

Matuszak Renata, Brzóstowicz Aleksander
Instytut Inżynierii Rolniczej
Akademia Rolnicza w Szczecinie

Wpływ NaCl na mrozoodporność siewek żyta odmiany Amilo

Streszczenie

W artykule przedstawiono wyniki badań dotyczących wpływu zasolenia podłoża na mrozoodporność siewek żyta odmiany Amilo. Doświadczenie prowadzono w warunkach kontrolowanych, na pożywce Hoaglanda, zmodyfikowanej dodatkiem NaCl w stężeniach: 0, 25, 50, 75, 100 i 150 mmol·dm⁻³. Metodą luminescencyjną wykazano, że w siewkach żyta, hartowanych na niską temperaturę, które rosły na pożywce z dodatkiem NaCl blokowanie transportu elektronowego zachodziło w niższej temperaturze niż u roślin kontrolnych. Gradient potencjału na błonach tylakoidalnych niehartowanych i hartowanych siewek żyta nie zależał od zasolenia. Metodą konduktometryczną stwierdzono, że odporność błon komórkowych siewek żyta na niską temperaturę zmniejszała się pod wpływem NaCl, zarówno siewek niehartowanych jak i hartowanych.

Słowa kluczowe: żyto, mrozoodporność, NaCl, opóźniona luminescencja, konduktometria

Wstęp i cel badań

W naturalnych warunkach wegetacji rośliny narażone są najczęściej na współdziałanie kilku współzależnych stresów, które powodują specyficzną reakcję rośliny, wyrażającą się przede wszystkim zahamowaniem wzrostu i niższym, często gorszej jakości plonem [Starck i in. 1995].

W ostatnich latach szczególnej wagi nabiera problem zasolenia. Ograniczone zasoby słodkiej wody zmuszają do użycia do nawadniania wody o niskiej jakości, najczęściej wód zasolonych (woda morska częściowo odsolona). Nieprawidłowa irygacja prowadzi nie tylko do marnowania wody, ale także zagraża środowisku naturalnemu, powodując wtórne zasolenie gleb i dalej wpływając na wzrost i rozwój roślin uprawnych [Yeo 1999; Flowers 2004]. Zasolenie obejmuje 7% powierzchni ziemi i stale się zwiększa [Munns 2002]. Wpływ zasolenia na rośliny przejawia się między innymi w: wywołaniu efektu osmotycznego, działaniu nadmiernej koncentracji jonów specyficznych dla zasolenia, naruszeniu równowagi jonowej, zmniejszeniu tempa wzrostu [Bilski 1990; Starck i in. 1995].

Niska temperatura jest jednym z głównych czynników abiotycznych mającym zasadnicze znaczenie dla wegetacji roślin. Mrozoodporność roślin, czyli zdolność do przeżycia okresu temperatury ujemnej, jest ważną cechą roślin uprawnych, nie tylko gatunkową czy odmianową, ale właściwością zmienną w ontogenezie i uzależnioną od warunków środowiska [Zagdańska i Rybka 1984; Starck i in. 1995].

Można więc przypuszczać, że zasolenie podłoża będzie wpływać na mrozoodporność roślin, pod warunkiem że rośliny przeżyją oddziaływanie stresu solnego.

Celem niniejszej pracy było zbadanie przy użyciu metod biofizycznych wpływu zasolenia na mrozoodporność siewek żyta odmiany Amilo.

Materiał badań

Badania prowadzono na siewkach żyta ozimego (*Secale cereale* L.) odmiany Amilo w warunkach kontrolowanych.

Przygotowano roztwory soli i rozcieńczono je w proporcji 1:1 z pożywką Hoaglanda tak, aby końcowe stężenie NaCl wynosiło odpowiednio: 25, 50, 75, 100 i 150 mmol·dm⁻³. Kontrolę stanowił roztwór pożywki Hoaglanda i wody destylowanej w stosunku 1:1.

