

## WPŁYW STRESU ZASOLENIA I SUSZY NA WCZESNY ROZWÓJ WYBRANYCH GATUNKÓW PASTEWNYCH

KATARZYNA MOŹDŹEŃ<sup>1</sup>, BEATA BARABASZ-KRASNY<sup>2</sup>, JOANNA PUŁA<sup>3</sup>,  
ANDRZEJ LEPIARCZYK<sup>3</sup>, PEIMAN ZANDI<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Zakład Fizjologii Roślin, Instytut Biologii, Uniwersytet Pedagogiczny w Krakowie,  
ul. Podchorążych 2, 30-084 Kraków,

<sup>2</sup>Zakład Botaniki, Instytut Biologii, Uniwersytet Pedagogiczny w Krakowie,  
ul. Podchorążych 2, 30-084 Kraków,

<sup>3</sup>Katedra Agrotechniki Ekologii Rolniczej, Uniwersytet Rolniczy im. H. Kołłątaja,  
al. A. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków,

<sup>4</sup>Institute of Environment and Sustainable Development in Agriculture, Chinese Academy of Agricultural  
Sciences, Beijing 100081, P. R. China

**Synopsis.** Do badań wybrano dwa pospolite gatunki pastewne *Trifolium pratense* L. odmiany Dajana oraz *Lolium multiflorum* Lam. odmiany Mitos. Analizy wykonano na przełomie kwietnia i maja 2017 roku, w warunkach laboratoryjnych w Instytucie Biologii Uniwersytetu Pedagogicznego w Krakowie. Celem podjętych badań było określenie wpływu związków NaCl, KCl i mannitolu C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>(OH)<sub>6</sub> na kiełkowanie i wzrost nasion wybranych gatunków pastewnych. W rezultacie przeprowadzonych badań stwierdzono, że wraz ze wzrostem koncentracji soli w podłożu następuje zmniejszenie zdolności kiełkowania nasion. Zaobserwowano również zahamowanie wzrostu siewek i przyrostu ich suchej masy. Najmniejszą wrażliwość na zmiany morfologiczne wykazały nasiona obydwu gatunków podlewane 0,5% roztworami analizowanych soli.

**Słowa kluczowe:** chlorki, kiełkowanie nasion, mannitol, *Lolium multiflorum* cv. Mitos, *Trifolium pratense* cv. Dajana

### WSTĘP

W ostatnich latach problem zasolenia gleb nabiera szczególnej wagi ze względu na stosowanie coraz większej ilości soli w rolnictwie, a także poprzez chemiczne odśnieżanie dróg oraz wzrost zapotrzebowania na wodę słodką, wynikający z rozwoju rolnictwa i różnych dziedzin przemysłu [Alem i in. 2002, Dudley i in. 2014, Khayatnezhad i Gholamin 2011, Santo i in. 2017]. Gleby zasolone to takie, w których stężenie soli nieorganicznych przekracza 0,5% [Musirowicz 1952]. Występują one, zarówno w środowiskach wilgotnych, jak i suchych. Do tego rodzaju gleb należą, m.in. gleby terenów bagnistych, ulegające okresowemu zalewaniu wodą morską, a także gleby siedlisk określane jako suche, położone w głębi łąd, gdzie szybkość parowania przewyższa ilość opadów, a wysokie stężenia soli pochodzą głównie z obumarłych szczątków roślin [Munns i Tester 2008].

Duża koncentracja soli, zwłaszcza kationów jednowartościowych, destrukcyjnie wpływa na glebę i przyczynia się do zaburzenia równowagi występujących w niej makro i mikroelementów,

<sup>3</sup> Adres do korespondencji – *Corresponding address*: rrpula@cyf-kr.edu.pl

a tym samym wpływa negatywnie na wzrost oraz rozwój roślin [Maciak 1999]. W zależności od gatunku, fazy rozwojowej rośliny, a także innych czynników środowiska, wrażliwość roślin na zasolenie podłoża jest bardzo różna [Fernández i in. 2015, Matuszak i Brzostowicz 2006, Santo i in. 2017]. Niektóre gatunki przystosowane są do życia w warunkach wysokiego stężenia soli, a inne nie [Latowski i Żukowski 1985]. Te pierwsze cechują się wysokim współczynnikiem transpiracji, co chroni je przed nadmierną koncentracją soli w glebie. Niektóre rośliny nie pobierają soli lub pobierają je, ale są one wydalane przez gruczoły solne występujące w liściach lub unieruchamiają ich dostęp do miejsc aktywnych metabolicznie. Nieliczne rośliny mają zdolność zrzucania organów zawierających sól.

Halofity, to grupa roślin przystosowanych do zasolonego podłoża. Jednak większość gatunków zasiedlających stanowiska wzdłuż ruchliwych ciągów komunikacyjnych to typowe glikofity, które źle tolerują zasolenie [Hasegova 1986]. Negatywny wpływ zasolenia wynika przede wszystkim z ograniczenia dostępności wody za sprawą obniżenia potencjału osmotycznego roztworu glebowego, co prowadzi do zaburzeń procesów fizjologicznych, a także wywołuje zmiany anatomiczno-morfologiczne. W skrajnych przypadkach powoduje nawet śmierć rośliny [Możdżeń i in. 2015, Zörb i in. 2004].

Do tej pory, pomimo wielu badań, w pełni nie są poznane wszystkie reakcje na stres suszy, zarówno nasion, jak i roślin z nich wyrosłych [Córdoba 1995]. Istniejąca obszerna literatura wciąż budzi kontrowersje w kwestii mechanizmów tolerancji roślin na zasolenie [Shannon 1998]. Prezentowana praca stanowi część badań nad wpływem stresu solnego i stresu suszy osmotycznej, wywołanych przez NaCl, KCl oraz mannitol.

Celem badań było określenie wpływu wyżej wymienionych związków występujących w podłożu na energię i zdolność kiełkowania [1], wzrost [2] oraz wytwarzanie biomasy [3] przez nasiona *Trifolium pratense* L. cv. Dajana i *Lolium multiflorum* Lam. cv. Mitoś.

## MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na przełomie kwietnia i maja 2017 roku w warunkach laboratoryjnych w Instytucie Biologii Uniwersytetu Pedagogicznego w Krakowie. W doświadczeniu wykorzystano nasiona koniczyny czerwonej (*Trifolium pratense* L.) odmiany Dajana i życicy wielokwiatowej (*Lolium multiflorum* Lam.) odmiany Mitoś. Morfologicznie podobne nasiona obu gatunków umieszczano po 100 sztuk na szalkach Petriego, o średnicy 9 cm i podlewano wodnymi roztworami soli: NaCl, KCl i mannitolu, o stężeniach: 0,5; 1,0 i 1,5%. Po trzech dniach oznaczono energię kiełkowania nasion, a po siedmiu zdolność kiełkowania. Za wykiełkowane nasiona uważano te, których kiełki osiągały długość co najmniej 2 mm. Średni czas kiełkowania (MGT) został obliczony na podstawie formuły zaproponowanej przez Ellis i Roberts [1980]:

$$MGT = \frac{\sum fx}{\sum f},$$

gdzie: x jest liczbą nowych nasion kiełkujących w dniu f, a f jest liczbą dni od początku.

Wskaźniki szybkości (PI) i tolerancji kiełkowania na stres (GSTI) obliczono według wzorów [Noreen i in. 2007]:

$$PI = nd2 \cdot (1,00) + nd4 \cdot (0,75) + nd6 \cdot (0,50) + nd8 \cdot (0,25),$$

gdzie: nd2, nd4, nd6 i nd8 to liczby nasion, kiełkujących odpowiednio w 2, 4, 6 i 8 dniu,

$$GSTI (\%) = (PI \text{ nasion poddanych stresowi} / PI \text{ nasion kontrolnych}) \cdot 100.$$

Wpływ zasolenia na wzrost siewek na długość (część podziemna i nadziemna) analizowanych gatunków mierzono po 7 dniach od rozpoczęcia eksperymentu. Świeżą masę 7 dniowych siewek zważono na wadze laboratoryjnej (1600 C Mediat, Poland). Do otrzymania suchej

masy materiał roślinny suszono w 105°C w suszarce (Termaks 8430, Poland). Procentową zawartość wody [WC] określono według wzoru:

$$WC [\%] = 100 - (DW \cdot 100) / FW,$$

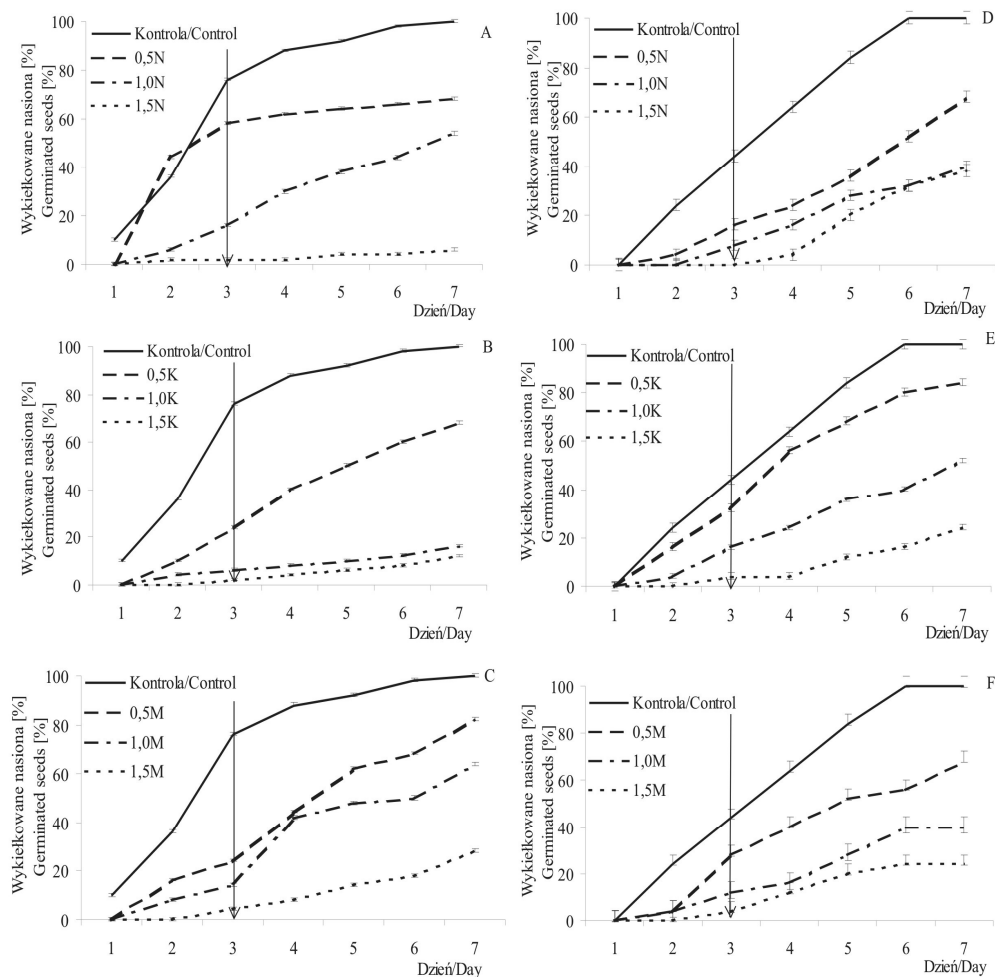
gdzie: DW to sucha masa nasion, a FW to świeża masa nasion.

Uzyskane wyniki stanowią wartości średnie, z pięciu niezależnych powtórzeń ( $n = 5$ ), wykonanych w dwóch seriach wraz z odchyleniem standardowym ( $\pm SD$ ), dla każdego stężenia soli i próby kontrolnej (woda destylowana). Analizę statystyczną przeprowadzono z użyciem nieparametrycznego testu Kruskala-Wallisa, po wcześniejszym teście jednorodności wariancji Leven'a, dla  $p \leq 0,05$ . W obliczeniach wykorzystano program Statistica 10.0 for Windows.

