/g świeżej masy korzenia /h	$r^2$
1	0–0,25	0,51	13	0,93
2	1–20	8,6	175	0,94
3	50–100	379	1870	0,96

Za czynnym pobieraniem  $Ni^{2+}$  zdaje się przemawiać również fakt, iż w *A. bertolonii* stosunek Ni:Ca jest stały — równy 1:5, niezależnie od stężenia wymienionych pierwiastków w glebie (Vergnano Gambi i wsp. 1977).

Konkurencyjny antagonizm pomiędzy  $Ni^{2+}$  z jednej strony oraz  $Zn^{2+}$  z drugiej występuje wówczas, gdy oba pierwiastki obecne są w stężeniach stosunkowo niskich (tzw. „fizjologicznych”) — jak to miało miejsce w doświadczeniach Cataldo i wsp. (1978) przeprowadzonych z soją. W przypadku siewek jęczmienia wysokie tj. krytyczne stężenia cynku (210 ppm) pobudzają pobieranie niklu, i odwrotnie — zbliżone do krytycznych i krytyczne stężenia  $Ni^{2+}$  stymulują pobieranie  $Zn^{2+}$  (Beckett i Davis 1978).

#### Wpływ niklu na procesy fizjologiczne i biochemiczne roślin

Zagadnienie to zostało w 1974 r. omówione w obszernym przeglądzie przez Mishrę i Kara. Nie ma więc potrzeby ponownego przytaczania zebranej na ten temat literatury, zwłaszcza dotyczącej wpływu  $Ni^{2+}$  na aktywność enzymów bądź przebieg procesów biochemicznych *in vivo* i *in vitro*. Wystarczy stwierdzić, iż  $Ni^{2+}$  wpływa na aktywność wielu enzymów. Dla przykładu można przytoczyć stosunkowo mało znane doniesienie o 6-krotnym zwiększeniu aktywności reduktazy azotanowej *Sorghum bicolor* L. (Moench) wówczas, gdy do mieszaniny ekstrakcyjnej dodano  $NiCl_2$  do stężenia 4 mM (Maranville 1970). Jest to efekt *in vitro*. Bardziej interesujący dla fizjologów może być fakt, iż sole Ni w stężeniu 1 mM hamują rozpad chlorofilu w wycinkach liści pszenicy (Bushnell 1966) i ryżu (Mishra i Kar 1973) przy czym efekt ten związany jest z zahamowaniem wzrostu aktywności rybonukleazy (Mishra i Samal 1971), pojawiającej się w tkankach żółknących (por. Dolnicki 1978).

Nikiel wpływa na aktywność oksydaz w kielkujących nasionach ryżu (Das i wsp. 1978) oraz powoduje pojawienie się trzech nowych, szybko migrujących molekularnych form peroksydazy w liścieniach ogórka (Lebedeva i wsp. 1977).

## Czy nikiel jest toksyczny dla roślin?

Jeżeli pominąć wymienione na wstępie rośliny niklotolerantne (Tab. I), to stwierdzić można, iż  $\text{Ni}^{2+}$  po przekroczeniu pewnego stężenia progowego działa hamująco na wzrost. Owo stężenie progowe jest różne dla różnych gatunków roślin. W dodatku podprogowe dawki Ni mogą działać synergistycznie hamująco na wzrost roślin w połączeniu z jednoczesną obecnością bądź to innych metali ciężkich bądź toksycznych substancji chemicznych. Nadmiar  $\text{Ni}^{2+}$  w glebie może być przyczyną wystąpienia chlorozy powodowanej deficytem żelaza, wskutek zahamowania translokacji Fe z korzeni do łodygi (Chaney 1970). Ponieważ przy deficycie Fe rośliny kilkakrotnie zwiększają zdolność do jego pobierania i translokacji, wobec tego średnio toksyczne dawki  $\text{Ni}^{2+}$  i  $\text{Zn}^{2+}$  powodują przyspieszenie pobierania  $^{59}\text{Fe}$  przez korzenie (Foy i wsp. 1978). Niemniej,  $\text{Ni}^{2+}$  może powodować spadek efektywności fotosyntezy (Carlson i wsp. 1975).

