Wpływ niedoboru miedzi i stresu wodnego na mikrostrukturę powierzchni liścia pomidora (*Lycopersicon esculentum* L.)

BARBARA DYKI, JAN BORKOWSKI, WALDEMAR KOWALCZYK

Instytut Warzywnictwa, ul. Konstytucji 3-go Maja 1/3, 96-100 Skierniewice

(Otrzymano dnia 9. 01. 1998)

Dyki B. , Borkowski J. , Kowalczyk W. (Research Institute of Vegetable Crops, Konstytucji 3 Maja 1/3, 96-100 Skierniewice, Poland) *Effect of copper deficiency and of water stress on the microstructure of tomato leaf surface.*

Abstract

The reaction of tomato plants cv. Tukan F₁ to copper deficiency and to water stress was compared. Plants grown in copper deficiency and in conditions of water stress were significantly smaller than controls. They had also lower turgor. The epidermis cells of the upper side leaf in the plants growing in copper deficiency or water stress conditions were smaller than in control plants. However the stomata and trichomes number of leaves plants with copper or water deficiency grown were bigger in comparison with control. The pores of stomata were always larger in leaves of control plants than in other objects.

WSTĘP

Wieloletnie badania przeprowadzone na pomidorach wykazały, że przy niedoborze miedzi rośliny więdną w dni słoneczne, podobnie jak w przypadku suszy (Borkowski i inni 1994, Borkowski 1997, Ostrzycka i inni 1996). Rośliny te charakteryzują się również zwielokrotnioną zawartością proliny (Ostrzycka i inni 1996, Borkowski 1997).

Niedobór miedzi, tak jak i brak wody, są związane z nasileniem się suchej zgnilizny na owocach pomidora (Borkowski i inni 1994). Powyższe dane sugerowały, że utrata turgoru liści, którą obserwowano przy niedoborze miedzi, tak jak i stres wodny wywołany ograniczonym podlewaniem mogą spowodować zamknięcie aparatów szparkowych liści. Taka reakcja liścia jest bowiem typowa jako efekt ograniczenia transpiracji rośliny.

MATERIAŁ I METODY

Nasiona pomidora odmiany Tukan F₁ (SKW 692) wysiano w szklarni 31 stycznia 1997 r. Pikowanie siewek do doniczek (średnica 12 cm) wykonano 21 lutego. Rośliny wysadzano 18 marca do 12 litrowych wazonów w substrat torfowy z dodatkiem miału węgla brunatnego, który stanowił 33% objętości podłoża. Takie podłoże zwiększało prawdopodobieństwo wystąpienia objawów niedoboru miedzi. Przed wysadzeniem roślin uzupełniono nawożenie mineralne i zawartość składników pokarmowych w 1 litrze substratu wynosiła: 460 mg N-NO₃, 224 mg P, 1038 mg K, 163 mg Mg i 3186 mg Ca. Zasolenie podłoża wynosiło 6,15 g NaCl, a pH 6,0. Przeprowadzone doświadczenie miało 3 obiekty (Tab. 1)

Tabela 1 – Table 1:
Zawartość miedzi w liściach pomidora i w podłożu.
The copper content in tomato leaves and in the substrate

L.p.	Obiekt Object	Liście mgCu/kg s.m. Leaves mgCu/kg d.m.	Podłoże mgCu/l Substrate mgCu/l
1.	Deficyt miedzi Copper deficiency	5,8	1,7
2.	Kontrola Control	10,8	25,4
3.	Stres wodny Water stress	8,5	26,0

1. Niedobór miedzi

2. Kontrola (dodano po 0,2g CuSO₄ × 5 H₂O na wazon dnia 25 kwietnia)

3. Stres wodny (dodano po 0,2g CuSO₄ × 5 H₂O na wazon)

Średnie ciśnienie w podłożu, mierzone irometrem od 27 kwietnia do 15 maja, wynosiło 51,7 kPa w obiekcie nr. 3, natomiast w obiektach nr. 1 i 2 średnio 18,8 kPa. Ze wszystkich obiektów pobierano próbki liści do badań w mikroskopie świetlnym epidermy dolnej strony liścia. Badano liście ze szczytowych części roślin uwzględniając podobną wielkość i analizując zawsze podobne fragmenty liści. Liście do analizy zrywano w terminach: 5 czerwca wieczorem godz. 21.30, 10 czerwca, przy dużym słońcu, godz. 13.00 oraz 13 czerwca o godz. 6.30. Przed zebraniem materiału silnie ograniczono podlewanie roślin z obiektu nr 3. Przy zabezpieczaniu liści do badań ciśnienie osmotyczne substratu wynosiło 64 kPa w obiekcie nr 3 i około 15 kPa w pozostałych obiektach.