## WYNIKI I DYSKUSJA

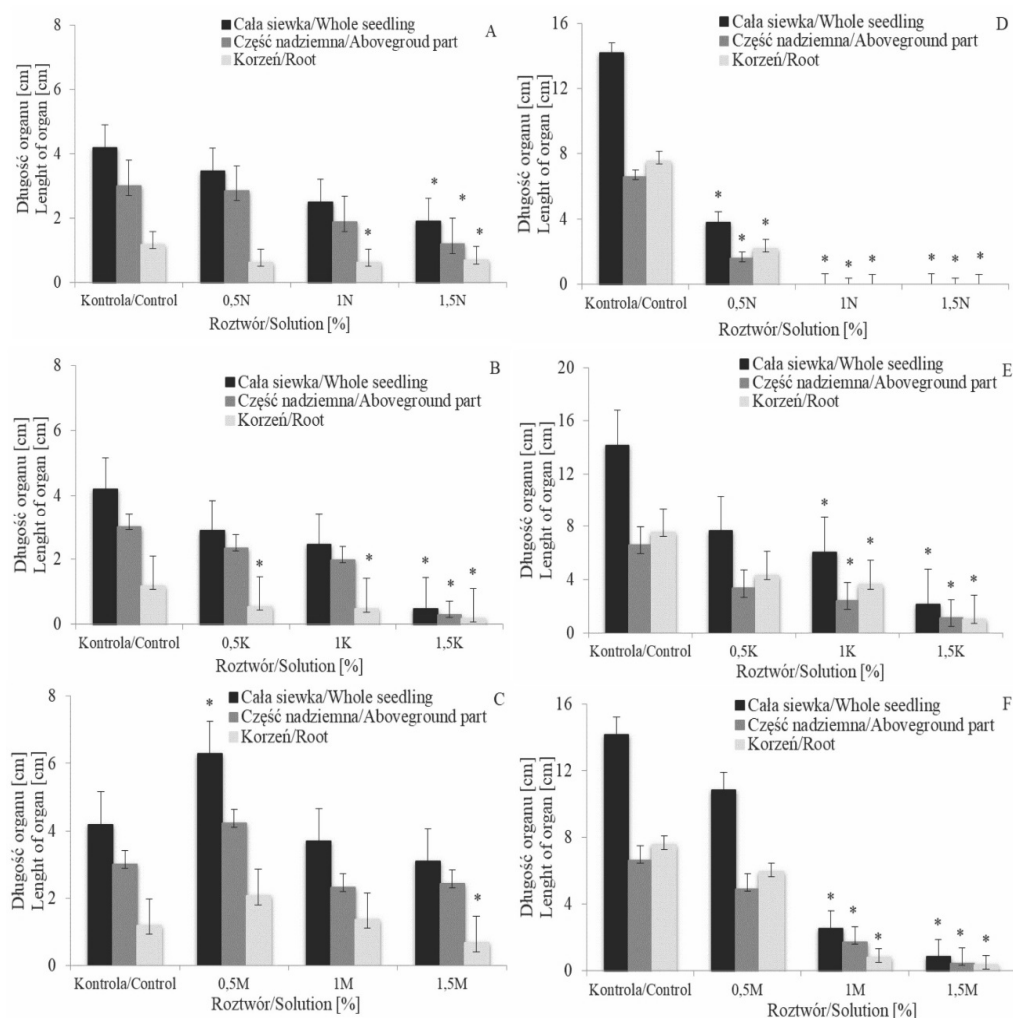
Reakcje badanych roślin na suszę i zasolenie były zbliżone (rys. 1 i 2). U obydwu gatunków warunki stresowe powodowały modyfikacje w funkcjonowaniu dróg biochemicznych i fizjologicznych. Zmiany te stwierdzono, zarówno w nasionach, jak i w siewkach wykiełkowanych z tych nasion, co obserwowano już wcześniej w doświadczeniach z innymi gatunkami [Możdżeń i in. 2015, Rasheed i in. 2014, Sheoran i in. 2005]. Według Kacperskiej [2002] jeśli w roślinie występuje nadmiar jednego z jonów, może to doprowadzić do deficytu innego jonu, wskutek ich konkurencji o te same miejsca wiązania w roślinie. Kielkowanie i wzrost nasion przebiegają prawidłowo tylko w odpowiednich warunkach środowiska zewnętrznego. Jak podaje Zawadzka [1976] żadne nasiona nie kiełkują dopóki nie pochłoną dostatecznej ilości wody, w celu uruchomienia procesów metabolicznych zarodków. Duże stężenie soli w warstwie powierzchniowej gleby jest przyczyną zmniejszania dostępności wody dla nasion. W warunkach zasolenia zwiększają się siły osmotyczne utrzymujące wodę w glebie [Bowman i in. 2000]. W rezultacie potencjał roztworu glebowego staje się bardzo niski. W wyniku zmniejszonego pobierania wody, zmniejsza się również ilość wykiełkowanych nasion [Wei i in. 2008, Ebrahimi i Eslami 2011, Giménez Luque i in. 2013].

W niniejszym eksperymencie, po trzech dniach w stosunku do kontroli, największą energię kiełkowania nasion koniczyny i życicy stwierdzono na podłożach z 0,5% roztworami soli, a najmniejszą na podłożach o koncentracji 1,5% (rys. 1). Stężenie 1,5% w każdym z zastosowanych roztworów soli hamowało kiełkowanie nasion obu gatunków. Nasiona *Lolium multiflorum* cv. Mitoś kiełkowały znacznie wolniej, w porównaniu z nasionami *Trifolium pratense* cv. Dajana. Według Almodares i in. [2007] wrażliwość na zasolenie wynika z nie w pełni rozwiniętych mechanizmów tolerancji. Na przykład Cavalcante i in. [2007] stwierdzili, że gujawa pospolita (*Psidium guajava* L.) jest bardziej wrażliwa na działanie soli podczas fazy kiełkowania, a mniej w początkowej fazie wzrostu. W badaniach prowadzonych na potrzeby niniejszej pracy, zarówno jony potasu, sodu, jak i chloru oraz mannitol w nadmiarze, wykazały negatywny wpływ na średni czas kiełkowania (MGT), wskaźnik szybkości kiełkowania (PI) oraz wskaźnik tolerancji kiełkowania na stres (GSTI) nasion testowanych gatunków pastewnych (tab. 1). Rahman i in. [2008] tłumaczą to zjawisko zmianami stosunków wodnych w przestrzeniach międzykomórkowych nasion, a Saboora i Kiarostami [2006] aktywacją reaktywnych form tlenu, które wywołują uszkodzenia struktur komórkowych. Według Ayaz i in. [2000] zmniejszenie kiełkowania jest związane ze wzrostem związków fenolowych. Guma i in. [2010] podkreślają, że np. u solanki (*Salsola vermiculata* L.) ważną rolę w kiełkowaniu w warunkach zasolenia odgrywa temperatura.