Groch w kulturach wodnych nie wykazuje objawów zatrucia w obecności 100  $\mu\text{M}$  soli niklu w pożywce; zahamowanie wzrostu występuje dopiero przy 1mM  $\text{Ni}^{2+}$  (Ormrod 1977). Sole niklu w podprogowym stężeniu 100  $\mu\text{M}$  wzmagają natomiast toksyczny wpływ ozonu na wzrost siewek. Zwraca uwagę, iż ozon w tych doświadczeniach nie powodował wzrostu zawartości Ni w roślinie (54–62  $\mu\text{g g}^{-1}$  s.m., po czterech dniach hodowli).

Nikiel w stężeniu 100  $\mu\text{M}$  w ciągu czterech dni nie powodował również zahamowania wzrostu fasoli białej; istotne zahamowanie wzrostu wystąpiło dopiero przy stężeniu 200  $\mu\text{M}$   $\text{NiCl}_2$  (Rausner 1978). Jednak już dawka 50  $\mu\text{M}$  powodowała odbarwienie żyłek na liściach po 4 dniach, a stężenie 100 lub 200  $\mu\text{M}$  powodowało 2-krotny lub 4-krotny wzrost zawartości skrobi w liściach oraz silne zmiany składu związków fenolowych, powodujące zbrunatnienie liści (Rausner 1978).

Soja hodowana hydroponicznie przez 30 dni w pożywce zawierającej 10  $\mu\text{M}$   $\text{NiCl}_2$  nie wykazuje żadnych objawów zatrucia. Podobnie było w przypadku hodowania tej rośliny przez cały okres wegetacyjny w glebie zawierającej 10  $\mu\text{g g}^{-1}$   $\text{Ni}^{2+}$  (ok. 250  $\mu\text{M}$  rozpuszczalnego Ni w roztworze glebowym): nie wystąpiły ujemne efekty zarówno w odniesieniu do produkcji suchej masy, wzrostu wydłużeniowego jak i urodzaju nasion (Cataldo i wsp. 1978a).

Nikiel powoduje wystąpienie charakterystycznych objawów nekrotycznych i chlorotycznych u owsa (Hunter i Vergnano 1953). Roślinę tę często stosuje się jako uprawę indykatorową w odniesieniu do potencjalnej toksyczności Ni w glebie (Anderson i wsp. 1973, Halstead 1968) aczkolwiek nie jest to gatunek najbardziej wrażliwy na Ni (Hunter i Vergnano 1952).

Znacznie bardziej wrażliwe na  $\text{Ni}^{2+}$  są młode siewki jęczmienia jarego, w związku z czym roślinę tę poleca się wykorzystywać do diagnozowania stopnia skażenia gleb metalami ciężkimi (Beckett i Davis 1977). Siewki hodowane w optymalnych warunkach zawierają średnio 2  $\mu\text{g Ni g}^{-1}$  s.m.; stężenie krytyczne wynosi 12  $\mu\text{g}$ . Powyżej tego stężenia występuje zahamowanie wzrostu i objawy zatrucia; poniżej tego stężenia  $\text{Ni}^{2+}$  nie działa szkodliwie (Davis i Beckett 1978). Okazuje się jednak, iż na pobieranie  $\text{Ni}^{2+}$  oraz jego potencjalną toksyczność duży wpływ wy-



wierają inne metale ciężkie, przede wszystkim  $Zn^{2+}$ . Sub-krytyczne dawki  $Ni^{2+}$  stymulują pobieranie  $Zn^{2+}$ , przy czym oba pierwiastki w stężeniach sub-krytycznych mogą powodować wystąpienie objawów zatrucia u jęczmienia, mimo iż każdy z nich z osobna jest nieszkodliwy. Występuje więc zjawisko kumulacji efektów fizjologicznych obu metali (Beckett i Davis 1978). Zwraca uwagę, iż  $Ni$  (7 ppm) i  $Zn$  (75 ppm) występują w chloroplastach, nie powodując w podanych w nawiasach stężeniach szkód *in situ*.

Nikiel w stężeniu  $10 \mu g l^{-1}$  hamuje wzrost siewek sałaty (Lepp 1977). Ze względu na konkurencyjny antagonizm występujący przy pobieraniu  $Ni$  i  $Zn$  (Cataldo i wsp. 1978), już niewielkie dawki cynku niwelują toksyczność powodowaną przez umiarkowane stężenia  $Ni$  (Berry 1976).