Rośliny prowadzono na 2 pędy i 10 gron. Podczas wegetacji stosowano nawożenie pogłówne azotem i potasem, podobnie jak we wcześniejszych badaniach (Borkowski i inni 1997). Z każdego obiektu przeznaczono po 3 rośliny, z których pobierano po 2 liście do analizy mikroskopowej. W każdym terminie analizowano więc epidermę z 6-ciu liści w obrębie obiektu.

Badano mikromorfologię powierzchni epidermy dolnej strony liścia pomidora, ze szczególnym uwzględnieniem liczby, długości i szerokości aparatów szparko-

wych oraz stopnia ich rozwarcia. Porównywano również liczbę włosków w epidermie dolnej strony liścia oraz wielkość i kształt podstawowych komórek tej epidermy. Przy analizowaniu epidermy konieczne było odizolowanie jej od pozostałych tkanek liścia. W tym celu zastosowano metodę zdzierania epidermy z liścia przy pomocy taśmy klejącej i barwienie jej błękitem toluidyny (Dyki, Habdas 1996). Aparaty szparkowe liczono w dwudziestu polach widzenia mikroskopu, przy powiększeniu $384 \times$ (fot. 8,9,10), w obrębie każdego pobranego fragmentu liścia. Obliczenia wykonywano metodą analizy wariancji. Średnie porównywano testem t-studenta przy poziomie istotności 0,01.

WYNIKI

Zanotowano wyraźne różnice we wzroście roślin pomidora między poszczególnymi obiektami. Rośliny kontrolne (obiekt nr. 2) były znacznie wyższe od roślin z obiektu nr. 1 i nieco wyższe niż w obiekcie nr. 3 (fot. 1). Liście roślin zarówno w obiekcie nr. 1 jak i 3 były mniejsze i charakteryzowały się mniejszym turgorem niż liście roślin kontrolnych. Różnice, szczególnie zaznaczały się w górnych, najmłodszych fragmentach pędów roślin (fot. 2,3,4). Rośliny z niedoborem miedzi (obiekt nr. 1), zwijały blaszki liściowe w charakterystyczny rurkowaty kształt (fot. 2). Analiza aparatów szparkowych w epidermie dolnej strony liści wykazała wyraźnie mniejszą ich liczbę/mm² powierzchni liścia u roślin kontrolnych (średnio 111,7/mm²), niż u roślin z obiektu o niedoborze miedzi (średnio 195,5/mm²) i z obiektu ze stresem wodnym (średnio 156,5/mm²), por. Tab. 2.

Tabela 2 – Table 2:

Wpływ niedoboru miedzi i stresu wodnego na długość i szerokość aparatów szparkowych, ich liczbę oraz liczbę włosków na dolnej stronie liścia.
Effect of copper deficiency and water stress on stomata number and dimensions and on the number of trichomes on the upper side of tomato leaves.

Obiekt Object	Aparaty szparkowe Stomata			Liczba włosków/mm ² Number of trichomes/mm ²
	Długość w μm Length μm	Szerokość w μm Width μm	Liczba/mm ² Number/mm ²	
Deficyt miedzi Copper deficiency	22,7	15,3	195,5	42,6
Kontrola Control	29,1	17,8	111,7	32,3
Stres wodny Water stress	24,5	16,5	156,5	42,5
NIR przy $\alpha = 0,01$	2,2	0,9	13,0	6,4
LSD at 1% P=0,01

Fot. 1 – 4 Rośliny pomidora rosnące w warunkach:

a – stres wodny, b – kontrola, c – niedobór miedzi.