Rys. 1. Energia (zaznaczona strzałką) i zdolność kiełkowania nasion *Trifolium pratense* cv. Dajana (A, B, C) i *Lolium multiflorum* cv. Mitos (D, E, F) w warunkach stresu solnego NaCl (N) i KCl (K) oraz mannitolowego (M) stresu osmotycznego; średnie ( $\pm$ SD) z 5 powtórzeń w dwóch seriach  
 Fig. 1. Energy (marked with the arrow) and capacity germination of *Trifolium pratense* cv. Dajana (A, B, C) and *Lolium multiflorum* cv. Mitos (D, E, F) seeds during salt stress NaCl (N) and KCl (K) and mannitol (M) osmotic stress; mean values ( $\pm$ SD) for 5 repetitions in two series

Z przeprowadzonych badań wynika, że poddawanie nasion działaniu NaCl i KCl, a także podlewanie mannitolem, powoduje nie tylko zaburzenia kiełkowania, ale ma następczy wpływ na przyrost świeżej i suchej masy siewek badanych gatunków (tab. 2). W każdym ze stężeń zastosowanych roztworów soli, wraz ze wzrostem ich koncentracji w podłożu, zaobserwowano zmniejszenie przyrostu świeżej masy siewek obydwu analizowanych roślin pastewnych. Obniżenie biomasy jest reakcją właściwą dla glikofitów, czyli roślin wrażliwych na stres solny



Rys. 2. Długość siewek *Trifolium pratense* cv. Dajana (A – NaCl [N], B – KCl [K], C – mannitol [M]) i *Lolium multiflorum* cv. Mitos (D – NaCl [N], E – KCl [K], F – mannitol [M]) w warunkach stresu solnego i osmotycznego; wartości średnie ( $\pm$ SD) z 5 powtórzeń w dwóch seriach, oznaczone \* różnią się istotnie wg testu Kruskala-Wallis przy  $p \leq 0,05$

Fig. 2. Length of *Trifolium pratense* cv. Dajana (A – NaCl [N], B – KCl [K], C – mannitol [M]) and *Lolium multiflorum* cv. Mitos (D – NaCl [N], E – KCl [K], F – mannitol [M]) seedlings during salt and osmotic stress; mean values ( $\pm$ SD) for 5 repetitions and two series, marked \* differ significantly according to the Kruskal-Wallis test at  $p \leq 0.05$

[Chaparzadeh i in. 2004]. Wielu autorów tłumaczy tego rodzaju skutki obniżeniem intensywności procesów metabolicznych zachodzących w nasionach. Zasolenie podłoża i susza powodują zakłócenia syntezy białek, przemian kwasów nukleinowych, zgrubienia ścian komórkowych

Tabela 1. Średni czas kiełkowania (MGT), wskaźnik szybkości kiełkowania (PI) oraz wskaźnik tolerancji kiełkowania na stres (GSTI) dla nasion *Trifolium pratense* cv. Dajana i *Lolium multiflorum* cv. Mitos, wykiełkowanych na podłożach o różnej koncentracji NaCl, KCl i mannitolu – C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>(OH)<sub>6</sub>

Table 1. Mean germination time (MGT), the promptness index (PI) and the germination stress tolerance index (GSTI) for seeds of *Trifolium pratense* cv. Dajana and *Lolium multiflorum* cv. Mitos germinated on various concentrations of NaCl, KCl and mannitol – C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>(OH)<sub>6</sub>

Nasiona Seeds	Stężenie w podłożu Concentration in the medium (%)		MGT	PI	GSTI	
<i>Trifolium pratense</i>	Kontrola/Control		5,1 ±1,89	18 ±1,51	100 ±2,10	
	NaCl	0,5	6,3 ±2,49	80 ±2,14	14 ±2,68	
		1,0	0,9* ±1,25	36* ±1,20	6* ±2,76	
		1,5	0,3* ±0,47	4* ±1,56	1* ±0,9	
	KCl	0,5	1,4* ±0,82	49 ±1,27	9* ±2,23	
		1,0	0,6* ±0,47	11* ±0,98	2* ±1,03	
		1,5	0,0* ±0,00	6* ±3,09	1* ±0,44	
	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> (OH) <sub>6</sub>	0,5	2,3* ±1,25	59 ±4,54	10 ±4,67	
		1,0	1,1* ±0,82	46 ±1,15	8* ±4,42	
		1,5	0,0* ±0,00	13* ±1,33	2* ±0,78	
	<i>Lolium multiflorum</i>	Kontrola/Control		3,4 ±3,30	15 ±1,15	100 ±1,29
		NaCl	0,5	0,6* ±0,47	44* ±1,22	7* ±1,07
1,0			0,0* ±0,00	26* ±1,22	4* ±0,93	
1,5			0,0* ±0,00	19* ±1,75	3* ±0,93	
KCl		0,5	2,3 ±1,70	81 ±1,21	12 ±1,99	
		1,0	0,6* ±0,47	37* ±1,22	6* ±0,91	
		1,5	0,0* ±0,00	16* ±2,24	2* ±0,94	
C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> (OH) <sub>6</sub>		0,5	0,6* ±0,82	54 ±1,66	8* ±2,96	
		1,0	0,6* ±0,47	31* ±1,13	5* ±1,80	
		1,5	0,0* ±0,00	18* ±0,76	3* ±1,75	

Wartości średnie (±SD) z 5 powtórzeń w dwóch seriach, oznaczone \* różnią się istotnie wg testu Kruskala-Wallisa przy  $p \leq 0,05$ / mean values (±SD) for 5 repetitions and two series, marked \* differ significantly according to the Kruskal-Wallis test at  $p \leq 0.05$

w korzeniach, a także zwiększają przepuszczalność membran komórkowych [Hichem i in. 2009, Jaleel i in. 2009].

Otrzymane w niniejszym doświadczeniu wyniki dotyczące wartości suchej masy są zbieżne z danymi uzyskanymi, np. przez Dash i Panda [2001]. W porównaniu z kontrolą, zaobserwowano tu zwiększenie przyrostu suchej masy siewek poddanych zasoleniu i stresowi suszy (tab. 2). Jedy- nym wyjątkiem były siewki koniczyny czerwonej podlewane 1,5% wodnymi roztworami NaCl.