Dane na temat wrażliwości innych gatunków roślin na  $Ni^{2+}$  podają Mishra i Kar (1974). W tym miejscu należy zaznaczyć, iż na toksyczność niklu ogromny wpływ wywiera dostępność wapnia. Rośliny na glebach serpentynowych akumulują przede wszystkim  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Cr^{3+}$  i  $Cr^{6+}$  (Lyon i wsp. 1971), przy czym słabą urodzajność gleb pochodzenia serpentynitowego tłumaczy się deficytem wapnia (Walker 1955), potasu (Robinson i wsp. 1935) i fosforu (Spence i Millar 1963) z jednoczesnym nadmiarem magnezu (Proctor 1970), chromu i niklu (Soane i Saunders 1959). Wydaje się, iż główną przyczyną słabego wzrostu na glebach serpentynowych jest zaburzenie równowagi  $Mg/Ca$  w roślinach (Proctor 1971). Jednak niezależnie od wymienionej przyczyny występuje tam zjawisko toksyczności niklowej, prowadzące do silnej redukcji liczby różnych gatunków roślin zdolnych do vegetacji na serpentynitach i powstania edaficznych ekotypów, odpornych na nadmiar  $Ni$  i innych metali ciężkich (Anderson i wsp. 1973, Antonovics i wsp. 1971, Halstead 1968, Hunter i Vergnano 1952, Wild 1970).

Trawy o wartości użytkowej w różnym stopniu adaptują się do gleb serpentynowych. *Festuca rubra* L. i *F. pratensis* Huds. oraz *Holcus lanatus* rosną na glebach serpentynowych bez dodatkowego nawożenia wapniem. Natomiast *Lolium perenne* L. i *Phleum pratense* L. giną tuż po skielkowaniu nasion, jeżeli nie nastąpiło wapnowanie (Willett i Batey 1977). Zwraca uwagę, iż wapnowanie nie wpływa na aktywność fosfatazy powierzchniowej korzeni traw adaptujących się do gleb serpentynowych (*F. rubra*, *F. pratensis* i *H. lanatus*), natomiast silnie podwyższa aktywność tego enzymu u gatunków wrażliwych (*L. perenne* i *P. pratense*). Natomiast metale ciężkie, nie tylko nikiel, lecz również magnez, chrom i cynk nie wpływają na aktywność powierzchniowej fosfatazy korzeni traw (Willett i Batey 1977). Toksyczność metali ciężkich w wielu przypadkach powodowana więc być może nie tyle przez same metale ile przez brak innych czynników troficznych.

#### Nikiel w ureazie roślin wyższych

Mimo, iż niklu nie zaliczano do pierwiastków niezbędnych dla roślin — co spowodowane być mogło przez fakt, iż jest to pierwiastek rozpowszechniony w glebach, w związku z czym trudno obserwować objawy jego deficytu, niektórzy uczeni

zalecali dodawać sole  $Ni^{2+}$  do hodowli *in vitro* i hodowli hydroponicznych. Znajdujemy więc sole niklu w roztworze mikroelementów wg Berthelota w modyfikacji Gauthereta, w pożywce Hellera, w roztworze AZ Arnona, w pożywce A4 + A7 wg Allena i Arnona itd. (por. Butenko 1964). Pierwiastek ten zalecano dodawać do pożywek raczej w oparciu o intuicję, niż o fakty świadczące o potrzebie tego metalu dla roślin.

TABELA IV

Wpływ  $Ni^{2+}$  na wzrost tkanki kalusa soi [*Glycine max.* (L.) Merr. var. Kanrich] na pożywce zawierającej azot mocznikowy i cytrynian. W pożywce wg Murashige i Skooga wymieniono 18,1 mM  $KNO_3$  i 20,6 mM  $NH_4NO_3$  na 25 mM moczniaka, oraz dodano 10 mM cytrynianu potasowego oraz/lub 10  $\mu M$   $NiSO_4$ . Pomiarów wzrostu dokonano po 6 tygodniach hodowli [wg Polacco (1977a), zmodyfikowane]

Dodatek do pożywki	Sucha masa, mg	
	$t_0$	$t_6$ tyg.
0	10,0	120
Cytrynian	17,9	74
Cytrynian + $NiSO_4$	13,7	869