Fig. 1 – 4 The tomato plants growing in conditions

a – water stress, b – control, c – deficiency of copper

Również zdecydowanie większą liczbę włosków obserwowano w epidermie liści z obiektu o niedoborze miedzi (średnio $42,6/\text{mm}^2$) deficycie wodnym (średnio $42,5/\text{mm}^2$) niż w liściach kontrolnych (średnio $32,3/\text{mm}^2$) Tab. 2. Podczas, gdy u roślin kontrolnych notowano wśród komórek epidermy 1-3 włoski w polu widzenia, to w obiekcie nr 1 i 3 odpowiednio 2-5 i 2-4. Wśród podstawowych komórek epidermy o charakterystycznych dla liści pomidora pofalowanych ścianach, było znacznie więcej komórek małych u roślin z niedoborem miedzi i stresem wodnym niż w kontroli por. fot. 5,6,7. Również ściany tych komórek szybciej i silniej zabarwiały się błękitem toluidyny w obiektach nr. 1 i 3 niż w kontroli. Nie notowano różnic w intensywności zabarwienia protoplastu komórek szparkowych między badanymi obiektami (fot. 5-10). Różnice w wielkości aparatów szparkowych w obrębie jednego fragmen-

tu liścia obserwowano częściej w kontroli (fot. 9.) niż w pozostałych obiektach (fot. 8,10). Niezależnie od terminu pobierania liści do analizy, zawsze w obiektach nr. 1 i 3 aparaty szparkowe charakteryzowały się mniejszym stopniem rozwarcia szczeliny niż w kontroli. Najmniejsze różnice między badanymi obiektami notowano w południe, przy pełnym słońcu. W tym czasie szparki w liściach wszystkich badanych roślin były zamknięte. Wieczorem, aparaty szparkowe roślin kontrolnych miały bardziej rozwarłe szczeliny niż w pozostałych dwóch obiektach. Największe różnice zaznaczały się w godzinach rannych, gdzie większość aparatów szparkowych roślin kontrolnych miała duże szczeliny, (fot. 6 i 9), natomiast szparki roślin rosnących w warunkach niedoboru miedzi (fot. 5,8) i stresu wodnego (fot. 7,10) były zamknięte. W tych obiektach komórki szparkowe ściśle przylegały do siebie, a między nimi tylko sporadycznie zaznaczała się niewielka szczelina (fot. 8 i 10).

5

8

6

9

7

10

Fot. 5 – 10 Aparaty szparkowe dolnej strony liści pomidora z obiektów:

Fot. 5, 8 – niedobór miedzi, fot. 6, 9 –kontrola, fot. 7, 10 – stres wodny.

Fot. 5, 6, 7 – $\times 280$; fot. 8, 9, 10 – $\times 384$.

Fig. 5 – 10 The stomata in lower side of tomato leaves.:

Fig. 5, 8 – deficiency of copper, fig. 6, 9 –control, fig. 7, 10 – water stress.

DYSKUSJA

Wyniki w tej pracy dowodzą, że rośliny pomidora reagują na niedobór miedzi w podłożu podobnie jak i na deficyt wody. Fakt ten jest potwierdzeniem opinii Maksimowa i Szkolnika sprzed kilkudziesięciu lat (cyt. Borkowski 1997), że rośliny z niedoborem miedzi są bardzo wrażliwe na suszę i szybko więdną. Powszechnie wiadomo, że zmniejszenie turgoru liści wywołuje reakcję obronną rośliny przed utratą wody, co wiąże się z ograniczeniem transpiracji, a tym samym zamknięciem aparatów szparkowych. Zjawisko takie obserwowano w tym doświadczeniu, nie tylko u roślin rosnących w warunkach stresu wodnego ale i deficytu miedzi. Wyniki analizy chemicznej (Tab. 1) wskazują, że przy niedoborze wody rośliny mają trudności w pobieraniu miedzi z podłoża. Przy słonecznej pogodzie, kiedy zapotrzebowanie na miedź zwiększa się (Gumińska i inni, 1984) i gleba jest przesuszona niedobór tego pierwiastka może wystąpić nawet u roślin z dostatecznym zaopatrzeniem w ten mikroelement. Weryszko-Chmielewska (1992) stwierdziła, u roślin wrażliwych na brak miedzi, znacznie ograniczoną lignifikację tkanek, co jest związane z redukcją grubości ścian komórkowych. Takie zaburzenie w metabolizmie powoduje również zmniejszenie liczby i wielkości wiązek przewodzących w badanych roślinach owsa, pszenicy, łubinu i peluszkii. Autorka obserwowała również, że cienkie ściany komórek ksylemu mają tendencję do „zapadania się” przez co zmniejszała się ich pojemność, a tym samym możliwość przewodzenia wody została ograniczona. Objawy zewnętrzne (redukcja wzrostu i więdnienie) braku miedzi u roślin pomidora mogą sugerować podobny mechanizm działania tego deficytu jak u badanych przez Weryszko-Chmielewską (1992) roślin zbożowych.