Tabela 2. Świeża i sucha masa oraz procentowa zawartość wody w pojedynczych siewkach *Trifolium pratense* cv. Dajana (A) i *Lolium multiflorum* cv. Mitos (B) wykielkowanych na podłożach o różnej koncentracji NaCl – (N), KCl – (K) oraz mannitolu – (M)  
 Table 2. Fresh and dry weight and percentage water content in seedlings individuals of *Trifolium pratense* cv. Dajana (A) and *Lolium multiflorum* cv. Mitos (B), germinated on substrates of different concentrations of NaCl – (N), KCl – (K) and mannitol – (M)

Gatunki Species	Stężenie roztworu/Concentration of the solution (%)									
	Kontrola Control	0,5N	1,0N	1,5N	0,5K	1,0K	1,5K	0,5M	1,0M	1,5M
	Świeża masa/Fresh weight (g)									
A	0,0197 ±0,004	0,0165 ±0,004	0,0125 ±0,004	0,0038* ±0,0002	0,0125 ±0,003	0,0123 ±0,003	0,0087* ±0,003	0,0183 ±0,003	0,0130 ±0,002	0,0087* ±0,003
B	0,0347 ±0,004	0,0223 ±0,003	0,0182 ±0,003	0,0132* ±0,003	0,0133* ±0,005	0,0153 ±0,005	0,0102* ±0,003	0,0293 ±0,011	0,0136* ±0,001	0,0136* ±0,002
	Sucha masa/Dry weight (g)									
A	0,0005 ±0,0004	0,0011* ±0,0007	0,0010* ±0,001	0,0002* ±0,005	0,0009 ±0,001	0,0016* ±0,0005	0,0007 ±0,0001	0,0012* ±0,0009	0,0010* ±0,0002	0,0006 ±0,0004
B	0,0031 ±0,0006	0,0024 ±0,0009	0,0029 ±0,001	0,0038 ±0,001	0,0036 ±0,0007	0,0047* ±0,001	0,0045* ±0,001	0,0028 ±0,001	0,0031 ±0,0005	0,0031 ±0,0002
	Zawartość wody/Water content (%)									
A	97,71 ±1,88	93,72 ±4,72	91,87 ±11,04	94,18 ±6,13	93,46 ±3,64	85,37 ±3,43	91,43 ±1,93	93,34 ±4,51	92,44 ±4,51	93,31 ±4,04
B	90,79 ±2,68	89,22 ±13,40	84,28 ±15,13	69,58* ±7,77	69,94* ±2,54	67,80* ±1,62	55,23 ±9,82	90,05 ±4,97	76,92* ±2,41	78,23* ±7,47

Wartości średnie (±SD) z 5 powtórzeń w dwóch seriach, oznaczone \* różnią się istotnie wg testu Kruskala-Wallis przy  $p \leq 0,05$ / mean values (±SD) for 5 repetitions and two series, marked \* differ significantly according to the Kruskal-Wallis test at  $p \leq 0,05$

W tym przypadku stwierdzono wyraźnie zahamowanie przyrostu suchej masy, zarówno w stosunku do siewek kontrolnych, jak i tych poddanych działaniu innych soli, w każdym ze stężeń. Zmiany w przyroście masy w wyniku zasolenia zaobserwowali, m.in.: Andriolo i in. [2005] u sałaty (*Lactuca sativa* L.), Dantus i in. [2005] u wspięgi wężowatej (*Vigna unguiculata* L.) oraz Nedjimi i in. [2006] u łobody solniskowej (*Atriplex halimus* L. subsp. *schweinfurthii*). Tego rodzaju zmiany mogą być spowodowane zwiększeniem wakuoli, które pozwalają na gromadzenie większych ilości wody i rozpuszczanie zawartych w nich jonów soli [Munns 2002]. Według Munns i James [2003] odmiany odporne na działanie soli zazwyczaj mają tendencję do utrzymywania większej biomasy roślinnej. Wydajność ta polega na zmniejszeniu powierzchni liści i ich transpiracji, przy jednoczesnym wzroście turgoru komórek [Omami i Hammes 2006].

W przypadku procentowej zawartości wody, wszystkie stosowane roztwory soli powodowały zmniejszenie jej zawartości wraz ze zwiększeniem zasolenia środowiska (tab. 2). Podobną utratę wody w roślinach, np. z rodzaju szarłat (*Amaranthus* sp.) obserwowali Omami i Hammes [2006] oraz w siewkach i roślinach kukurydzy *Zea mays* L. Możdżeń i in. [2015]. Zasolenie i susza osmotyczna hamuje wzrost korzeni oraz pędów z powodu opóźniania wnikania wody i składników mineralnych z gleby [Neumann 1995]. W niniejszych badaniach, wraz ze wzrostem stężeń wodnych roztworów soli obserwowano istotnie zmniejszenie przyrostu siewek gatunków roślin pastewnych (rys. 2). W porównaniu z próbą kontrolną, stężenie 0,5% w każdym z roztworów nieznacznie hamowało wzrost organów podziemnych i nadziemnych siewek. Wyjątkiem był manitol, który w koncentracji 0,5% powodował stymulację wzrostu siewek koniczyny czerwonej, w stosunku do próby kontrolnej. Największe różnice we wzroście wykazano dla nasion kiełkujących na podłożach z 1,5% koncentracją soli. Istotnie zmniejszenie przyrostu wykazano dla siewek życicy wielokwiatowej poddanych działaniu wodnych roztworów 1,0% i 1,5% NaCl, w stosunku do kontroli i dwóch pozostałych substancji. Podobne reakcje na zasolenie oraz suszę zaobserwowali Pérez-Alfocea i in. [1993] u pomidorów (*Lycopersicon esculentum* Mill.) i (*L. pennellii* (Correll) D'Arcy). Natomiast badania Demir i Mavi [2008] wykazały, że nasiona papryki (*Capsicum annuum* L.) były bardziej wrażliwe na stres osmotyczny niż na zasolenie NaCl.