TABELA V

Urolityczna aktywność w tkankach kalusowych, poddanych działaniu  $Ni^{2+}$ . Tkanki hodowano na pożywce wg Murashige i Skooga z dodatkiem 10 mM cytrynianu potasowego i 10  $\mu M$   $NiSO_4$  przez 2 tyg., po czym oznaczano aktywność enzymu. Aktywność urolityczną wyrażono w pM zhydrolizowanego moczniaka  $min^{-1}$  (mg s.m. tkanki) $^{-1}$  [wg. Polacco (1978b)]

Gatunek	Aktywność urolityczna		Stosunek (+ Ni/– Ni)
	– $Ni^{2+}$	+ $Ni^{2+}$	
<i>Nicotiana tabacum</i> var. 918-h	1,4	14,9	10,6
<i>Glycine max</i> var. Kanrich	3,7	63,3	17,1
<i>Oryza sativa</i> var. Dunghan Shali	53	419	7,9

TABELA VI

Współczynnik multiplikacji (MR) rzęsy wodnej, *Lemna paucicostata* 6746, pomiędzy 4–10 dniem hodowli na pożywce syntetycznej zawierającej 10 mM moczniaka i substancje dodatkowe w stężeniu 30  $\mu M$  [wg Gordona i wsp. (1978), zmodyfikowane]

Substancja dodatkowa	MR	% przyrostu w odniesieniu do serii zawierającej tylko mocznik
O (tylko mocznik)	112	–
$NiSO_4 \cdot 6H_2O$	275	144
$CoSO_4 \cdot 7H_2O$	215	92
$MnSO_4 \cdot H_2O$	145	23
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	118	5



Dopiero w 1975 r. Dixon i wsp. wykryli, iż nikiel stanowi składnik strukturalny ureazy (aminohydrolaza mocznika, EC 3.5.1.5) *Canavalia ensiformis* L., przy czym sugerują iż metal ten może być czynny jako receptor zredukowanej formy azotu przy żywieniu roślin amidami bądź amoniakiem (Dixon i wsp. 1975, 1976). Masa molowa podstawowej podjednostki strukturalnej ureazy *C. ensiformis* wyznaczona została na ok. 105 000 daltonów, przy czym jedna taka cząsteczka enzymatyczna zawiera dwa atomy niklu (Dixon i wsp. 1975). Następnie Polacco i Havir (1979) oznaczyli masę molową podjednostki w. w. enzymu na 93 500 daltonów. Taką samą masę molową charakteryzuje się również ureaza z nasion i kultur tkankowych soi. Ten ostatni enzym w zależności od siły jonowej roztworu występuje *in vitro* pod postacią trimeru (wysoka siła jonowa) bądź heksameru (niska siła jonowa) o masach mol. 280 000 i 480 000 daltonów. Podstawowa podjednostka strukturalna enzymu zawiera 2 atomy niklu (T. Grove i F. W. Sunderman, Jr. dane nie opublikowane cyt. przez Polacco i Havir 1979).

Od dawna było wiadomo, iż niektóre rośliny wyższe mogą wykorzystywać mocznik jako jedyne źródło azotu, chociaż wzrost jest wolniejszy niż w obecności azotu amonowego bądź azotanowego (Bollard i wsp. 1969). Wzrost kultur tkankowych wobec mocznika silnie hamuje kwas cytrynowy i inne związki chelatujące (Polacco 1976) co świadczyłoby o niezbędności jakichś metali ciężkich do syntezy ureazy. Jeżeli pożywkę uzupełniano niklem, wówczas wzrost tkanki kalusa soi na pożywce z mocznikiem ulegał silnemu przyspieszeniu nie tylko w porównaniu do pożywki z cytrynianem lecz również do pożywki kontrolnej, nie zawierającej cytrynianu (Polacco 1977a, b; tabela IV). Dodatek niklu do pożywek zawierających mocznik pobudzał od 8 do 18 razy aktywność ureazy w tkankach kalusa tytoniu, soi i ryżu (Polacco 1978b; tabela V).

Silne pobudzenie wzrostu przez nikiel oraz w mniejszym stopniu przez kobalt zaobserwowano również w sterylnych kulturach *Lemnaceae*, hodowanych w pożywkach syntetycznych z mocznikiem jako wyłącznym źródłem azotu. Wymienić tu przede wszystkim należy *Lemna paucicostata* 6746 (tabela VI) oraz *Spirodela polyrrhiza* i *Wolffia globosa* (Gordon i wsp. 1978).

