

WSTĘPNE BADANIA WPŁYWU PODWYŻSZONEGO STĘŻENIA CO₂ NA MROZODPORNOŚĆ ŻYTA ODMIANY WIBRO

W. Janicki, A. Brzóstowicz

Zakład Fizyki AR, ul. Papieża Pawła VI/ 3, 71-459 Szczecin

e-mail: wjanicki@agro.ar.szczecin.pl

Streszczenie: W pracy przedstawiono wstępne wyniki badań wpływu podwyższonego stężenia CO₂ na mrozoodporność siewek żyta odmiany *Wibro*. Przeprowadzono ocenę mrozoodporności metodą luminescencyjną i konduktometryczną, zarówno siewek niehartowanych jak i hartowanych przez okres 7, 14 i 21 dni przy różnych stężeniach CO₂ (400, 800, 1200 i 1600 ppm). Badania wykazały że siewki hartowane na niską temperaturę przy większych stężeniach CO₂ mają większą odporność aparatu fotosyntetycznego i mniejszą przepuszczalność błon komórkowych a to z kolei świadczy o zwiększonej ich mrozoodporności.

Słowa kluczowe: żyto, luminescencja, konduktometria, mrozoodporność, dwutlenek węgla.

WSTĘP

Zawartość CO₂ w atmosferze pozostawała przez tysiąclecia mniej więcej na stałym poziomie, mimo jej ciągłego uszczuplania w wyniku fotosyntezy. Jednakże od czasów rewolucji przemysłowej w XIX w zawartość tego gazu wzrosła o 27% co prowadzi do powstania tak zwanego efektu cieplarnianego [6, 11]. Wszystkie rośliny i zwierzęta uzyskują energię w wyniku procesu oddychania, w czasie którego pobrany z atmosfery tlen reaguje z cukrami i innymi składnikami tkanek z jednoczesnym uwolnieniem zgromadzonej energii, a końcowym produktem tego procesu jest CO₂ i woda. Ale potentatem w emisji CO₂ do atmosfery jest oczywiście przemysł. Przewiduje się, że obserwowany ciągle wzrost zawartości CO₂ w powietrzu doprowadzi w połowie przyszłego stulecia do jego podwojenia. Podwyższone stężenie CO₂ wywołuje u roślin

szereg efektów metabolicznych. Jednym z najbardziej poznanych jest wzrost natężenia fotosyntezy u roślin C_3 , gdy pozostają w atmosferze o podwyższonym stężeniu CO_2 przez krótki okres czasu [7,8,10]. Wyniki badań przeprowadzonych przez różnych autorów nie dają jednoznacznej odpowiedzi dotyczącej reakcji roślin na podwyższone stężenie CO_2 w powietrzu zwłaszcza przy długotrwałym jego oddziaływaniu [4,9,12,13]. Ponadto interesującym jest problem czy podwyższone stężenie CO_2 modyfikuje tolerancję roślin na czynniki stresowe.

Próbę zbadania wpływu podwyższonego stężenia CO_2 na mrozoodporność i hartowanie roślin podjęli autorzy niniejszej pracy.

MATERIAŁ I METODY

Badania wykonano przy zastosowaniu detekcji opóźnionej luminescencji aparatu fotosyntetycznego oraz konduktometrycznej oceny mrozoodporności. Do badań użyto siewki żyta odmiany *Wibro*. Rośliny rosły w rulonach bibułowych w krystalizatorkach z pożywką Hoaglanda umieszczonych w kontrolowanych warunkach (napromieniowanie $200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PAR, fotoperiod 12h/12h odpowiednio dzień/noc, temperatura 15°C) przy 4 stężeniach CO_2 w atmosferze (400 ppm, 800 ppm, 1200 ppm i 1600 ppm). Po dwóch tygodniach stopniowo obniżano temperaturę do $+2^\circ\text{C}$, a napromieniowanie zmniejszono do $50 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PAR przy fotoperiodzie 8h/16h.

