Acta Agrophysica, 2003, 93, 11-15

KONDUKTOMETRYCZNA METODA OCENY MROZOODPORNOŚCI ROŚLIN

Aleksander Brzóstowicz, Zdzisław Prokowski

Zakład Fizyki, Instytut Inżynierii Rolniczej, Akademia Rolnicza
ul. Papieża Pawła VI nr 3, 71-459 Szczecin
e-mail: fizyka@dedal.man.szczecin.pl

S t r e s z c z e n i e. W pracy przedstawiono metodykę zmodyfikowanej, konduktometrycznej metody oceny mrozoodporności roślin. Podstawą tej metody są pomiary przewodnictwa elektrycznego roztworu powstałego w wyniku umieszczenia, przemrożonych w różnych temperaturach, roślin w probówkach z wodą. Mrozoodporność ocenia się na podstawie obliczonego indeksu uszkodzeń i wyznaczonej na tej podstawie temperatury, w której nastąpiły pięćdziesięcioprocentowe uszkodzenia tkanek.

S ł o w a k l u c z o w e: konduktometria, mrozoodporność

WSTĘP

Metoda konduktometryczna opracowana przez Dextera i in. [8] opiera się na założeniu, że uszkodzenia spowodowane niską temperaturą wynikają z utraty własności półprzepuszczalnych błon komórkowych. Jeśli roślinę lub jej fragment po przemrożeniu umieści się w wodzie, wówczas sok komórkowy zawierający sole mineralne, cukry, białka i inne substancje będzie się przedostawał do wody. W zależności od tego, w jakim stopniu niska temperatura spowodowała zmiany przepuszczalności lub uszkodzenia błon komórkowych do wody przedostanie się więcej lub mniej jonów. Otrzymuje się więc roztwór (elektrolit), w którym zawartość jonów jest proporcjonalna do jego przewodnictwa elektrycznego [11,12,13]. Badając przewodnictwo elektryczne tego roztworu można wnioskować, że im większe przewodnictwo roztworu tym większe uszkodzenia błon komórkowych. Tak więc pomiar wartości przewodnictwa elektrycznego może być wykorzystany do porównywania wrażliwość badanych obiektów roślinnych na niską temperaturę. Jednakże występuje tu poważna niedogodność, gdyż zależność

ta nie musi być liniowa, a ponadto obiekty powinny być tych samych rozmiarów lub wartość przewodnictwa trzeba przeliczać na jednostkę objętości lub masy.

Znacznie wygodniej jest posługiwać się wskaźnikiem mrozoodporności, którym w tej metodzie jest temperatura, tzw. „t_{k50}" lub „t_{50}", w której następuje pięćdziesiąt procent uszkodzeń błon komórkowych. Zakłada się bowiem, że towarzyszy temu pięćdziesięcioprocentowy wyciek elektrolitu w porównaniu do wycieku maksymalnego.

METODYKA OCENY

W Zakładzie Fizyki AR w Szczecinie stosowana jest od wielu lat zmodyfikowana metoda konduktometryczna oceny mrozoodporności roślin uprawnych [6]. W dopracowaniu tej metody wykorzystano informacje uzyskane dzięki uprzejmości Pani prof. dr hab. Aliny Kacperskiej z Zakładu Fizjologii Odporności Roślin Uniwersytetu Warszawskiego. W metodzie tej do badań używa się fragmenty roślin; w przypadku zbóż odcięte liście lub siewki bez korzeni, natomiast w przypadku rzepaku i rzepiku krążki o średnicy 1,5 cm wycięte z liści. Oczywiście można również badać mrozoodporność korzeni.

Stosuje się serię kontrolną i cztery serie „przemrażane." Badane fragmenty roślin umieszcza się w 10 wilgotnych probówkach w każdej serii i zamyka tamponem z waty. Serię kontrolną utrzymuje się przez 24 h w probówkach umieszczonych w termostacie o temperaturze +5°C ± 1°C. W seriach mrożonych umieszcza się probówki w termostatach o temperaturze +5°C ± 1°C, a następnie ochładza je z szybkością $12°C \cdot h^{-1}$ (tzn. 1/5°C·5min), dochodząc do żądanej temperatury przemrażania. Każdą serię mrozi się w innej temperaturze (np. –7°C, –9°C, –11°C, –13°C) tak, aby uzyskać uszkodzenia mniejsze i większe niż 50%. Zakres temperatur należy dobrać na podstawie serii próbnej. Po dwóch godzinach przemrażania badanych obiektów w żądanej temperaturze należy podwyższać temperaturę z szybkością 1/5°C·min, dochodząc do +5°C [11,12]. Po dalszych 12 h od rozmrożenia, badane obiekty (wraz z serią kontrolną) zalać wodą bidestylowaną (7 ml do każdej probówki) o temperaturze +5°C. Po upływie kolejnych 4 godzin trzeba wykonać pomiary przewodnictwa elektrycznego powstałych roztworów wszystkich badanych serii przy użyciu konduktometru. Najpierw w tym celu stosowano konduktometr typu N-5721 (Mera Elwro), lecz w ostatnich latach pojawiła się cała rodzina konduktometrów umożliwiających odczyt cyfrowy i/lub wprowadzanie danych pomiarowych do komputera przez złącze RS232. Stosujemy więc konduktometr CPC 551 (Elmetron). Następnie,

w celu wywołania maksymalnych uszkodzeń („całkowite zabicie mrozem"), zalane wodą w probówkach badane fragmenty roślin trzeba przemrozić w temperaturze – 30°C ± 1°C w ciągu 16 h. Po szybkim rozmrożeniu i ogrzaniu do temperatury pokojowej należy wykonać pomiary przewodnictwa elektrycznego (maksymalny wyciek elektrolitu) wszystkich serii. Wskaźnik (indeks) uszkodzeń „I_d" w danej temperaturze przemrażania można obliczyć ze wzoru [9]:

$$I_d = \frac{\left(\frac{G_p - G_w}{G_{pz} - G_w}\right) - \left(\frac{G_k - G_w}{G_{kz} - G_w}\right)}{1 - \left(\frac{G_k - G_w}{G_{kz} - G_w}\right)} \cdot 100\% \qquad (1)$$

gdzie: G_w – przewodnictwo elektryczne wody,

G_p – przewodnictwo roztworu po przemrożeniu badanych fragmentów roślin w danej temperaturze,

G_{pz} – przewodnictwo roztworu po „zabiciu" badanych obiektów niską temperaturą (–30°C, 16 h),

G_k – przewodnictwo roztworu z tkanki kontrolnej,

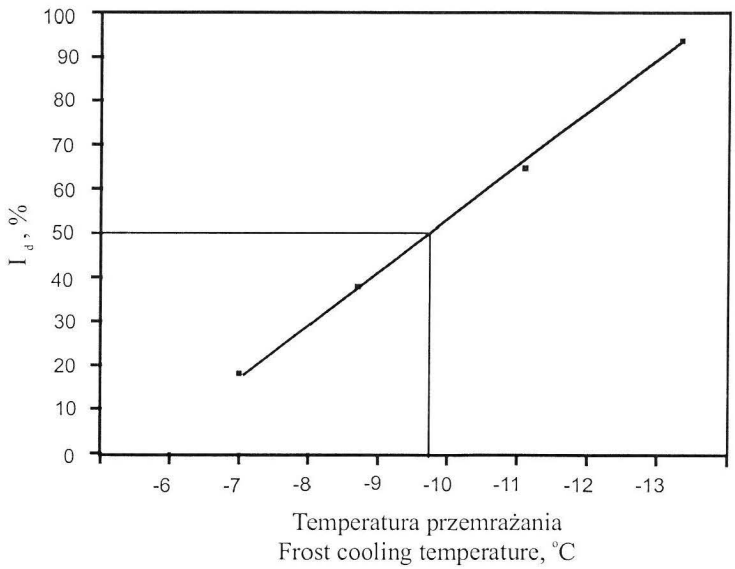
G_{kz} – przewodnictwo roztworu z tkanki kontrolnej, po „zabiciu" niską temperaturą (–30°C, 16 h).

Obliczony tak indeks uszkodzeń wyraża procent uszkodzeń badanego obiektu względem maksymalnych uszkodzeń, które mogą wystąpić przy „totalnym" zniszczeniu niską temperaturą. Ponadto należy podkreślić, że we wzorze uwzględnia się również wyciek z roślin kontrolnych i wszędzie odejmowane jest przewodnictwo wody, którą zalano badane fragmenty roślin.

Wartość temperatury „t_{50}" odczytuje się z wykresu zależności indeksu uszkodzeń od temperatury przemrażania (rys. 1). Z wykresu tego można również oszacować dokładność oznaczania „t_{50}", po uprzednim obliczeniu błędu bezwzględnego indeksu uszkodzeń (np.: metodą różniczki zupełnej).

Opisaną powyżej metodą i wg przedstawionej metodyki przeprowadzono ocenę mrozoodporności niektórych odmian pszenicy, jęczmienia, rzepaku oraz rzepiku [1,2,3,4,5,7,10]. Pomimo, że wyznaczona wartość „t_{50}" przy zastosowaniu metody konduktometrycznej obarczona jest znacznym błędem, tzn. około 2°C, to metoda ta jest dość często stosowana w pomiarach laboratoryjnych.

W Zakładzie Fizyki Akademii Rolniczej w Szczecinie, wśród różnych metod fizycznych stosowanych do badania zjawisk biofizycznych w roślinach, używana jest od wielu lat metoda konduktometryczna, równolegle z metodą luminescencyjną, do oceny wpływu niskiej temperatury na rośliny, badania procesu hartownia mrozowego oraz selekcji odmian i rodów pod względem ich mrozoodporności [1,2,3, 4,5,6,7,10].



Rys. 1. Zależności indeksu uszkodzeń (I_d) od temperatury przemrażania (dla niehartowanych siewek pszenicy odmiany Roma)
Fig.1. Relationship between the injuries index (I_d) and frost cooling temperatures (for unhardened wheat seedlings of Roma cultivar)

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.:** Zastosowanie opóźnionej luminescencji do badania wpływu niskiej temperatury na rośliny uprawne. Wyd. AR w Szczecinie, Rozprawy, 188, 1999.
3. **Barcikowska B., Brzóstowicz A., Prokowski Z.:** Ocena mrozoodporności rzepaku i rzepiku metodą luminescencyjną i konduktometryczną. W: Wyniki badań nad rzepakiem ozimym rok 1983. IHAR Radzików k/Warszawy, 121-124, 1984.
4. **Barcikowska B., Brzóstowicz A., Murkowski A., Prokowski Z.:** Badanie mrozoodporności metodami biofizycznymi w obrębie mieszańców wewnątrzgatunkowych Brassica campestris i Brassica napus. W: Wyniki badań nad rzepakiem ozimym rok 1984. IHAR Radzików k/Warszawy, 125-128, 1985.
5. **Brzóstowicz A., Prokowski Z., Murkowski A., Grabikowski E.:** Use of the delayed luminescence test for evaluation of changes in frost resistance of winter wheat. Acta Agrobot., 38, 5-10, 1985.
6. **Brzóstowicz A.:** Primienienie biofizičeskich metodov dla isledovania mrozoustoičivosti zernovych kultur. W: Fizjologičeskije osnovy ustojčivosti zernowych kultur k stressovym vozdjejstvijam. IHAR Radzików, 58-71, 1988.

7. **Brzóstowicz A., Musiał M.:** Wpływ NaCl na wzrost i mrozoodporność siewek pszenicy odmiany Gama. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 469 (1), 371-380, 1999.
8. **Dexter S. T., Tottingham W. E., Graber L. F.:** Investigation of the hardiness of plants by measurement of electrical conductivity. Plant Physiol., 7, 63-78, 1932.
9. **Flint H. L., Boyce B. R., Brattie D. J.:** Index of injury, a useful expression of freezing injury to plant tissues as determinated by the electric method. Can. J. Plant Sci., 47, 229-239, 1967.
10. **Janicki W., Brzóstowicz A.:** Wstępne badania wpływu podwyższonego stężenia $C0_2$ na mrozoodporność żyta odmiany Wibro. Acta Agrophysica, 45, 85-94, 2001.
11. **Kacperska-Palacz A., Długokęcka E.:** Metodyka przeprowadzania oceny odporności roślin na zamarzanie. Wiad. Bot., 15, 79-80, 1971.
12. **Kacperska-Palacz A., Długokęcka E., Breitenwald J., Wciślińska B.:** Physiological mechanisms of frost tolerance: Possible role of protein in plant adaptation to cold. Biol. Plant., 19, 10-17, 1977.
13. **Levitt J.:** Responses of plants to environmental stresses. Academic Press, New York, 1980.

CONDUCTOMETRIC METHOD FOR EVALUATION OF PLANTS FROST RESISTANCE

Aleksander Brzóstowicz, Zdzisław Prokowski

Department of Physics, Institute of Agricultural Engineering, University of Agriculture
ul. Papieża Pawła VI No 3, 71-459 Szczecin
e-mail: fizyka@dedal.man.szczecin.pl

A b s t r a c t. Modified conductometric method of plants frost resistance evaluation is shown in this work. The conductometric determination of electrolyte leakage from the frost – affected cells was used to estimate actually frost resistance of cultivable plants. The index of injury was calculated and plotted as a function of temperature to estimate the temperature at which 50% of tissue was damaged. These research results might lead to explain some phenomena of low temperature influence on plants.

K e y w o r d s: conductometric method, frost resistance