Nikiel ma znaczenie nie tylko dla roślin wyższych, odżywianych mocznikiem. Wpływa on również korzystnie na wzrost *Penicillium* sp. przy czym EDTA obniża stopień stymulacji wzrostu plech, powodowany przez określoną dawkę  $Ni^{2+}$  (Polacco 1978b).

#### Wnioski

Nikiel nie wpływa na wzrost tkanek kalusowych, hodowanych na pożywkach nie zawierających mocznika (Polacco 1978). Wpływa on natomiast pobudzająco na wzrost tkanek i roślin hodowanych wobec mocznika, przy czym efekt ten związany jest z silną indukcją aktywności ureazy. Wydaje się więc, iż  $Ni^{2+}$  jest składnikiem strukturalnym ureazy wielu gatunków roślin (Dixon i wsp. 1976). Jako taki jest pierwiastkiem niezbędnym dla roślin wówczas, gdy jednym ze źródeł N jest

mocznik bądź inne amidy. Fakt ten nie powinien umknąć uwagi teoretyków — zajmujących się matabolizmem azotowym roślin, oraz praktyków — nawożących uprawy mocznikiem. Jeżeli  $Ni^{2+}$  jest rzeczywiście niezbędny do asymilacji amidów, to wyjaśnia to zjawisko akumulowania się go w nasionach, gromadzących substancje zapasowe m. in. pod postacią amidów.

Niezależnie od regulacji procesu przyswajania mocznika, nikiel może pełnić jeszcze inne funkcje w roślinach, zwłaszcza u gatunków zaliczanych do nikloлюбnych. Jednak wiedza na ten temat jest więcej niż skromna.

Otwarte technologie przemysłowe oraz świadome nawożenie pól szlamami — zawierającymi niekiedy spore ilości metali ciężkich, sprawiają, iż niklu jest coraz więcej w środowisku, w roślinach, w żywności. Problem fizjologicznych funkcji niklu w roślinach, oraz jego toksyczności przy nadmiernych dawkach, wart jest dokładniejszego poznania doświadczalnego.

#### LITERATURA

- Anderson A. J., Meyer D. R., Mayer F. K., 1973. Heavy metal toxicities: Levels of nickel, cobalt, and chromium in the soil and plants associated with visual symptoms and variation in growth of an oat crop. *Aust. J. Agric. Res.* **24**: 557—571.
- Antonovics J., Bradshaw A. D., Turner R. G., 1971. Heavy metal tolerance in plants, *Adv. Ecol. Res.*, **7**: 1—85.
- Beckett P. H. T., Davis R. D., 1977. Upper critical levels of toxic elements in plants. *New Phytol.*, **79**: 95—106.
- Beckett P. H. T., Davis R. D., 1978. The additivity of the toxic effects of Cu, Ni and Zn in young barley. *New Phytol.*, **81**: 155—174.
- Berry W. E., 1976. The effects of zinc on the dose response curve of seedling lettuce to acute Ni toxicity. *Agron. Abstr.*, **1970**: 20.
- Bollard E. G., Cook A. R., Turner N. A., 1968. Urea as a sole source of nitrogen for plant growth. I. The development of urease activity in *Spirodela oligorrhiza*. *Planta (Berl.)* **83**: 1—12.
- Brooks R. R., Radford C. G., 1978. Nickel accumulation by European species of the genus *Alyssum*. *Proc. Roy. Soc. Lond. B* **200**: 217—224.
- Brooks R. R., Wither E. D., 1977. Nickel accumulation by *Rinorea bengalensis* (Wall.) O. K. J. *geochem. Explor.* **7**: 295—300.
- Brooks R. R., Lee J., Jaffré T., 1974. Some New Zealand and New Caledonian plant accumulators of nickel. *J. Ecol.* **62**: 493—499.
- Brooks R. R., Lee J., Reeves R. D., Jaffré T., 1977. Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium specimens of indicator plants. *J. geochem. Explor.* **7**: 49—57.
- Brooks R. R., Morrison R. S., Reeves R. D., Dudley T. R., Akman Y., 1979. Hyperaccumulation of nickel by *Alyssum Linnaeus (Cruciferae)*. *Proc. Roy. Soc. London B* **203**: 387—403.
- Bushnell W. R., 1966. Delay of senescence in wheat leaves by cytokinins, nickel, and other substances. *Can. J. Bot.* **44**: 1485—1493.
- Butenko R. G., 1964. *Kultura izolirovannykh tkanej i fiziologija morfogeneza rastenij*. *Izd. Nauka, Moskva*, s. 51—56.
- Carlson R. W., Bazzaz F. A., Rolfe G. L., 1975. The effect of heavy metals on plants: Part II. Net photosynthesis and transpiration of whole corn and sunflower plants treated with Pb, Cd, Ni, and Ti. *Environ. Res.* **10**: 113—120.
- Cataldo D. A., Wildung R. E., 1978. Soil and plant factors influencing the accumulation of heavy metals by plants. *Environm. Health Perspectives* **27**: 149—159.