Skiełkowane ziarniki rozkładano (po 20 sztuk) na wilgotnej bibule filtracyjnej (szerokość 5 cm i długość 22,5 cm) 1 cm od górnej krawędzi i przykrywano namoczoną w wodzie destylowanej paskiem bibuły, po czym zwijano w rulon. Tak przygotowane rulony umieszczano pionowo w krystalizatorach (po 3 do jednego). Następnie dodano jednocentymetrową warstwę wyżej wymienionych roztworów soli. Po 24 godzinach krystalizatorki umieszczano w termoluminostacie (temperatura 20 °C, gęstość strumienia fotonów 200 μmol·m⁻²·s⁻¹ w zakresie PAR, fotoperiod 12 h/12 h). Stopniowo obniżano temperaturę (3 °C/dobę) do osiągnięcia 10 °C. Po 14 dniach wzrostu zaczęto obniżać temperaturę o 2 °C/dobę do +2 °C, zmieniono jednocześnie oświetlenie na 60 μmol·m⁻²·s⁻¹ i fotoperiod 8 h/16 h. Następnie usunięto roztwory z krystalizatorów, pozostawiając rośliny na wilgotnej bibule, którą nawilżano codziennie odpowiednim roztworem. Hartowanie w tych warunkach prowadzono w ciągu 14 dni.

Metody badań

Ocenę mrozoodporności przeprowadzono metodami biofizycznymi:

1. Metodą konduktometryczną

Pomiar uszkodzeń błon komórkowych siewek żyta odmiany Amilo przeprowadzono zmodyfikowaną metodą konduktometryczną wyznaczając t₅₀, tzn. temperaturę, w której występuje 50% wyciek elektrolitu z przemrożonych obiektów [Flint i in. 1967, Kacperska - Palacz i in. 1977; Brzóstowicz 1990; Brzóstowicz i Prokowski 2003].

Wartość temperatury t₅₀ czyli wskaźnika mrozoodporności informuje o stopniu wrażliwości błon komórkowych na niską temperaturę, im niższe wartości wskaźnika tym błony komórkowe są bardziej odporne na działanie niskiej temperatury, obserwujemy wówczas mniejszy wyciek treści

komórkowej i tym samym mniejsze przewodnictwo elektryczne roztworu [Brzóstowicz i Prokowski 2003].

Ocenę przeprowadzono zarówno dla roślin niehartowanych jak i hartowanych, które rosły "na pożywe" z różną zawartością NaCl w 10 powtórzeniach dla każdego wariantu.

2. Metodą luminescencyjną

Zbadano wpływ niskiej temperatury, w zakresie od 0 do -20 °C na natężenie sekundowej składowej opóźnionej luminescencji (IOL) fragmentów liści siewek żyta. Jako wskaźnik odporności aparatu fotosyntetycznego na niską temperaturę przyjęto wartość t_m (temperatura, w której wystąpiło maksymalne natężenie opóźnionej luminescencji, podczas obniżania temperatury fragmentów liści) oraz wartość W_w (względny przyrost IOL podczas obniżania temperatury) [Brzóstowicz 1990; 2003].

Niższa wartość t_m i większa wartość W_w w ustalonych warunkach pomiarowych świadczy o większej odporności początkowych reakcji w fotosystemie II na niską temperaturę, a co za tym idzie rośliny mają większą mrozoodporność.

Badania przeprowadzono zarówno dla roślin niehartowanych jak i hartowanych, które rosły "na pożywe" z różną zawartością NaCl, w 5 powtórzeniach dla każdego wariantu.