Należy zaznaczyć, że niedobór miedzi wpływa również niekorzystnie na plon owoców pomidora (Borkowski i inni 1994, 1996).

WNIOSKI

Rośliny z niedoborem miedzi oraz będące w długotrwałym stresie wodnym zachowują się podobnie:

- a. są niższe niż rośliny kontrolne
- b. mają zwieńczone liście i zamknięte aparaty szparkowe
- c. mają mniejsze komórki epidermy a większą liczbę aparatów szparkowych i włosków

LITERATURA

- Borkowski J. 1997. Wzrost i plonowanie pomidorów w warunkach niedoboru miedzi. *Postępy Nauk Rolniczych* 3:83-93
- Borkowski J., Paul M., Kowalczyk W. 1994. Wpływ niedoboru miedzi na wzrost i plon pomidorów uprawianych w szklarni. *Integrowane metody produkcji warzyw. Sympozjum z okazji 30-lecia Instytutu Warzywnictwa, Część II – Postery*: 11–14
- Borkowski J., Kowalczyk W., Ostrzycka J., Dyśko J. 1996. Oznaki niedoboru miedzi na pomidorach uprawianych w substracie torfowym. *Materiały VIII Sympozjum „Mikroelementy w rolnictwie”*. *Zeszyty Problemowe Nauk Rolniczych* 434:425-429

- Borkowski J. , Ostrzycka J. , Dyśko J. 1997. Effect of organic fertilizer Pollina and the preparation Trichodex 25 WP on tomatoes cultivated in glasshouse conditions. VIII Conference of the Section for biological control of plant diseases of the Polish Phytopathological Society. Trichoderma spp. , other microorganisms and plant extracts in plant diseases control: 101-105. Skierniewice
- Dyki B. , Habdas H. 1996. Metoda izolowania epidermy liści pomidora i ogórka dla mikroskopowej oceny rozwoju grzybów patogenicznych. Acta Agrobotanica 49,1-2:123-129
- Gumińska Z. , Ciechanowska J. , Skibicka B. , 1984. Mikroelementy we wrocławskiej uprawie hydroponicznej. Zesz. Probl. Postępów Nauk Rolniczych, 242:499-508
- Ostrzycka J. , Borkowski J. , Kowalczyk W. 1996. Wpływ niedoboru miedzi na zawartość proliny (aminokwas stresu wodnego) w liściach pomidorów. Materiały z konferencji: Ekofizjologiczne aspekty reakcji roślin na działanie abiotycznych czynników stresowych:417-421. PAN Kraków
- Weryszko-Chmielewska E. 1992. Zmiany morfologiczne i anatomiczne w organach kilku gatunków roślin w warunkach niedoboru miedzi. Rozprawa habilitacyjna. Wydawnictwo Akademii Rolniczej. Lublin

Streszczenie

Porównywano reakcję roślin pomidora, a głównie powierzchni liści na niedobór miedzi i deficyt wodny. Rośliny odmiany Tukan F₁ rosnące przy niedoborze miedzi i w warunkach stresu wodnego były znacznie niższe niż kontrolne i charakteryzowały się mniejszym turgorem. Komórki epidermy dolnej strony liści, zarówno u roślin z deficytem miedzi jak i deficytem wody, były mniejsze niż w kontroli, natomiast miały większą liczbę aparatów szparkowych i włosków. Szczeliny aparatów szparkowych były zawsze mniejsze u roślin rosnących w warunkach deficytu miedzi lub wody niż w kontroli.