- Cataldo D. A., Garland T. R., Wildung R. E., 1978 a. Nickel in plants. I. Uptake kinetics using intact soybean seedlings. *Plant Physiol.* **62**: 563—565.
- Cataldo D. A., Garland T. R., Wildung R. E., Drucker H., 1978 b. Nickel in plants. II. Distribution and chemical form in soybean plants. *Plant Physiol.* **62**: 566—570.
- Chaney R. L., 1970. Effect of nickel on iron metabolism by soybean. PhD Thesis, Purdue Univ., Lafayette, Ind., 192 pp. Diss. Abstr. Int. **31**: 1692—1693.
- Das P. K., Kar M., Mishra D., 1978. Nickel nutrition of plants. 1. Effect of nickel on some oxidative activities during rice 9 (*Oryza sativa* L.) seed germination. *Z. Pflanzenphysiol.* **90**: 225—233.
- Davis R. D., Beckett P. H. T., 1978. Critical levels of Cu in young barley, wheat, rape, lettuce and ryegrass, and of Ni and Zn in young barley and ryegrass. *New Phytol.* **80**: 23.
- Dixon N. E., Gazzola C., Blakeley R. L., Zerner B., 1975. Jack bean urease (EC 3. 5. 1. 5) a metalloenzyme. A simple biological role for nickel? *J. Am. Chem. Soc.* **97**: 4131—4133.
- Dixon N. E., Gazzola C., Blakeley R. L., Zerner B., 1976. Metal ions in enzymes using ammonia or amides. *Science (Wash.)* **191**: 1144—1150.
- Dolnicki A., 1978. Wpływ warunków stresowych na aktywność rybonukleaz roślinnych. *Wiadom. Bot.* **22**: 229—239.
- Ernst W., 1974. Schwermetall-Vegetation der Erde. *Geobotanica Selecta* Bd. 5, Gustav Fischer Verl., Stuttgart, ss. 194.
- Ernst W., 1976. Physiological and biochemical aspects of metal tolerance. W: T. A. Mansfield (Ed.) *Effects of Air Pollutants on Plants*. Soc. for Exp. Biol. Seminar Ser. I, pp. 115—133.
- Foy C. D., Chaney R. L., White M. C., 1978. The physiology of metal toxicity in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **29**: 511—566.
- Gordon W. R., Schwemmer S. S., Hillman W. S., 1978. Nickel and the metabolism of urea by *Lemna paucicostata* Hegelm. 6746. *Planta (Berl.)* **140**: 265—268.
- Halstead R. L., 1968. Effect of different amendments on yield and composition of oats grown on a soil derived from serpentine materials. *Can. J. Soil Sci.* **48**: 301—305.
- Hunter J. G., Vergnano O., 1952. Nickel toxicity in plants. *Ann. Appl. Biol.* **39**: 279—284.
- Hunter J. G., Vergnano O., 1953. Trace-element toxicities in oat plants. *Ann. Appl. Biol.* **40**: 761—777.
- Jaffré T., Schmid M., 1974. Accumulation du nickel par une Rubiacée de Nouvelle Calédonie, *Psychotria douarrei* (G. Beauvissage) Däniker. C. r. hebdom. Acad. Séanc. Sci. Paris **278**: 1727—1730.
- Jaffré T., Brooks R. R., Lee J., Reeves R. D., 1976. *Sebertia acuminata*: A hyperaccumulator of nickel from New Caledonia. *Science (Wash.)* **193**: 579—580.
- Kelley P. C., Brooks R. R., Dilli S., Jaffré T., 1975. Preliminary observations on the ecology and plant chemistry of some nickel-accumulating plants from New Caledonia. *Proc. Roy. Soc. Lond. B* **189**: 69—80.
- Lebedeva L. A., Palm G. G., Rachimova F. G., 1977. Nekotorye aspekty vlijanija mikroelementov na aktivnost' peroksidazy. W: L. A. Lebedeva (red.) *Faktory sredy i rastenie*. Učenyje zapiski Kazanskogo Gosud. Pedagog. In-ta| Kazan' 1977, Nr. **180**: 16—22.
- Lee J., Reeves R. D., Brooks R. R., Jaffré T., 1977. Isolation and identification of a citrate-complex of nickel from nickel-accumulating plants. *Phytochemistry* **16**: 1503—1505.
- Lee, J., Reeves R. D., Brooks R. R., Jaffré T., 1978. The relation between nickel and citric acid in some nickel-accumulating plants. *Phytochemistry* **17**: 1033—1035.
- Lepp N. W., 1977. Interactions between cadmium and other heavy metals in affecting the growth of lettuce (*Lactuca sativa* L. cv. Webbs Wonderful) seedlings. *Z. Pflanzenphysiol.* **84**: 363—367.
- Lyon G. L., Peterson P. J., Brooke R. R., Butler G. N., 1971. Calcium and magnesium and trace elements in a New Zealand serpentine flora. *J. Ecol.* **59**: 421—430.
- Malyuga D. P., 1964. *Biogeochemical Methods of Prospecting*. 11 and 84 pp. Consultants Bureau Enterprises, New York.
- Maranville J. W., 1970. Influence of nickel on the detection of nitrate reductase activity in *Sorghum* extracts. *Plant Physiol.* **45**: 591—593.
- Meisch H.-U., Reinle W., Richter B.-A., 1978. Zur Frage biogener Anreicherung von Vanadium und Nickel in Pflanzen des Karbonzeitalters. *Z. Naturforsch.* **33c**: 616—622.