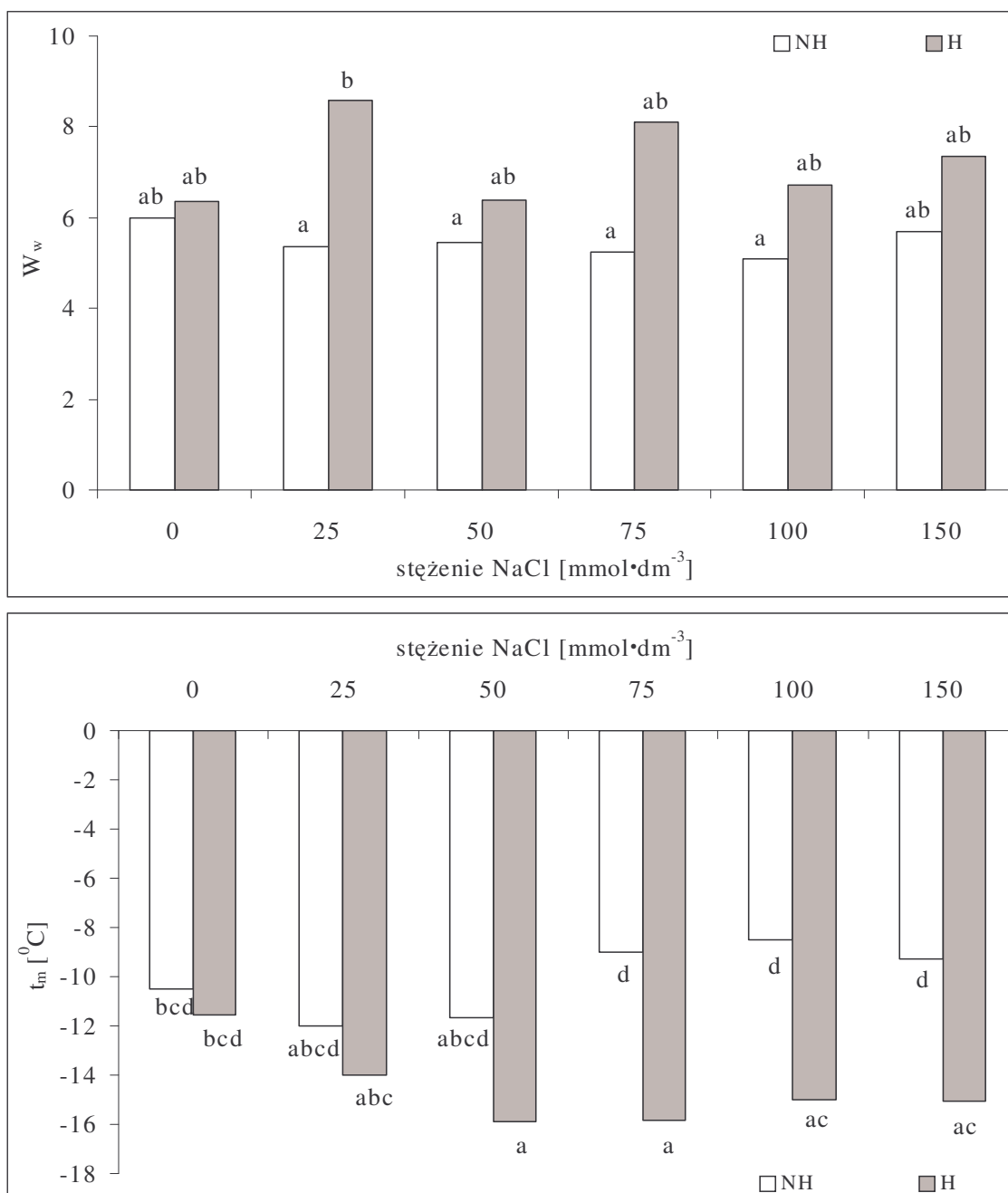
Wyniki opracowano statystycznie w programie statystycznym Statistica 6,0 stosując test Tukeya.

Wyniki i dyskusja

Na rys. 1 przedstawiono wpływ NaCl na średnie wartości wskaźnika W_w (względny przyrost IOL podczas obniżania temperatury) i t_m (temperatura, w której występuje maksymalne natężenie opóźnionej luminescencji) dla siewek żyta odmiany Amilo niehartowanych (NH) i hartowanych (H) na niską temperaturę. Poprzez detekcję opóźnionej luminescencji stwierdzono, że blokowanie transportu elektronowego u roślin niehartowanych na niską temperaturę zachodzi szybciej (w wyższej temperaturze) niż u roślin hartowanych i nie zależy od stężenia NaCl w pożywe Hoaglanda (brak istotnych różnic). Natomiast u roślin hartowanych poddanych zasoleniu blokowanie transportu elektronowego następuje przy niższej temperaturze niż u roślin kontrolnych. Świadczy o tym obniżanie się wartości t_m dla roślin z większym zasoleniem. Stwierdzono istotny wpływ NaCl na wartość wskaźnika t_m , przy czym nie zaobserwowano istotnych różnic pomiędzy stężeniami NaCl. Gradient potencjału indukowany na błonach tylakoidalnych u roślin niehartowanych praktycznie nie zależy od zasolenia, na co wskazuje stała wartość W_w (brak istotnych różnic). Proces hartowania zwiększył wartość wskaźnika W_w w stosunku do roślin niehartowanych. U roślin hartowanych na niską temperaturę rosnących na pożywe z różną zawartością NaCl wartość wskaźnika W_w zwiększa się nieznacznie w stosunku do kontroli, przy czym są to różnice statystycznie nieistotne. Także wcześniejsze badania autorów dotyczące wpływu NaCl na mrozoodporność siewek żyta odmiany Wibro wskazują, na podstawie wartości parametrów luminescencyjnych, że transport elektronowy w fotosystemie II pod wpływem NaCl staje się mniej wrażliwy na niską temperaturę [Matuszak R. i Brzóstowicz A. 2004].