Metoda opóźnionej luminescencji

Do badań pobierano fragmenty pierwszych liści o długości 2 cm wycięte z wierzchołkowej części. W celu wyrównania warunków przed pomiarami próbki umieszczano w zamkniętych, wilgotnych szalkach Petriego w temperaturze $+5^\circ\text{C}$ i gęstości strumienia $200 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PAR przez okres 30 minut. Później próbki umieszczano w kamerze i dokonywano pomiarów. Pomiary wykonano przy użyciu stanowiska zbudowanego w Zakładzie Fizyki Akademii Rolniczej w Szczecinie [2]. Opóźnioną luminescencję (IOL) wzbudzano światłem białym przez 1 s i rejestrowano przez 1 s po 1 s od momentu wyłączenia lampy wzbudzenia. Jednocześnie obniżano temperaturę badanych próbek od 0°C do -20°C z szybkością 1°C na minutę.

Pomiary wykonano na fragmentach pierwszych liści pobranych z pięciu siewek z każdego wariantu uprawy przy różnych stężeniach CO_2 , zarówno roślin niehartowanych jak i hartowanych.

Metoda konduktometryczna

Do badań użyto część nadziemną roślin. Każdą roślinę ucinano tuż nad ziarniakiem i po dwukrotnym opłukaniu w wodzie destylowanej umieszczano w probówce. Probówki z roślinami wkładano do statywów, po dziesięć z każdego wariantu uprawy, w ten sposób przygotowano 5 statywów, które włożono po jednym do 5 zamrażarek (temperatura 5°C). Po 10 minutach obniżano temperaturę z szybkością 1°C na 5 minut dochodząc do -11°C, -13°C, -15°C, -17°C odpowiednio w czterech zamrażarkach, a w piątej zamrażarce utrzymywano cały czas temperaturę +5°C. Po uzyskaniu żądanej temperatury w każdej zamrażarce rośliny pozostawiono przez dwie godziny, a po upływie tego czasu temperaturę podwyższano z szybkością 1°C/min aż do uzyskania temperatury +5°C. Po 12 godzinach do każdej próbówki wlewano 7 ml wody destylowanej, schłodzonej uprzednio do +5°C. Po czterech godzinach przeprowadzono pomiary przewodnictwa elektrycznego przy użyciu konduktometru N 5721 (Mera-Elwro). Po zmierzeniu roztwory wlewano do probówek z badanymi roślinami, a następnie umieszczono w jednej zamrażarce i przemrażano przez 12 godzin w temperaturze -30°C celem całkowitego zabicia roślin. Po szybkim rozmrożeniu powtórnie dokonano pomiaru przewodności elektrycznej. Następnie obliczono indeks uszkodzeń wg formuły Flinta [5]. Następnie z wykresów zależności indeksu uszkodzeń od temperatury przemrażania odczytano t_{35} , tzn. temperaturę, w której następował 35% wyciek elektrolitu, co można przyjąć jako 35% uszkodzeń tkanki roślinnej (błon i ścian komórkowych).

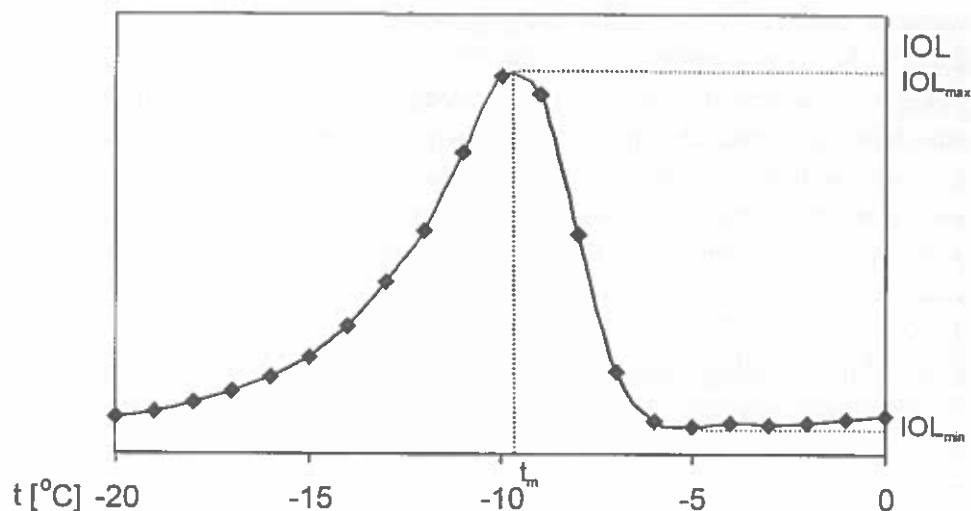
Błędy bezwzględne uzyskanych średnich wartości t_{35} nie przekraczały 1,5°C.