- Menzes de Sequeira E., 1969. Toxicity and movement of heavy metals in serpentine soils (north-eastern Portugal). *Agronomia Lusit.* **30**: 115—154.
- Minguzzi C., Vergnano O., 1948. Il contenuto de nichel nelle ceneri di *Alyssum bertolonii* Desv. *Atti Soc. Tosc. Nat.* **A-55**: 49—74.
- Mishra D., Kar M., 1973. Effects of benzimidazole and nickel ions in the control of *Oryza sativa* leaf senescence by red and far-red light. *Phytochemistry* **12**: 1521—1522.
- Mishra D., Kar M., 1974. Nickel in plant growth and metabolism. *Bot. Rev.* **40**: 395—452.
- Mishra D., Samal B., 1971. Interaction of benzimidazole in delaying the senescence of detached rice leaves. *Z. Naturforsch.* **26b**: 1377.
- Okamoto K., Yamamoto Y., Fuwa K., 1978. Accumulation of manganese, zinc, cobalt, nickel and cadmium by *Clethra barbinervis*. *Agr. Biol. Chem.* **42**: 663—664.
- Ormrod D. C., 1977. Cadmium and nickel effects on growth and ozone sensitivity of pea. *Water, Air and Soil Pollut.* **8**: 263—270.
- Pancaro L., Pelosi P., Vergnano Gambi O., Galloppini C., 1978. Ulteriori indagini sul rapporto tra nichel e acidi malico e malonico in *Alyssum*. *Gior. Bot. Ital.* **112**: 141—146.
- Paribok T. A., Alekseeva-Popova N. V., 1966. Soderžanie chimičeskich elementov v rastenijach poljarnogo Urala v svjazi s problemoj serpentinitovoj rastitelnosti. *Bot. Žurnal* **51**: 339—352.
- Pelosi P., Galloppini C., Vergnano Gambi O., 1974. Sulla natura dei composti del nichel presenti in *Alyssum bertolonii* Desv. *Nota I. Agric. Ital.* **29**: 1—6.
- Pelosi P., Fiorentini R., Galloppini C., 1976. On the nature of nickel compounds in *Alyssum bertolonii* Desv. *II. Agr. Biol. Chem.* **40**: 1641—1642.
- Polacco J. C., 1976. Nitrogen metabolism in soybean tissue culture. I. Assimilation of urea. *Plant Physiol.* **58**: 350—357.
- Polacco J. C., 1977 a. Nitrogen metabolism in soybean tissue culture. II. Urea utilization and urease synthesis require  $Ni^{2+}$ . *Plant Physiol.* **59**: 827—830.
- Polacco J. C., 1977 b. Is nickel a universal component of plant urease? *Plant Sci. Lett.* **10**: 249—255.
- Polacco J. C., Havir E. A., 1979. Comparisons of soybean urease isolated from seed and tissue culture. *J. Biol. Chem.* **254**: 1707—1715.
- Proctor J., 1970. Magnesium as a toxic element. *Nature (Lond.)* **227**: 742—743.
- Proctor J., 1971. The plant ecology of serpentine. II. Plant response to serpentine soils. *J. Ecol.* **59**: 397—410.
- Rausser W. E., 1978. Early effects of phytotoxic burdens of cadmium, cobalt, nickel, and zinc in white beans. *Can. J. Bot.* **56**: 1744—1749.