Pierwotną przyczyną uszkodzeń powstających pod wpływem różnych stresów są zaburzenia struktury i funkcji błon komórkowych [Sung i in. 2003]. Za pomocą metody konduktometrycznej można dokonać pomiaru przewodnictwa elektrolitycznego treści komórkowej wydostającej się do przestrzeni międzykomórkowych na skutek uszkodzenia błon. Można wówczas na podstawie wartości przewodnictwa roztworu wnioskować o stopniu uszkodzeń błon [Brzóstowicz A. i Prokowski Z. 2003].

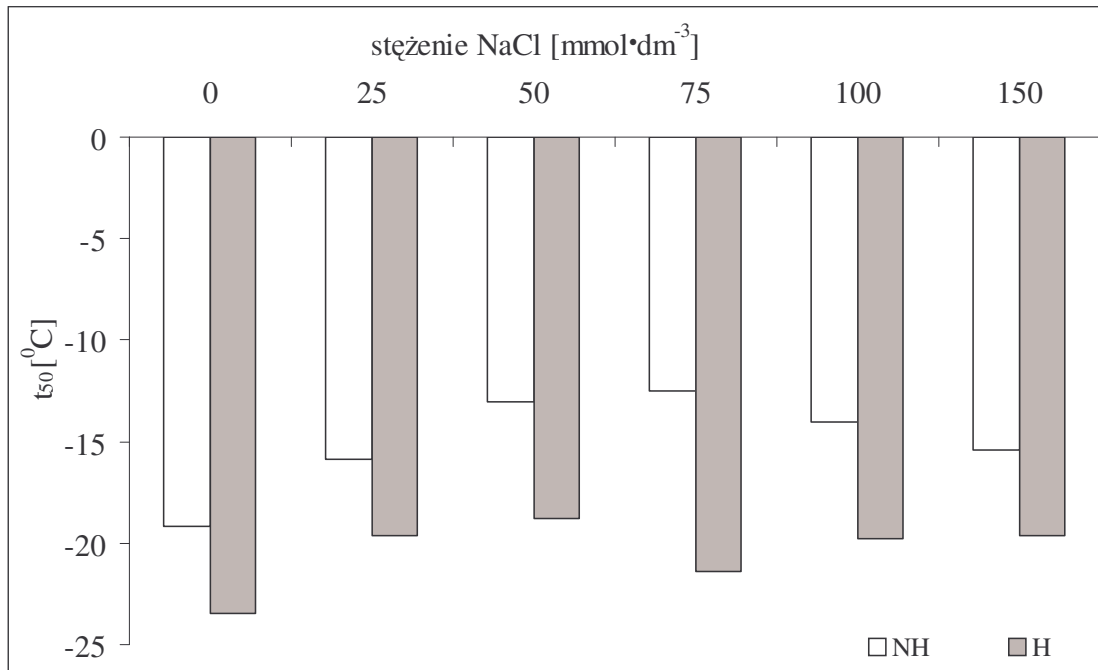
Przeprowadzona konduktometryczna ocena odporności błon komórkowych na niską temperaturę wykazała, że zastosowane roztwory chlorku sodu zwiększają nieznacznie wrażliwość badanych siewek na stres temperaturowy zarówno u roślin hartowanych jak i niehartowanych. Zaobserwowano wzrost przepuszczalności błon komórkowych pod wpływem NaCl. Podobne rezultaty uzyskano dla siewek żyta odmiany Wibro, gdzie również pod wpływem zastosowanych roztworów NaCl zmniejszała się odporność błon komórkowych na niską temperaturę, zarówno u siewek niehartowanych jak i hartowanych [Matuszak R. i Brzóstowicz A. 2004].



Rys. 1. Wpływ NaCl na średnie wartości wskaźnika W_w (względny przyrost IOL podczas obniżania temperatury) i t_m (temperatura, w której występowało maksymalne natężenie opóźnionej luminescencji) dla siewek żyta odmiany Amilo niehartowanych (NH) i hartowanych (H) na niską temperaturę.