Zmiany zachodzące na etapie kiełkowania mają wpływ na dalszy rozwój i wzrost roślin [Mauromicale i Licandro 2002]. W przypadku wzrostu pędów zmiany te wynikają z sygnałów hormonalnych generowanych przez korzenie [Ates i Tekeli 2007, Munns 2002]. W ich efekcie, u roślin następują zaburzenia w procesie fotosyntezy przez zamykanie aparatów szparkowych i zmiany w strukturze chloroplastów, którym towarzyszą zaburzenia syntezy chlorofilu [Możdżeń i in. 2015, Murillo-Amador i in. 2007, Taffouo i in. 2010]. Zakłóceniu ulega transport elektronów i fosforylacja, następują ograniczenia w asymilacji azotu. Liście roślin przejawiają wyraźne cechy kserotermiczne. Rośliny rosnące na terenach zasolonych są karłowate i mają małe, niebiesko-zielone liście. W skrajnych przypadkach szkodliwe działanie soli objawia się wędnięciem. W niniejszych badaniach wykazano, że już we wczesnych etapach wzrostu, susza odgrywa istotną rolę w procesach metabolicznych roślin. W porównaniu z kontrolą, w każdym ze stężeń soli obserwowano zmniejszenie zdolności kiełkowania, przyrostu na długość i wzrostu biomasy siewek badanych gatunków pastewnych. Niekorzystny wpływ mannitolu, KCl i NaCl na kiełkowanie i wczesny wzrost siewek był spowodowany efektem osmotycznym i działaniem danego jonu. Sód konkurując z potasem zakłóca jego transport w komórce, wywołując destabilizację gospodarki wodnej [Khayatnezhad i Gholamin 2011]. Tego rodzaju zależności pomiędzy sodem i potasem zostały opisane, m.in. u przedstawicieli rodziny szarłatowate – *Haloxylon recurvum* Bunge ex Boiss [Khan i in. 2000] oraz *Kochia prostrata* (L.) Schrad. [Karimi i in. 2005]. Wpływ na procesy metaboliczne mają nie tylko kationy, ale również aniony. Warto podkreślić, że jony chlorkowe (Cl<sup>-</sup>) nie są związane z cząstkami gleby i mają tendencję do poruszania się w roztworze glebowym. Z tego powodu są pobierane przez korzenie i mogą gromadzić



się w liściach wielu roślin. Rola chloru polega nie tylko na zwiększaniu hydratacji tkanek, ale także wpływa na wartości suchej masy liści [White i Broadley 2001]. Według Orlovsky i in. [2016] stosowanie soli zawierających jony dwuwartościowe  $\text{Ca}^{2+}$  i  $\text{Mg}^{2+}$  koryguje nierównowagę i zmniejsza negatywne oddziaływanie jonów jednowartościowych  $\text{Na}^+$  i  $\text{Cl}^-$ . Niektóre gatunki halofitów akumulują  $\text{Na}^+$  i  $\text{Cl}^-$  w wakuoli, za pośrednictwem tonoplastowych anty-nośników (anty-poryterów)  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ , co umożliwia cytoplazmie w znacznym stopniu zachowanie niższej koncentracji jonów, unikając hamowania metabolicznego [Serrano i Gaxiola 1994].

Zahamowanie wzrostu komórek jest nie tylko objawem uszkodzenia, ale też wynikiem strategii obronnej roślin. Zdolność roślin do tolerowania zasolenia środowiska zależy od wielu szlaków biochemicznych, które ułatwiają utrzymanie i / lub nabywanie wody. Chronią one przed uszkodzeniami organelli komórkowych oraz uczestniczą w utrzymywaniu homeostazy jonów. Szlaki te odpowiadają za syntezę osmotycznie aktywnych metabolitów, specyficznych białek i enzymów, wychwytyjących wolne rodniki oraz kontrolujących przepływ jonów i wody. Pomagają w oczyszczaniu rodników tlenowych i białek opiekuńczych [Parida i Das 2005]. Za utrzymanie homeostazy jonowej podczas stresu soli w roślinach odpowiadają wyspecjalizowane transportery kationów. Na przykład, u rzodkiewnika *Arabidopsis* sp. zidentyfikowano antyporytery sodowo-protonowe (NHX1) w wakuoli oraz w błonie plazmatycznej (SOS1) [Serrano i Rodriguez-Navarro 2001].

Reakcje roślin na podwyższone stężenie soli w podłożu zależą od gatunku i odmiany [Demir i Mavi 2008, Khan i Gul 2006, Zawadzka 1976]. Wysoka zawartość soli jest szczególnie szkodliwa dla roślin zielnych, rosnących na obszarach suchych o małej sumie rocznych opadów i w miejscach, gdzie opady deszczu są gwałtowne [White i Broadley 2001]. Według Winter i Lauchli [1982], np. *Trifolium pratense* ma niewielki potencjał przeżywalności w warunkach zasolenia, w porównaniu do koniczyny aleksandryjskiej (*T. alexandrinum* L.), rosnącej na terenach suchych. Tolerancja roślin na zasolenie jest cechą wielogenową, co utrudnia ich tradycyjną hodowlę. Problem ten pogarsza fakt, że wciąż nie są znane miejsca metaboliczne, w których nasycenie solami powoduje stres [Ashraf 2004].

Badania prowadzone na roślinach uprawnych na podłożach z dużą zawartością soli mogą przyczynić się do rozwoju rolnictwa i zwiększania produkcji roślinnej, przy olbrzymich potrzebach rozrastającej się populacji ludzkiej. W powyższy nurt badań wpisują się również eksperymenty przeprowadzane na potrzeby niniejszego opracowania. Na terenach, gdzie występują wysokie stężenia soli, powinny być stosowane nasiona roślin tolerujących nie tylko zasolenie, ale zdolnych do rozwoju i wzrostu w określonych warunkach glebowych oraz klimatycznych [Dudley i in. 2014]. W ostatnich latach problem stresu suszy u roślin zdaje się być coraz bardziej aktualny. Postęp badań nad stresem solnym może przyczynić się do właściwego zrozumienia całego cyklu życiowego roślin w najbardziej krytycznych warunkach środowiskowych [Varier i in. 2010].

## WNIOSKI

1. Stres solny i stres suszy negatywnie wpływały na wskaźniki kiełkowania nasion *Trifolium pratense* cv. Dajana oraz *Lolium multiflorum* cv. Mitos.; wraz ze wzrostem koncentracji analizowanych substancji chemicznych wykazano zmniejszenie zdolności kiełkowania nasion.
2. Na etapie kiełkowania zastosowane związki chemiczne o różnych stężeniach miały negatywny wpływ na wzrost siewek koniczyny i życicy.
3. W obecności NaCl, KCl i mannitolu nasiona badanych gatunków pastewnych wykazały zaburzenia w przyroście biomasy i w procentowej zawartości wody.

## PIŚMIENNICTWO

- Alem C., Labhilili M., Brahmi K., Jlibene M., Nasrallah N., Filali-Maltouf A. 2002. Adaptations hydrique et photosynthétique du ble dur et du ble tendre au stress salin. *Biologie et Pathologie Vegetales* 325: 1097–1109.
- Almodares A., Hadi M.R., Dosti B. 2007. Effects of salt stress on germination percentage and seedling growth in sweet sorghum cultivars. *J. Biol. Sci.* 7: 1492–1495.
- Andriolo J.L., Gean L.D., Maiquel H.W., Rodrigo D.S.G., Gis O.C.B. 2005. Growth and yield of lettuce plants under salinity. *Hortic. Bras.* 23(4): 931–934.
- Ashraf M. 2004. Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. *Flora* 199: 361–376.
- Ates E., Tekeli A.S. 2007. Salinity tolerance of persian clover (*Trifolium resupinatum* var. Majus Boiss.) lines at germination and seedling stage. *World J. Agric. Sci.* 3(1): 71–79.
- Ayaz F.A., Kadioglu A., Turgut R. 2000. Water stress effects on the content of low molecular weight carbohydrates and phenolic acids in *Ctenanthe setosa* (Rose.) Eichler. *Can. J. Plant Sci.* 80: 373–378.
- Bowman D.C., Devitt D.A., Miller W.W. 2000. The effect of salinity on filtrate leaching from tall rescue turfgrass. *ACS Symposium Series* 743: 164–178.
- Cavalcante I.H.L., Cavalcante L.F., Hu Y., Beckmann-Cavalcante M.Z. 2007. Water salinity and initial development of four guava (*Psidium guajava* L.) cultivars in North-Eastern Brazil. *J. Fruit Ornam. Plant Res.* 15: 71–80.
- Chaparzadeh N., D'Amico M.L., Khavari-Nejad R.-A., Izzo R., Navari-Izzo F. 2004. Antioxidative responses of *Calendula officinalis* under salinity conditions. *Plant Physiol. Biochem.* 42: 695–701.
- Córdoba G.A.T., Borges E.E.L., Borges R.C.G., Neves J.C.L. 1995. Osmocondicionamento em sementes de *Esenbeckia leiocarpa* ENGL (Guarantã). *Rev. Bras. Sementes.* 17(2): 220–226.
- Dantus B.F., Ribeiro L., Aragao C.A. 2005. Physiological response of cowpea seeds to salinity stress. *Rev. Bras. Sementes.* 27(1): 144–148.
- Dash M., Panda S.K. 2001. Salt stress induced changes in growth and enzyme activities in germinating *Phaseolus mungo* seeds. *Biol. Plantarum* 44: 587–589.
- Demir I., Mavi K. 2008. Effect of salt and osmotic stresses on the germination of pepper seeds of different maturation stages. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 51(5): 897–902.
- Dudley M.M., Jacobi W.R., Brown C.S. 2014. Roadway deicer effects on the germination of native grasses and forbs. *Water Air Soil Poll.* 225: 1984.
- Ebrahimi E., Eslami S.V. 2011. Effect of environmental factors on seed germination and seedling emergence of invasive *Ceratocarpus arenarius*. *Weed Res.* 52: 50–59.
- Ellis R.H., Roberts E.H. 1980. Towards a rational basis for testing seed quality. In: *Seed Production* (ed: Hebblethwaite PD). Butterworths. London. pp: 605–635.
- Fernández I.C.D., Luque E.G., Mercado F.G. 2015. Germination responses of *Limonium insigne* (Coss.) Kuntze to salinity and temperature. *Pak. J. Bot.* 47(3): 807–812.
- Giménez Luque E., Delgado Fernández I.C., Gómez Mercado F. 2013. Effect of salinity and temperature on seed germination in *Limonium cossonianum*. *Botany* 91(1): 12–16.
- Guma I.R., Padro'n-Mederos M.A., Santos-Guerra A., Reyes-Betancort J.A. 2010. Effect of temperature and salinity on germination of *Salsola vermiculata* L. (Chenopodiaceae) from Canary Islands. *J. Arid Environ.* 74: 708–711.
- Hasegova P.M. 1986. Cellulal mechanism of salinity tolerance. *Hort. Sci.* 21: 1317–1324.
- Hichem H., Mounir D., Naceur E. 2009. Differential responses of two maize (*Zea mays* L.) varieties to salt stress: Changes on polyphenols composition of foliage and oxidative damages. *Ind. Crop Prod.* 30: 144–151.
- Jaleel C.A., Gopi R., Paneerselvam R. 2009. Alterations in non-enzymatic antioxidant components of *Catharanthus roseus* exposed to paclobutrazol, gibberellic acid and *Pseudomonas fluorescens*. *Plant Omics J.* 2: 30–40.
- Kacperska A. 2002. Reakcje roślin na abiotyczne czynniki środowiska. W: *Kopcewicz J., Lewak S. (red.). Fizjologia roślin.* PWN, Warszawa, 612–678.
- Karimi G., Ghorbanli M., Heidari H., Khavari R., Assareh M. 2005. The effects of NaCl on growth, water relations, osmolytes and ion content in *Kochia prostrata*. *Biol. Plantarum* 49: 301–304.

- Khan M.A., Gul B. 2006. Halophyte seed germination ecophysiology of high salinity tolerant plants. The Netherlands 2: 11–30.
- Khan M.A., Ungar I.A., Showalter A.M. 2000. Showalter effects of sodium chloride treatments on growth and ion accumulation of the halophyte *Haloxylon recurvum* Commun. Soil Sci. Plant Analys. 31: 2763–2774.
- Khayatnezhad M., Gholamin R. 2011. Effects of water and salt stresses on germination and seedling growth in two durum wheat (*Triticum durum* Desf.) genotypes. Sci. Res. Essays 6(21): 4597–4603.
- Latowski K., Żukowski W. 1985. Anatomical characteristic of *Puccinellia distans* (L.) Parl. in natural and synantropic habitats. Bulletin Soc. Amis Sci. Lett. Ser. D, Sciences Biologiques. Wyd. PWN Warszawa-Poznań 25: 107–114.
- Maciak F. 1999. Ochrona i rekultywacja środowiska. Wyd. SGGW. Warszawa.
- Matuszak R., Brzóstowicz A. 2006. Ocena wpływu chlorku sodu na wzrost siewek dwóch odmian jęczmienia. Acta Agrophys. 7(4): 977–982.
- Mauromicale G., Licandro P. 2002. Salinity and temperature effects on germination, emergence and seedling growth of globe artichoke. Agronomie 22: 443–450.
- Możdżeń K., Bojarski B., Rut G., Migdalek G., Repka P., Rzepka A. 2015. Effect of drought stress induced by mannitol on physiological parameters of maize (*Zea mays* L.) seedlings and plants. J. Microb. Biotech. Food Sci. 4(2): 86–91.
- Munns R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell Environ. 25: 239–250.
- Munns R., James R.A. 2003. Screening methods for salinity tolerance: A case study with tetraploid wheat. Plant Soil 253: 201–218.
- Munns R., Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Rev. Plant Biol. 59: 651–681.
- Murillo-Amador B., Yamada S., Yamaguchi T., Puente E.R., Serrano N.A., Hernandez L.G., Aguilar R.L., Dieguez E.T., Garibay A.N. 2007. Salinity toxicity influence of calcium silicate on growth physiological parameters and mineral nutrition in two legume species under salt stress J. Agron. Crop Sci. 193: 413–421.
- Musierowicz A. 1952. Gleby słone. Soil Science Annual 2: 146–160.
- Nedjimi B., Daoud Y., Touati M. 2006. Growth, water relations, proline and ion content of in vitro cultured *Atriplex halimus* subsp. *schweinfurthii* as affected by CaCl<sub>2</sub>. Commun. Biometry Crop Sci. 1(2): 79–89.
- Noreen Z., Ashraf M., Hassan M.U. (2007). Inter-accessional variation for salt tolerance in pea (*Pisum sativum* L.) at germination and screening stage. Pak. J. Bot. 39(6): 2075–2085.
- Omami E.N., Hammes P.S. 2006. Interactive effects of salinity and water stress on growth, leaf water relations, and gas exchange in amaranth (*Amaranthus* spp.). New Zeal. J. Crop Hort. Sci. 34(1): 33–44.
- Orlovsky N., Japakova U., Zhang H., Volis S. 2016. Effect of salinity on seed germination, growth and ion content in dimorphic seeds of *Salicornia europaea* L. (Chenopodiaceae). Plant Diversity 38: 183–189.
- Parida A.K., Das A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicol. Environ. Saf. 60(3): 324–349.
- Pérez-Alfocea F., Estañ M.T., Caro M., Guerrier G. 1993. Osmotic adjustment in *Lycopersicon esculentum* and *L. pennellii* under NaCl and polyethylene glycol 6000 iso-osmotic stresses. Physiol. Plantarum 87: 493–498.
- Rahman M., Soomro U.A., Haq M.Z., Gul S. 2008. Effects of NaCl salinity on wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. World J. Agric. Sci. 4: 398–403.
- Rasheed R., Ashraf M.A., Parveen S., Iqbal M., Hussain I. 2014. Effect of salt stress on different growth and biochemical attributes in two canola (*Brassica napus* L.) Cultivars. Commun. Soil Sci. Plant Analys. 45(5): 669–679.
- Saboor A., Kiarostami K. 2006. Salinity tolerance of wheat genotype at germination and early seedling growth. Pak. J. Biol. Sci. 9: 2009–2021.
- Santo A., Mattana E., Frigau L., Marzo Pastor A., Picher Morelló M.C., Bacchetta G. 2017. Effects of NaCl stress on seed germination and seedling development of *Brassica insularis* Moris (Brassicaceae). Plant Biol. 19(3): 368–376.
- Serrano R., Gaxiola R. 1994. Microbial models and salt stress tolerance in plants. Crit. Rev. Plant Sci. 13: 121–138.

- Serrano R., Rodriguez-Navarro A. 2001. Ion homeostasis during salt stress in plants. *Curr. Opin. Cell Biol.* 13(4): 399–404.
- Shannon M.C. 1988. Adaptation of plant to salinity. *Adv. Agron.* 60: 75–119.
- Sheoran I.S., Olson D.J.H., Ross A.R.S., Sawhney V.K. 2005. Proteoma analysis of embryo and endosperm from germinating tomato seeds. *Proteomics* 5(14): 3752–3764.
- Taffouo V.D., Wamba O.F., Yombi E., Nono G.V., Akoe A. 2010. Growth, yield, water status and ionic distribution response of three bambara groundnut (*Vigna subterranean* (L.) verdc.) landraces grown under saline conditions. *Int. J. Bot.* 6(1): 53–58.
- Variar A., Vari K.A., Dadlani M. 2010. The subcellular basis of seed priming. *Current Sci.* 99(4): 450–456.
- Wei Y., Dong M., Huang Z., Tan D. 2008. Factors influencing seed germination of *Salsola affinis* L. (Chenopodiaceae), a dominant annual halophyte inhabiting the deserts of Xinjiang, China. *Flora* 203: 134–140.
- White P.J., Broadley M.R. 2001. Chloride in soils and its uptake and movement within the plant: a review. *Ann. Bot.* 88: 967–988.
- Winter E., Lauchli A. 1982. Salt Tolerance of *Trifolium alexandrinum* L.I. comparison of the salt response of *T. alexandrinum* and *T. pratense*. *Aust. J. Plant Physiol.* 9(2): 221–226.
- Zawadzka M. 1976. Ocena tolerancji wybranych gatunków traw i roślin motylkowatych na zasolenie środowiska. *Acta Agrobot.* 29(1): 85–98.
- Zörb Ch., Schmitt S., Neeb A., Karl S., Linder M., Schubert S. 2004. The biochemical reaction of maize (*Zea mays* L.) to salt stress is characterized by mitigation of symptoms and not by specific adaptation. *Plant Sci.* 167: 91–100.

K. MOŹDŹEŃ, B. BARABASZ-KRASNY, J. PUŁA, A. LEPIARCZYK, P. ZANDI

## THE INFLUENCE OF SALINITY AND DROUGHT STRESS ON THE EARLY GROWTH OF SELECTED FODDER PLANT SPECIES

### Summary

Two common fodder species *Trifolium pratense* L. cv. Dajana and *Lolium multiflorum* Lam. cv. Mitos were selected for the study. The analyses were carried out in laboratory conditions at the Institute of Biology of the Pedagogical University of Cracow, at the turn of April and May 2017. The aim of this study was to investigate the effect of NaCl, KCl and mannitol on the seed germination and growth of selected fodder species. Results demonstrated that when the salt concentration in the substrate is increased, the seed germination capacity of the species decreased. The inhibition of seedlings growth and their dry weight stimulation were also observed. The lowest morphological changes in the both seeds species were noticed for 0.5% salt concentration.

**Key words:** chlorides, seed germination, mannitol, *Lolium multiflorum* cv. Mitos, *Trifolium pratense* cv. Dajana

Zaakceptowano do druku – *Accepted for print*: 17.05.2018

Do cytowania – *For citation*

Możdżeń K., Barabasz-Krasny B., Puła J., Lepiarczyk A., Zandi P. 2018. Wpływ stresu zasolenia i suszy na wczesny rozwój wybranych gatunków pastewnych. *Fragm. Agron.* 35(3): 77–88.