Ocena zawartości chlorofilu

Pomiarów dokonano przyrządem SPAD-502, (Minolta CO, Ltd Japan) w jednostkach zwanych *SPAD* (wielkość proporcjonalna do ilości chlorofilu). Pomiary wykonano w środkowej części liścia po 10 pomiarów w serii i każdą z nich uśredniono. Błędy bezwzględne wartości średnich nie przekraczały 10%.

WYNIKI I DYSKUSJA

Na rysunku 1 przedstawiono typową zależność natężenia opóźnionej luminescencji od temperatury fragmentów liści żyta odmiany *Wibro*.



Rys. 1. Przykładowa zależność natężenia opóźnionej luminescencji (IOL) od temperatury (t) fragmentów liści.

Fig. 1. Exemplary dependence of delayed luminescence intensity (IOL) on temperature (t) leaf fragments.

Jak widać z rysunku 1 przy obniżaniu temperatury natężenie opóźnionej luminescencji (IOL) najpierw zmienia się nieznacznie, potem szybko rośnie i po osiągnięciu maksimum zmniejsza się. Podany charakter przebiegu krzywych IOL(t) uzyskiwano dla roślin z różnych stężeń CO₂ zarówno niehartowanych jak i hartowanych. Różnice występowały jedynie w wielkości i położeniu maksimum IOL. W celach porównawczych, zgodnie z wcześniejszymi pracami [1,3], zaznaczono na wykresie charakterystyczne wielkości:

IOL_{max} – maksymalna wartość opóźnionej luminescencji;

IOL_{min} – minimalna wartość opóźnionej luminescencji;

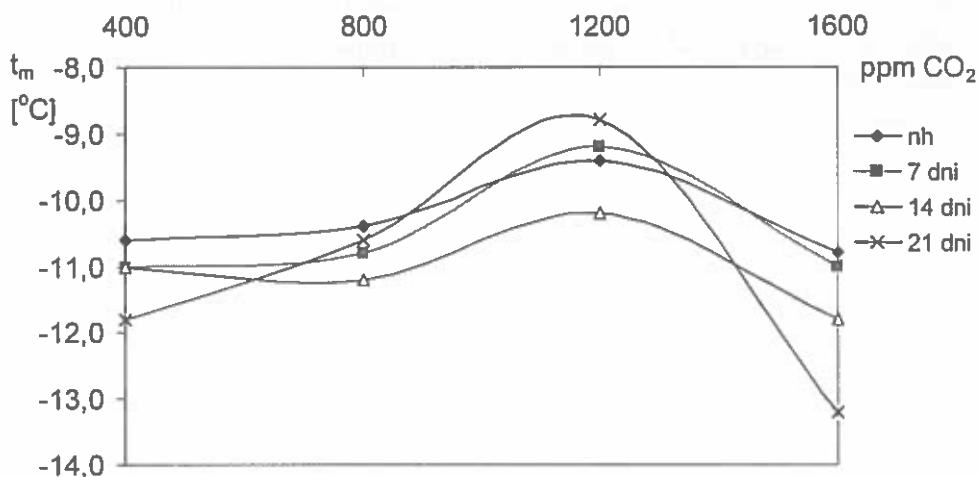
t_m – temperatura w której opóźniona luminescencja ma największą wartość.

Na podstawie tych wielkości można obliczyć względny wzrost natężenia opóźnionej luminescencji (W_w) ze wzoru:

$$W_w = \frac{IOL_{max} - IOL_{min}}{IOL_{min}}$$

Wartość t_m i W_w mogą służyć do porównania roślin pod względem ich aktualnej odporności aparatu fotosyntetycznego na niska temperaturę. Niższa temperatura t_m i większa wartość W_w świadczy o lepszej mrozoodporności [1,2,3].

Na rysunkach 2 i 3 zestawiono, odpowiednio, średnie wartości t_m i W_w uzyskane dla siewek żyta odmiany *Wibro* rosnących przy różnych stężeniach CO₂ zarówno niehartowanych jak i hartowanych na niską temperaturę.



Rys. 2. Zestawienie t_m fragmentów roślin żyta odmiany *Wibro* niehartowanych (nh) i odpowiednio po 7, 14 i 21 dniach hartowania przy różnych stężeniach CO₂.

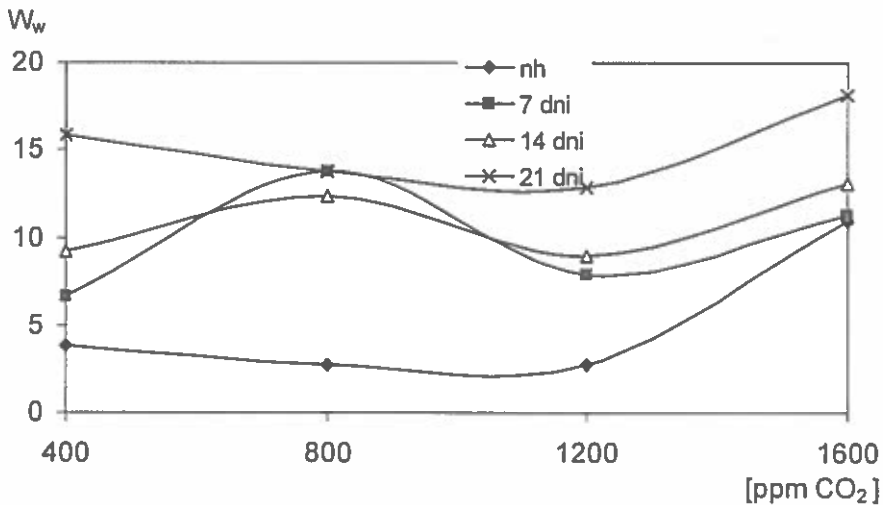
Fig. 2. The list of t_m values for leaf fragments seedlings of *Wibro* unhardened (nh) variety unquenched and these after 7, 14 and 21 days of hardening, at different CO₂ concentrations.

Maksymalne błędy bezwzględne wartości średnich temperatur t_m nie przekraczały $\pm 0,7^\circ\text{C}$, natomiast w przypadku W_w nieprzekraczały 10% wartości średniej.

Na rysunku 2 można zaobserwować, że wartości t_m dla roślin niehartowanych są wyższe niż dla hartowanych poza stężeniem 1200 ppm, gdzie nie obserwuje się istotnych różnic. Rezultaty te sugerują że odporność aparatu fotosyntetycznego u roślin niehartowanych jest mniejsza niż u hartowanych niezależnie od stężenia CO_2 (z wyjątkiem 1200 ppm CO_2). Interesującym jest fakt, że przy stężeniach 800 ppm CO_2 i 1200 ppm CO_2 brak praktycznych istotnych różnic w wartościach t_m dla roślin hartowanych i niehartowanych. Ponadto u roślin z 1200 ppm CO_2 widać wyraźnie większe wartości t_m , co sugeruje, że aparat fotosyntetyczny był mniej odporny na niską temperaturę.

W stężeniu 1600 ppm najmniejsze wartości t_m osiągają rośliny hartowane zwłaszcza po 21 dniach, co sugeruje że uzyskały największą odporność spośród badanych roślin.

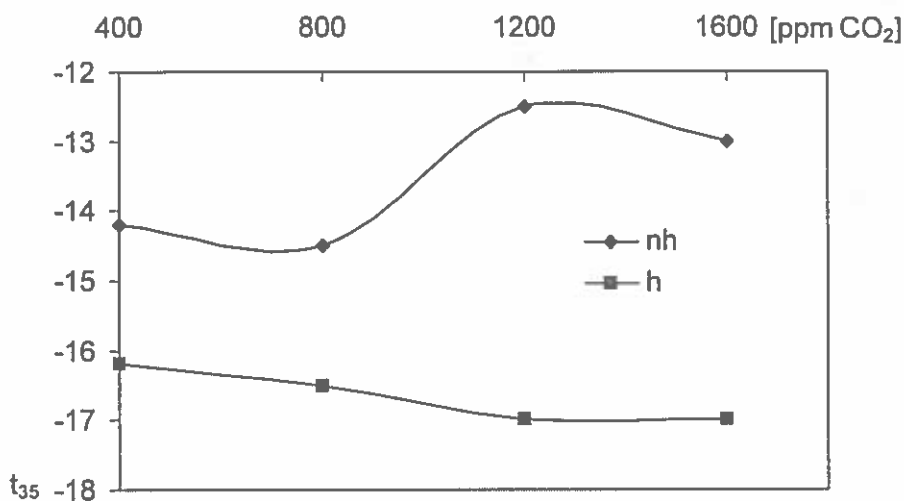
Wartości W_w (względny wzrost natężenia opóźnionej luminescencji) (rys. 3) wszystkich roślin niehartowanych są mniejsze niż dla hartowanych. Zarówno dla roślin hartowanych jak i niehartowanych rosnących przy 1600 ppm CO_2 obserwuje się większe wartości W_w niż przy innych stężeniach. Natomiast W_w jest największe dla roślin hartowanych 21 dni w całym zakresie stężenia CO_2 . Dla pozostałych roślin hartowanych 7 i 14 dni wartość W_w oscyluje.



Rys. 3. Zestawienie W_w dla fragmentów liści żyta odmiany *Wibro* (niehartowanych (nh) i odpowiednio po 7, 14 i 21 dniach hartowania w różnych stężeniach CO_2).

Fig. 3. The list of W_w values for rye leaf fragments of *Wibro* variety unhardened (nh) and these after 7, 14 and 21 days of hardening, at different CO_2 concentrations.

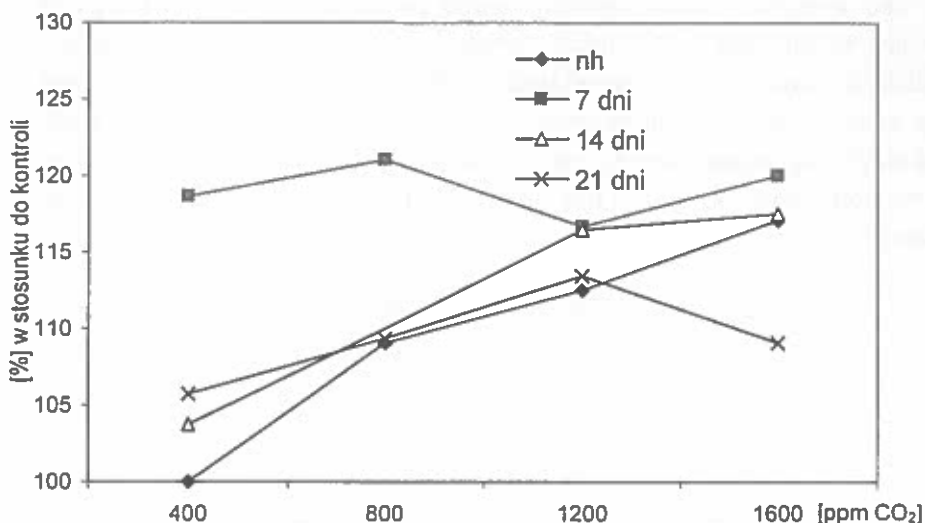
Na rysunku 4 przedstawiono wyniki pomiarów konduktometrycznych. Jak widać rośliny hartowane miały zawsze niższe wartości t_{35} niż siewki roślin niehartowanych, niezależnie od stężenia CO₂. Jednak należy zwrócić uwagę na to że u roślin nie hartowanych przy większych stężeniach CO₂ (1200 i 1600 ppm) obniżyła się temperatura t_{35} co świadczyć może o większej przepuszczalności błon komórkowych, a co za tym idzie o zmniejszeniu mrozoodporności badanych siewek.



Rys. 4. Zestawienie t_{35} (35% uszkodzeń) dla siewek żyta odmiany Wibro rosnących (nh) i hartowanych przez 14 dni (h) w różnych stężeniach CO₂.

Fig. 4. The list t_{35} (35% of damages) for rye seedlings of Wibro variety cultivated (nh) and after 14 days of hardening (h) at different CO₂ concentrations.

Na rysunku 5 przedstawiono procentowa zawartość chlorofilu. Można zaobserwować ogólną tendencję, że poziom chlorofilu jest większy dla wszystkich roślin coraz większy wraz ze wzrostem stężenia CO₂ jedynie przy 1600 ppm dla roślin hartowanych przez 21 dni jego ilość obniżyła się.



Rys. 5. Względna zawartość chlorofilu dla siewek żyta odmiany *Wibro* (jako 100% przyjęto ilość chlorofilu dla roślin niehartowanych z 400 ppm CO₂).

Fig. 5. Relative content of chlorophyll for rye seedlings of *Wibro* variety (the amount of chlorophyll for unhardened crops at 400 ppm was taken as 100%).

Uzyskane rezultaty badania wpływu podwyższonego stężenia CO₂ na rośliny należy traktować jako wstępne i będą one weryfikowane w aktualnie prowadzonych doświadczeniach.

WNIOSKI

1. Dla roślin hartowanych i niehartowanych uzyskano krzywe zależności natężenia opóźnionej luminescencji od temperatury o podobnym kształcie lecz różniące się wielkością położenia maksimum IOL. Różne stężenia CO₂ nie zmieniły kształtu krzywych.
2. Siewki rosnące i hartowane przy większych stężeniach CO₂ mają niższe wartości temperatury t_m , większe wartości W_w co świadczy o wzroście odporności aparatu fotosyntetycznego oraz niższe temperatury t_{35} co świadczy o zmniejszeniu przepuszczalności błon komórkowych.
3. Uzyskano nieznaczne zróżnicowanie mrozoodporności badanych siewek żyta z różnych wariantów hodowli przy różnych stężeniach CO₂.

PIŚMIENNICTWO

1. **Brzóstowicz A.:** Determination of delayed photosynthetic apparatus luminescence as a possible method of frost resistance evaluation in wheat leaves. *Acta Physiol. Plant.* 12 (3), 187-191, 1990
2. **Brzóstowicz A.:** Mikrokomputerowy zestaw do badania wpływu temperatury na natężenie opóźnionej luminescencji fragmentów liści, *Zesz. Nauk. AR Szczecin, nr 159 Rolnictwo, Ser. Tech. z. 56, 41-47; 1993*
3. **Brzóstowicz A.:** Zastosowanie opóźnionej luminescencji do badania wpływu niskiej temperatury na rośliny uprawne, *Rozprawy nr 188, Praca hab., Wyd. AR Szczecin, 1999*
4. **Bunce J. A.:** Effects of doubled atmospheric carbon dioxide concentration on the responses of assimilation and conductance to humidity, *Plant Cell Environ.* 16: 189-197, 1993
5. **Flint H. L., Boyce B. R., Brattie D. J.:** Index of injury, a useful expression of freezing injury to plant tissues as determined, *Can J. Plant. Sci.* 47; 229-239, 1967
6. **Hall D. O., Rao K. K.:** *Fosynteza, WNT, Warszawa 1999*
7. **Kaceprska A.:** Molekularne podstawy uszkodzeń mrozowych w komórkach roślinnych, *Post. Biol. Kom.* 13, 4: 479-496; 1986
8. **Kopcewicz J., Lewaka St.:** *Podstawy fizjologii roślin, PWN, Warszawa 1998*
9. **Liang N., Maruyama K., Huang Y.:** Interactions of elevated CO₂ and drought stress in gas exchange in water-use efficiency in three temperate deciduous tree species, *Photosynthetica*, 31 (4) 529-539, 1995
10. **Lichtenthaler H. K.:** Vegetation stress an introduction to the stress concept in plants. *J. Plant., Physiol.* 148, 4-14, 1996
11. **Lizen R. S.:** On the scientific basis for global warming scenarios, *Environ. Pollution.*, 83: 125-134; 1994
12. **Polle A., Pfirrmann T., Chakrabarti S., Renneberg H.:** The effect of enhanced ozone and enhanced carbon dioxide concentrations on biomass, pigment and antioxidative enzymes in spruce needles (*Picea abies L.*), *Plant Cell Environ.*, 16: 311-316, 1993
13. **Resing H., Schreiber U.:** Pulse-modulated photoacoustic measurements reveal strong gas-uptake component at high CO₂ – concentrations, *Photosynth. Res.*, 31: 227-238, 1992

PRELIMINARY STUDY OF INFLUENCE OF INCREASED CARBON
DIOXIDE CONCENTRATIONS ON FROST
RESISTANCE OF WIBRO RYE

W. Janicki, A. Brzóstowicz

Department of Physics, University of Agriculture, Papieża Pawła VI / 3, 71-459 Szczecin
e-mail: wjanicki@agro.ar.szczecin.pl

Summary: Preliminary results of tests on the influence of increased CO₂ concentration on frost resistance of rye seedlings of Wibro variety have been included in the paper. Resistance to frost were conducted by means of luminescence and conductrometric methods for seedlings both unhardened and hardened within 7, 14 and 21 days at various CO₂ concentration (400, 800, 1200 and 1600 ppm). The tests proved that seedlings raised at higher CO₂ concentration have their photosynthetic apparatus more resistant and lower cell-membrane permeability what testifies their increased frost resistance.

Keywords: rye, luminescence, conductometry, frost resistance, carbon dioxide.