Wartości oznaczone tymi samymi literami nie różnią się istotnie przy $P=0,05$ (test Tukeya).

Fig. 1. NaCl influence upon average values of W_w coefficient (relative IOL increase at temperature decrease) and t_m (temperature where the maximum intensity of delayed luminescence



was observed) for rye seedlings, Amilo variety untoughened (NH) and toughened (H) for low temperature.

Rys. 2. Wpływ NaCl na zmiany wartości wskaźnika t_{50} liści siewek żyta odmiany Amilo niehartowanych (NH) i hartowanych (H) na niską temperaturę. Odchylenie standardowe nie przekraczało 1,5°C.

Fig. 2. NaCl influence on the changes of coefficient value t_{50} of rye seedling leaves, Amilo variety untoughened (NH) and toughened (H) for low temperature. Standard deviation did not exceed 1.5°C.

Wnioski

1. Zaobserwowano wzrost przepuszczalności błon komórkowych pod wpływem NaCl. Chlorek sodu zmniejsza więc odporność na niską temperaturę (wyznaczoną metodą konduktometryczną) zarówno u siewek niehartowanych jak i hartowanych.

2. Uzyskane wartości parametrów luminescencyjnych wskazują, że transport elektronowy w fotosystemie II siewek żyta pod wpływem NaCl staje się mniej wrażliwy na niską temperaturę

Bibliografia:

Bilski J. 1990. Zakwaszenie i zasolenie podłoża jako czynniki stresowe dla roślin. *Roczniki Nauk Rolniczych* 222: 25-39.

Brzóstowicz A. 1990. Determination of delayed photosynthetic apparatus luminescence as a possible method of frost resistance evaluation in wheat leaves. *Acta Physiol. Plant.* 12(3): 187-191.

Brzóstowicz A. 2003. Luminescencyjna metoda oceny mrozoodporności roślin. *Acta Agrophysica* 93, 5-10

Brzóstowicz A., Prokowski Z. 2003. Konduktometryczna metoda oceny mrozoodporności roślin. *Acta Agrophysica* 93, 11-15

Flint H. L., Boyce B. R., Brattie D. J. 1967. Index of injury a useful expression of freezing injury to plant tissues as determined by the electric method. *Can. J. Plant Sci.* 47: 229-239.

Flowers T. J. 2004. Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental Botany*, vol. 55, no. 396, pp.307-319

Kacperska-Palacz A., Długokęcka E., Breitenwald J., Wciślańska B. 1977. Physiological mechanisms of frost tolerance: Possible role of protein in plant adaptation to cold. *Biol. Plant.*, 19, 10-17S.

Matuszak R, Brzóstowicz A. 2004. Wpływ NaCl na mrozoodporność siewek żyta odmiany Wibro. *ZPPNR z. 496: 559-564*

Munns R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environmental* 25, 239-250

Starck Z., Chołuj D., Niemyska B. 1995. Fizjologiczne reakcje roślin na niekorzystne czynniki środowiska. Wyd. SGGW, Warszawa: 167 ss.

Sung D. Y., Fatma K., Lee K. J., Guy Ch.L. 2003. Acquired tolerance to temperature extremes. *Trends in Plant Science* vol. 8, no. 4, 179-187

Yeo A. 1999. Predicting the interaction between the effects of salinity and climate change on crop plants. *Scientia Horticulturae* 78, 159-174

Zagdańska B., Rybka Z. 1984. Laboratoryjna ocena mrozoodporności jęczmienia ozimego metodą przemrażania siewek. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin nr 155, 51-55.

Praca dofinansowana jest przez AR w Szczecinie w ramach grantu wewnątrzuczelnianego.

Effect of NaCl on frost resistance of winter rye cv. Amilo

Summary

The influence of salt stress on frost resistance of winter rye, cultivar Amilo seedlings was studied. Plants were grown on Hoagland medium, containing NaCl in concentrations: 0, 25, 50, 75, 100 and 150 mmol·dm⁻³.

By detection of delayed luminescence one drew the conclusion, that blocking electron transport in hardened plants occurred at lower temperature in seedlings exposed to salinity than in control plants. Gradient of potential induced on thylacoid membranes in unhardened and hardened plants practically did not depend on salinity. Conductometric method showed that the used solutions of NaCl decreased the sensibility of the seedlings to low temperature both the unhardened and hardened plants.

Key words: winter rye, frost resistance, NaCl, delayed luminescence