- Ritter-Studnička H., Dursun-Grom K., 1973. Über den Eisen-Nickel- und Chromgehalt in einigen Serpentinpflanzen Bosniens. *Österr. Bot. Z.* **121**: 29—49.
- Robinson W. O., Edgington G., Byers H. G., 1935. Chemical studies of infertile soils derived from rocks high in Mg and generally high in Cr and Ni. *U. S. Dept. Agr. Techn. Bul.* **471**.
- Ruszkowska M., 1976. Nikiel. W: Nowotny-Miczyńska A. (red.) *Fizjologia mineralnego żywienia roślin*. s. 446 (ss. 484). PWRiL, Warszawa.
- Soane B. D., Saunders D. H., 1959. Nickel and chromium toxicity of serpentine soils in Southern Rhodesia. *Soil Sci.* **88**: 322—330.
- Spence D. H. N., Millar E. A., 1963. An experimental study of the infertility of Shetland serpentine soil. *J. Ecol.* **51**: 333—343.
- Školnik M. Ja., 1974. *Mikroelementy v žizni rastenij*. ss. 324. Nikel. ss. 198—200. Izd. Nauka, Leningrad.
- Tiffin L. O., 1971. Translocation of nickel in xylem exudate of plants. *Plant Physiol.* **48**: 273—277.
- Tiffin L. O., 1972. Translocation of micronutrients in plants. W: *Micronutrients in Agriculture*. pp. 199—229. Soil Sci. Soc. of America, Inc., Madison.
- Timperley M. H., Brooks R. R., Peterson P. J., 1973. The distribution of nickel, copper, zinc and iron in tree leaves. *J. exp. Bot.* **24**: 889—895.
- Vanselow A. P., 1966. Nickel. W: Chapman H. E. (ed.) *Diagnostic Criteria for Plants and Soils*. pp. 302—309. Univ. of California, Div. of Agr. Sci., Riverside.
- Vergnano Gambi O., 1967. Primi dati sulla localizzazione istologica del nichel in *Alyssum bertolonii* Desv. *Giorn. Bot. Ital.* **101**: 59—60.

- Vergnano Gambi O., Pancaro L., Formica C., 1977. Investigations on a nickel accumulating plants: *Alyssum bertolonii* Desv. I. Nickel, cadmium, and magnesium content and distribution during growth. *Webbia* **32**: 175—188.
- Walker R. B., Walker H. M., Ashworth P. R., 1955. Calcium and magnesium nutrition with special reference to serpentine soil. *Plant Physiol.* **30**: 214—221.
- Wild H., 1970. Geobotanical anomalies in Rhodesia. 3. The vegetation of nickel-bearing soils. *Kirkia* **7**, Suppl.: 1—62.
- Wild H., 1974. Variations in the serpentine floras of Rhodesia. *Kirkia* **9**: 209—232.
- Willett I. R., Batey T., 1977. The effects of metal ions on the roots surface phosphatase activity of grasses differing in tolerance to serpentine soil. *Plant and Soil.* **48**: 213—221.

*Adres autora:*

PROF. DR HAB. J. STANISŁAW KNYPL

Pracownia Regulatorów Wzrostu Roślin Uniwersytetu Łódzkiego, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź