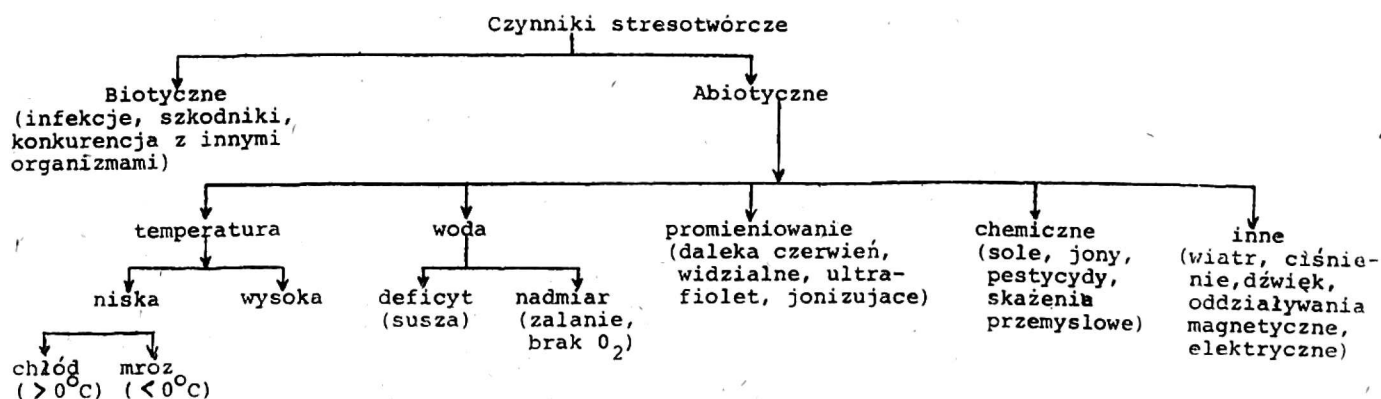


ALINA KACPERSKA
Uniwersytet Warszawski

ODPORNOŚĆ ROŚLIN NA STRESOWE ABIOTYCZNE CZYNNIKI ŚRODOWISKA I METODY JEJ OCENY

Wstęp

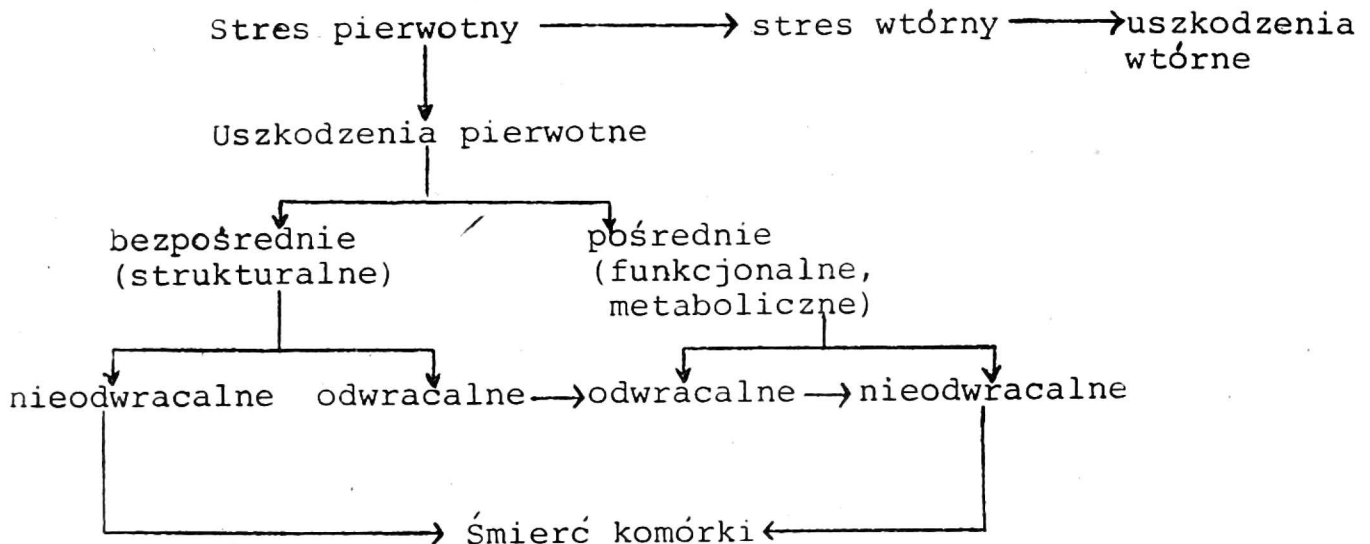
Terminem „czynnik stresowy” lub „stres” określa się te czynniki środowiska, których działanie może doprowadzić do odwracalnych lub nieodwracalnych zaburzeń w funkcjonowaniu rośliny i budujących ją struktur. Zaburzenia te mogą polegać na zakłóceniu wzrostu i rozwoju rośliny oraz procesów metabolicznych przebiegających w komórce, a także na zmianie własności fizykochemicznych struktur komórkowych. Schemat 1 przedstawia różne rodzaje stresów, które ograniczają możliwości życiowe roślin, a w ostatecznych przypadkach, gdy czynnik stresowy działa z dużym natężeniem lub przez długi okres czasu, mogą powodować całkowitą eliminację osobników, populacji, odmian lub gatunków z określonych siedlisk na kuli ziemskiej. W opracowaniu niniejszym wykorzystane będą przede wszystkim przykłady związane z działaniem stresu termicznego i wodnego, ponieważ właśnie te dwa czynniki mają zasadnicze znaczenie dla wegetacji roślin na różnych obszarach kuli ziemskiej [20]. Niska temperatura i deficyt wody w środowisku ograniczają też możliwość uprawy wielu roślin w warunkach naszego klimatu.



Schemat 1. Rodzaje stresów, które mogą oddziaływać na organizm roślinny (wg. Levitta 1980).

Skutki stresu

Spowodowane stresem zmiany właściwości i funkcji struktur komórkowych mogą mieć charakter pierwotny lub wtórny, bezpośredni lub pośredni, mogą być odwracalne lub nieodwracalne. Wzajemne relacje między skutkami stresu przedstawia schemat 2. Na przykład, wzrost tempe-



Schemat 2. Skutki stresu i ich wzajemne zależności.

ratury otoczenia może doprowadzić do zbytowego odwodnienia tkanek, gdy pobieranie wody nie nadąża za transpiracją. Wywoła więc stres wtórny, dehydratację komórek, która może być główną przyczyną uszkodzeń struktury i funkcji komórek w warunkach wysokiej temperatury środowiska. Uszkodzenia takie klasyfikuje się jako wtórne. Jednocześnie, wysoka temperatura może doprowadzić do odwracalnych zmian właściwości błon komórkowych i właściwości niektórych enzymów (uszkodzenia bezpośrednie odwracalne). Te zmiany mogą być z kolei przyczyną zakłóceń metabolicznych, spowodowanych nierównomiernym przyspieszeniem lub zahamowaniem niektórych reakcji biochemicznych zlokalizowanych w błonach lub katalizowanych przez te enzymy (uszkodzenia pośrednie, metaboliczne). Po ustąpieniu stresu zakłócenia takie mogą ustąpić i roślina podejmie normalne funkcje życiowe. Może się jednak zdarzyć, że bardziej wrażliwy na podwyższenie temperatury osobnik lub gatunek przegra w konkurencji o światło, wodę lub związki mineralne z mniej wrażliwymi na ten stres organizmami, które zasiedlają środowisko. Zbyt wysoka (letalna) temperatura może też doprowadzić do nieodwracalnej denaturacji błon i białek w komórce, tzn. spowoduje nieodwracalne uszkodzenia bezpośrednie, które nie ustąpią po zniknięciu stresu i mogą być bezpo-

średnią przyczyną obumierania komórek i tkanek. Z drugiej strony, długo utrzymujące się zakłócenia metaboliczne, spowodowane działaniem subletalnej temperatury, mogą doprowadzić do poważnych deficytów pośrednich produktów metabolizmu (np. produktów fotosyntezy lub oddychania) i w rezultacie spowodować zahamowanie syntez np. białek i kwasów nukleinowych. Może też zaistnieć sytuacja odwrotna: w komórce będą się gromadzić produkty oddychania beztlenowego (glikolizy) w wyniku zahamowania aktywności mitochondriów. Dalsze przemiany tych związków w warunkach stresu doprowadzą do nagromadzania się w komórce związków toksycznych, np. etanolu. Wszystkie te zaburzenia są przykładem uszkodzeń pośrednich, nieodwracalnych, które w końcu mogą spowodować obumieranie komórek. Uszkodzenia takie mogą również powstawać w wyniku bezpośrednich uszkodzeń nieodwracalnych, a więc wówczas, gdy np. nieodwracalna denaturacja jakiegoś enzymatycznego białka, wrażliwego na zmianę temperatury, spowoduje trwały brak produktu reakcji katalizowanej przez ten enzym.

Odporność i jej elementy

Możliwość egzystencji roślin w określonym siedlisku, powodzenie ich rozwoju osobniczego i wydanie potomstwa, a także wytworzenie plonu rolniczego zależą od tego, w jakim stopniu dany organizm jest dostosowany do funkcjonowania w konkretnych warunkach środowiska, a więc od tego, czy i w jakim stopniu wykazuje odporność na stresy, panujące w tym środowisku.

O odporności rośliny na określony stres decydują trzy elementy [21]:

a) Właściwości organizmu, które decydują o podatności lub wytrzymałości jego struktur na działanie stresu. Właściwości te wynikają z programu genetycznego aktualnie realizowanego przez poszczególne komórki wchodzące w skład tkanek i organów roślin. Mogą więc zmieniać się w zależności od etapu rozwojowego organizmu lub tkanki. Na przykład, inną odporność na odwodnienie będą wykazywać młode tkanki, intensywnie powiększające swoje rozmiary, w skład których wchodzi silnie zwakuolizowane komórki, a inną wytrzymałością na ten stres cechować się będą małe, niezwakuolizowane komórki merystematyczne w nasionach lub komórki zlokalizowane w starszych, silnie zdrewnianych tkankach.

b) Zdolność organizmu do naprawy uszkodzeń. Na przykład, po ustąpieniu stresu może zostać odtworzona (na nowo zsyntetyzowana) cząsteczka białka, która uległa nieodwracalnej denaturacji w wyniku działania stresu. Z kalusa, tworzącego się wokół rany na pędzie mogą wyróżnicować się nowe elementy przewodzące, które zapewnią ciągłość transportu wody i asymilatów w obrębie uszkodzonego organu. Uszkodzenie

systemu korzeniowego może pobudzić wytwarzanie korzeni przybyszowych na pędzie itp.

c) Zdolność do adaptacji. Organizmy roślinne mogą się przystosować do warunków stresowych tak, aby zminimalizować efekt stresu, zapewnić prawidłowy przebieg procesów metabolicznych, umożliwić wydanie potomstwa. Między innymi, adaptacja może polegać na zmianach fizykochemicznych właściwości struktur komórkowych, co zapewni stabilność tych struktur w warunkach ostrego stresu i pozwoli na podjęcie normalnych funkcji po ustąpieniu stresu.

Adaptacja i jej podstawy

Adaptacja roślin do stresowych warunków środowiska może mieć dwojaki charakter:

1. Może być skutkiem zmian zachodzących w genomie osobnika w toku ewolucji, w wyniku mutacji, a także w wyniku zabiegów hodowlanych. Polega na takich dziedzicznych zmianach struktury i funkcji, które zwiększają prawdopodobieństwo przeżycia i reprodukcji organizmu w określonym środowisku [15]. Ma wówczas charakter stabilny i prowadzi do różnicowania roślin pod względem morfologicznym i metabolicznym, a także do zmian przebiegu i długości ich cyklu rozwojowego (włącznie z wytworzeniem spoczynkowych organów przetrwalnikowych).

2. Może polegać na niedziedzicznej modyfikacji struktury i funkcji osobnika w trakcie jego rozwoju osobniczego, w odpowiedzi na czynnik stresowy działający w nateżeniu subletalnym. Pozwala wówczas na zminimalizowanie uszkodzeń i lepsze „dopasowanie” osobnika do konkretnych warunków środowiskowych [7, 15]. Ten rodzaj adaptacji przyjęto określać terminem „aklimatyzacja” [24]. Termin ten obejmuje też proces sezonowego dostosowywania się roślin do nadchodzących niekorzystnych warunków środowiska [23]. Aklimatyzacja roślin jest często określana mianem „hartowanie”. Jest wynikiem odpowiedzi rośliny na bodziec środowiskowy i polega na zmianie aktualnie realizowanego programu genetycznego. Możliwości aklimatyzacyjne osobnika zależą, oczywiście, od jego potencjału genetycznego.

Biorąc pod uwagę wysokość plonu rolniczego, duża zdolność adaptacyjna roślin może być zjawiskiem niekorzystnym, gdyż wiąże się z dużymi wydatkami energii na przebudowę struktur i przystosowaniem ich funkcji do warunków stresowych, co prowadzi do obniżenia plonu rolniczego. Z drugiej strony, rezygnacja z uzyskania form, cechujących się wytwarzaniem wysokiego plonu rolniczego lecz wykazujących duże możliwości dostosowywania się do aktualnie panujących warunków środowiska, może poprawić wierność plonowania w warunkach zmiennego

klimatu. Zadaniem hodowcy i producenta jest określenie, która z tych alternatyw jest bardziej korzystna w odniesieniu do konkretnego obiektu i przewidywanych warunków jego uprawy.

Niezależnie od charakteru adaptacji, przystosowanie się rośliny do konkretnego stresu może być wynikiem dwóch różnych strategii [21]:

1. Roślina może zapobiegać penetracji czynnika stresotwórczego w głąb tkanek lub komórek, na przykład w wyniku dostosowania swojego cyklu życiowego do sezonowych zmian warunków środowiska lub na skutek wytworzenia barier chroniących przed stresem. Może więc wykazać zdolność do unikania stresu (ang. „avoidance”). Unikając stresu unika zarazem wszelkiego typu uszkodzeń przezeń wywoływanych. Ten typ odporności w stosunku do stresu wodnego (suszy) wykazują efemerydy, występujące w terenach pozbawionych okresowo wody lub też — lądowe rośliny naczyniowe. Te ostatnie wytworzyły w toku ewolucji wiele barier chroniących komórki przed utratą wody oraz specjalne organy i tkanki, służące do pobierania wody ze środowiska glebowego, przewodzenia jej do części nadziemnych, a w niektórych przypadkach nawet do magazynowania wody. Przy tego typu odporności nie dochodzi do wyrównania potencjału wodnego komórek zlokalizowanych w częściach nadziemnych rośliny z potencjałem wodnym atmosfery.

2. Roślina może wykazać zdolność do tolerowania skutków stresu, działającego na terenie jej komórek i tkanek. Nie dochodzi wówczas do powstania nieodwracalnych uszkodzeń organizmu lub też uszkodzenia takie mogą zostać naprawione po ustąpieniu stresu. Przykładem organizmu wykazującego ten typ odporności w stosunku do stresu wodnego są niektóre porosty. Powierzchnie suche plechy tych porostów zachowują wszystkie zdolności życiowe mimo, że dochodzi do wyrównania różnicy potencjałów wody między komórkami, a środowiskiem zewnętrznym. W kontakcie z kroplą wody komórki tych organizmów podejmują prawie natychmiast wszystkie funkcje życiowe, nie wykazując uszkodzeń. Innym przykładem tolerowania stresu jest odporność roślin na stres termiczny. Rośliny nie są zdolne do regulacji ciepłoty tkanek i temperatura ich komórek szybko dochodzi do równowagi termodynamicznej z temperaturą otoczenia. Tylko w niewielkim stopniu szybkość tego procesu zależy od budowy i objętości organu. W przypadku stresu spowodowanego wysoką temperaturą intensywna transpiracja może spowodować kilkustopniowe obniżenie temperatury nadziemnych organów, ale mechanizm ten zawodzi przy dużym i długo utrzymującym się wzroście temperatury otoczenia. Negatywne skutki stresu termicznego wiążą się ponadto z powstaniem stresu wtórnego, którym jest odwodnienie protoplastu. Do odwodnienia takiego dochodzi zarówno pod wpływem zbyt wysokiej temperatury (gdy transpiracja przewyższa pobieranie wody) jak i mrozu, gdy komórki tracą

wodę w wyniku pozakomórkowej krystalizacji wody. Odporność roślin na sub- lub supraoptymalną temperaturę polega więc w dużej mierze na tolerowaniu odwodnienia.

Określenie rodzaju odporności wykazywanej przez badany materiał w stosunku do czynnika stresowego jest nieodzownym warunkiem ustalenia właściwej procedury oceny tej odporności.

Zasady oceny odporności roślin

Pełna charakterystyka odporności badanego materiału na określony stres środowiskowy powinna dostarczyć odpowiedzi na następujące pytania:

1. Jaki czynnik stresowy (stres pierwotny czy wtórny) decyduje o uszkodzeniu lub przeżyciu rośliny? Na przykład, niska lecz $> 0^{\circ}\text{C}$ temperatura powoduje zawsze zakłócenie bilansu wodnego roślin wrażliwych na chłód ze względu na zaburzenia w funkcjonowaniu błon w komórkach [20]. Podobnie, niska ujemna ($< 0^{\circ}\text{C}$) temperatura powoduje dehydratację komórek na skutek zamarzania wody w apoplazmie (w naczyniach ksylemu, w przestrzeniach międzykomórkowych i ścianach) lub na zewnątrz badanego organu [24]. Metoda oceny odporności roślin na niską temperaturę powinna więc uwzględniać kompleksowe działanie tego stresu.

2. Jaki rodzaj odporności odpowiada za lepsze lub gorsze przeżycie badanego materiału poddanego działaniu stresu (zdolność do unikania stresu, czy tolerancja stresu)?

3. Jak zmienia się odporność badanych roślin, ich organów i poszczególnych tkanek w trakcie wzrostu i rozwoju w optymalnych warunkach środowiska? Odpowiedź na to pytanie pozwoli na standaryzację i właściwy dobór materiału do badań i do selekcji.

4. Jak kształtuje się amplituda zdolności aklimatyzacyjnych badanych roślin i ich poszczególnych organów, w zależności od fazy rozwojowej? Formy hodowlane roślin, oceniane na określonym etapie rozwoju, mogą się różnić poziomem odporności na dany stres, natomiast mogą mieć różną zdolność do hartowania. W warunkach sprzyjających hartowaniu rośliny te wykażą ostatecznie różny poziom odporności. Zróżnicowana zdolność do hartowania może być przyczyną rozbieżności w ocenie odporności badanych roślin. Ustalając właściwą procedurę testowania należy również pamiętać o tym, że o przeżyciu całego organizmu może zdecydować poziom odporności jego najmniej odpornego i najmniej zdolnego do hartowania organu.

Przykładowo, określając poziom odporności roślin na mróz należy ocenić następujące parametry [24]:

1) zdolność rośliny lub jej określonych tkanek do zapobiegania zamarzaniu wody w tkankach i zdolność do tolerowania skutków pozakomórkowego zamarzania wody (tolerowanie dehydratacji mrozowej). Stosując analizę termiczną można określić w jakim stopniu badany materiał zdolny jest do przechłodzenia wody w tkankach. Eliminując lub ograniczając poziom przechłodzenia wody w tkankach, np. przez wprowadzenie na powierzchnię tkanki kryształków lodu (tzw. ice seeding, ang.), które inicjują powstawanie lodu w badanej próbce, badacz może określić poziom odporności komórek na zamarzanie, tzn. na skutki krystalizacji wody w tkankach [13, 16],

2) stan gotowości roślin do hartowania, cecha, która może zadecydować o odporności roślin na wczesne jesienne przymrozki,

3) stabilność odporności rośliny i jej organów. Jest to ważna cecha zwłaszcza wtedy, gdy istnieje niebezpieczeństwo wystąpienia dużych skoków temperatury w okresie zimy,

4) łatwość podejmowania wzrostu i rozwoju na wiosnę. Może zadecydować o odporności roślin lub niektórych organów na wiosenne przymrozki, gdyż szybko rosnące młode tkanki charakteryzują się obniżoną odpornością na mróz i suszę.

Przyczyną niskiej zimotrwałości wielu roślin naszego klimatu może być nie tylko mała odporność na działanie mrozu, ale również niska odporność na inne stresowe czynniki, występujące równolegle w środowisku, np. na suszę. Ma to szczególne znaczenie w okresie przedwiośnia, gdy może dojść do zaburzeń w gospodarce wodnej roślin, spowodowanych dużym zróżnicowaniem temperatury powietrza i gleby w ciągu dnia. Wówczas, u roślin wykazujących niską zdolność do unikania dehydratacji (np. u roślin cechujących się dużą powierzchnią transpiracyjną) lub u roślin słabo tolerujących dehydratację wystąpią wyższe uszkodzenia niż u form pokrewnych, lepiej przystosowanych do suszy. Tak więc o lepszej zimotrwałości niektórych odmian i form hodowlanych decydować będzie nie odporność na mróz lecz te przystosowania morfologiczne i rozwojowe, które zapewnią tkankom utrzymanie korzystniejszego bilansu wodnego. Podobnie, niższa zimotrwałość niektórych form hodowlanych może być wynikiem większej podatności roślin na patogeny. Wnioskowanie o zimotrwałości badanego materiału powinno więc opierać się na ocenie poszczególnych komponentów tego zjawiska.

Procedura testowania odporności

Ocenę odporności roślin na stres przeprowadza się na ogół w trzech etapach:

1) badany materiał poddaje się działaniu stresu w określonych standardowych warunkach. Testowanie w warunkach polowych związane

jest z oddziaływaniem całego wachlarza czynników stresowych, z których tylko niektóre mogą mieć wartość selekcyjną.

2) ocenia się rodzaj i poziom powstałych uszkodzeń,

3) dobiera się właściwy sposób wyrażania odporności tak, aby można było porównać odporność różnych badanych obiektów.

Ad. 1. Zasady standaryzacji warunków testowania

a) Materiał poddawany ocenie powinien znajdować się na porównywalnym etapie rozwoju, jak również powinien mieć zapewnione podobne warunki wzrostu. Ponadto, należy wykluczyć działanie tych wszystkich czynników, które mogą zróżnicować odpowiedź tkanek na stres, np. należy doprowadzić badane tkanki do tego samego poziomu uwodnienia (do pełnego turgoru) przed stresem, stosowanym w celu diagnostycznym,

b) Czynniki stresowe powinny działać w ustalonym wcześniej (w wyniku wstępnych doświadczeń) natężeniu tak, aby wywołać uszkodzenia lecz wykluczyć możliwość zahartowania się tkanki.

c) Należy ustandaryzować inne warunki działające na roślinę w trakcie ekspozycji na stres (np. warunki świetlne, wodne lub termiczne). W trakcie oceny odporności roślin na zamarzanie (tolerancji zamarzania) należy ograniczyć lub wykluczyć możliwość przechłodzenia wody wewnątrzkomórkowej, co uzyskuje się przez wprowadzenie kryształków lodu na powierzchnię badanej tkanki,

d) Należy zapewnić określoną szybkość osiągnięcia równowagi termodynamicznej z czynnikiem stresowym, ustalić czas ekspozycji na stres, jak również szybkość jego ustępowania. Każdy z tych czynników może mieć wpływ na wielkość uszkodzeń,

e) Należy ustandaryzować warunki ustępowania stresu oraz warunki, w których przebywa roślina bezpośrednio po stresie. Uszkodzenia wywołane stresem mogą się powiększać lub ustępować, w zależności od tych warunków.

Ad. 2. Kryteria i metody oceny uszkodzeń spowodowanych stresem

Pomimo dużej liczby i różnorodności metod stosowanych przy ocenie uszkodzeń, żadna z nich nie nadaje się do powszechnego stosowania. Wybór metody zależy od materiału, który ma być poddany ocenie oraz pytania, które stawia badacz. Jako podstawową zasadę należy przyjąć konieczność rozróżnienia zjawisk związanych z zaburzeniami funkcji (najczęściej odwracalnymi) od zjawisk prowadzących do nekroz, które kwalifikowane są jako uszkodzenia struktury i wiążą się z degradacją błon w komórce i nieodwracalną inaktywacją enzymów [24].

Do zaburzeń funkcji, które mogą mieć wartość diagnostyczną należą: zahamowanie fotosyntezy wykrywane np. technikami fluorescencyjnymi [14]; anomalie w procesie oddychania: zmiany natężenia oddychania, za-

burzenia metabolizmu oddechowego i produkcji energii [1]; zahamowanie wzrostu. Zdolność rośliny do odbudowy uszkodzeń można oszacować na podstawie oceny szybkości odrostu jej uszkodzonych fragmentów lub — w przypadku kultur izolowanych komórek — na podstawie oceny szybkości ich podziałów i zwiększania liczebności populacji, co można oceniać między innymi fotometrycznie [27].

Wystąpienie uszkodzeń strukturalnych można wykryć wizualnie, obserwując zmianę koloru tkanki (np. w wyniku utleniania związków fenolowych) i jej zasychanie lub wydzielanie się charakterystycznego zapachu z komórek ulegających autolizie, (np. siarkowodoru, kumaryny). Ilościowa ocena tego typu uszkodzeń jest często oparta na umownej skali uszkodzeń, a więc może być dosyć subiektywna. W niektórych przypadkach, np. uszkodzeń liści, można zastosować metody bardziej obiektywne, takie jak metodę planimetryczną [18] lub komputerową analizę obrazu [5, 22].

Bardziej obiektywnym kryterium uszkodzeń strukturalnych są uszkodzenia błon, których miarą jest utrata własności półprzepuszczalnych tych struktur. Uszkodzenie błon powoduje wyciek elektrolitów wewnątrzkomórkowych i małych cząstek organicznych do środowiska zewnętrznego. Zjawisko to można oceniać metodą konduktometryczną mierząc ilość elektrolitów, które przedostały się do roztworu zewnętrznego [2, 3, 31] lub oceniając impedancję tkanki, o której decyduje ilość i rodzaj jonów uwolnionych do apoplastu [8, 11], a także mierząc ilość uwolnionych aminokwasów np. metodą ninhydrynową [25, 30]. Miarą zmian własności półprzepuszczalnych błon może też być utrata przez komórkę zdolności do plazmolizy i deplazmolizy [23] lub do akumulacji takich barwników jak eozyrna, erytrozyna, chydroidyna, rodamina [9] lub fluoresceina [10], co można ocenić w wyniku obserwacji komórek w mikroskopie świetlnym. Uszkodzone komórki tracą też wodę, co prowadzi do nieodwracalnej utraty turgoru przez badaną tkankę.

Innym zjawiskiem, wykorzystanym jako kryterium nieodwracalnych uszkodzeń jest ocena aktywności niektórych, kluczowych dla metabolizmu enzymów, np. dehydrogenaz, których inaktywację ocenia się na podstawie zdolności komórek do redukcji chlorku trifenylotetrazoliowego, TTC [17, 19, 26, 29]. Metoda jest szczególnie przydatna do oceny żywotności komórek parenchymy, kalusa, zawiesiny komórkowej [27] oraz izolowanych protoplastów [28].

Większość przedstawionych tu metod opisano w pracach dotyczących oceny uszkodzeń spowodowanych niską temperaturą [12]. Niemniej, nadają się one do oceny uszkodzeń spowodowanych innymi stresami, temperaturą, dehydratacją, napromieniowaniem, zasoleniem, działaniem ciężkich metali, etc.

Porównanie poziomu uszkodzeń ocenionych różnymi metodami daje często nieco odmienne wyniki, w zależności od badanego parametru, przyjętego jako kryterium uszkodzeń [4]. Stwierdzenie to wskazuje na odmienną wrażliwość różnych struktur komórkowych na badany stres i może być wykorzystane do analizy efektów stresu oraz interpretacji wyników na temat mechanizmu działania tego stresu.

Ad. 3. Wyrażanie odporności

Różnice w odporności badanego materiału przedstawia się najczęściej jako różnice w wielkości uszkodzeń wywołanych określonym stresem w badanym materiale [24]. Wielkość uszkodzeń wyraża się jako poziom uszkodzeń (ang. injury rate), lub odwrotnie, jako poziom lub stopień przeżycia (ang. survival rate). Pierwszy z tych terminów oznacza ilość uszkodzonego materiału w stosunku do całej analizowanej próby, przyjętej jako 100%, a drugi jest odwrotnością tej wartości.

Ocena uszkodzeń w oparciu o metody pomiarowe daje wartości liczbowe, które precyzyjnie określają poziom uszkodzeń w badanym materiale. Natomiast ocena uszkodzeń na podstawie przyjętej przez badacza skali uszkodzeń tylko wtedy umożliwi uzyskanie stosunkowo precyzyjnych danych, gdy uwzględniono w badaniach wystarczającą liczbę powtórzeń, a przeprowadzający ocenę pracownik ma za sobą wystarczającą praktykę w tej dziedzinie.

Miarą odporności może być:

1. Indeks uszkodzeń, tzn. poziom uszkodzeń wywołanych określonym i zdefiniowanym stresem (działającym w tym samym natężeniu i przez taki sam okres czasu na wszystkie badane próby), przy uwzględnieniu zachowania się materiału kontrolnego, w którym badany parametr może również ulegać niewielkim zmianom w trakcie doświadczenia. Stosować można wówczas równanie, zaproponowane przez Flinta i innych [6] dla wyrażania uszkodzeń mrozowych. Równanie to po uogólnieniu dla różnych stresów i dla różnych kryteriów uszkodzeń może przyjąć następującą postać:

$$I_s = \frac{U_s - U_k}{U_z - U_k} \times 100 (\%)$$

gdzie I_s oznacza indeks uszkodzeń spowodowanych stresem, a U_s , U_k , U_z wartości, jakie osiąga badany parametr (np. poziom wycieku elektrolitów) odpowiednio w tkance poddanej stresowi, w tkance kontrolnej oraz w tkance całkowicie zabitej (np. przez zagotowanie).

2. Natężenie stresu, które prowadzi do porównywalnego poziomu uszkodzeń [24]. Może to być:

SL_0 = najwyższe natężenie stresu, przy którym nie występują jeszcze uszkodzenia,

- SL_i = to natężenie stresu, które prowadzi do początkowych (inicjacyjnych) uszkodzeń,
- SL_{50} = takie natężenie stresu, które powoduje 50% uszkodzeń. Jest to powszechnie przyjęta, standardowa miara odporności, którą się ustala najczęściej na podstawie ekstrapolacji, z krzywej opisującej zależność między natężeniem stresu, a poziomem uszkodzeń,
- SL_{100} = stres, po którym przeżywa tylko kilka osobników lub komórek.

Literę „S” zastępuje się najczęściej symbolem oznaczającym rodzaj czynnika stresowego, np. literą „T” dla stresu termicznego, literą „D” dla stresu dehydratacyjnego itp.

W badaniach dotyczących odporności roślin na mróz, których celem jest charakterystyka mechanizmów odpowiedzialnych za tolerowanie zamarzania, odporność na zamarzanie (H) można definiować [21] jako różnicę między temperaturą powodującą 50% uszkodzenia (T_{k50} lub TL_{50}), a punktem zamarzania tkanki ($T\Delta$):

$$H = (T_{k50} - T\Delta)$$

W badaniach, w których ocenia się odporność roślin na suszę, miarą odporności może być tzw. specyficzny czas przeżycia [20], który określa jak długo roślina może nie wykazywać uszkodzeń po zaprzestaniu podlewania (przy braku dostaw wody do środowiska) i po zamknięciu szparek na liściach, przy danym potencjale wodnym powietrza, odpowiedzialnym za parowanie wody z liści (transpirację kutikularną):

$$\text{specyficzny czas przeżycia} = W_{av}/E_c$$

gdzie W_{av} (woda dostępna) oznacza tę zawartość wody w roślinie, która po zamknięciu szparek pozwala na podtrzymanie bez uszkodzeń procesów życiowych w komórkach, a E_c oznacza transpirację kutikularną. W przypadku liści specyficzny czas przeżycia zależy zarówno od zdolności tkanki do unikania dehydratacji, jak i możliwości jej tolerowania [20].

W badaniach dotyczących produktywności roślin wykorzystuje się często spadek plonu rolniczego jako miarę wrażliwości badanych roślin na stosowany lub występujący w trakcie wegetacji stres lub zespół stresów. Podejście takie może dawać niepowtarzalne wyniki i nawet prowadzić do błędnych wniosków, gdyż plon jest wypadkową wielu różnych mechanizmów odpowiedzialnych za zróżnicowaną wrażliwość roślin na stresowe czynniki środowiska, a każdy z tych mechanizmów może inaczej zadziałać w konkretnych warunkach środowiskowych. Przyjęcie spadku plonu rolniczego jako kryterium i miary odporności może być przydatne do ostatecznej oceny efektywności zabiegów hodowlanych, prowadzonych

w oparciu o bardziej specyficzne i posiadające większą wartość selekcyjną kryteria odporności.

LITERATURA

1. Anderson J.: *Cryobiology* 15, 700, 1978.
2. Dexter S.T., Tottingham W.E., Graber L.F.: *Plant Physiol.* 7, 63—78, 1932.
3. Długokęcka E., Kacperska-Palacz A.: *Biol. Plant.* 20, 265—267.
4. Duda U., Kacperska A.: *Z. Pflanzenphysiol.* 111, 69—73, 1983.
5. Eguchi H., Hamakoga M., Matsui T.: *Environm. Exp. Bot.* 22, 277—283, 1982.
6. Flint H.L., Boyce B.R., Brattie D.: *Can. J. Plant Sci.* 47, 229—239, 1967.
7. Harper J.L.: In: *The plant community as a working mechanism*, (E. I. Newman, ed.), Blackwell, Oxford, 1982.
8. Hayden R.E., Dionne L., Fenson D.S.: *Can. J. Bot.* 50, 1547—1554, 1972.
9. Höfler K.: *Ber. dtsh. Bot. Ges.* 66, 453—462, 1953.
10. Höfler K., Ziegler A., Luhan M.: *Protoplasma* 46, 322—325, 1956.
11. Kacperska-Palacz A.: *Acta Soc. Bot.* 39, 469—475, 1970.
12. Kacperska-Palacz A., Długokęcka E.: *Wiadomości Botaniczne* 15, 779—90, 19.
13. Kacperska A., Kulesza L.: *Physiol. Plant.* 71, 483—488, 1987.
14. Klosson R.J., Krause G.H.: *Planta* 151, 347—352, 1981.
15. Kramer P.J.: In: *Adaptation of plants to water and high temperature stress* (N.C. Turner, P.J. Kramer, eds.), Wiley & Son, New York str. 7—20, 1980.
16. Kulesza L., Pukacki P., Kacperska A.: *Acta Physiol. Plant.* 8, 185—193, 1986.
17. Lakon G.: *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* 60, 299—305, 1942.
18. Lange O.L.: *Planta* 56, 666—683, 1961.
19. Larcher W.: *Mikroskopie* 25, 2007—218, 1969.
20. Larcher W.: *Physiological Plant Ecology*, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1980.
21. Levitt J.: *Responses of plants to environmental stresses*. Academic Press, London, New York, 1980.
22. Omasa K., Hashimoto Y., Aiga I.: *Res. Rep. Natl. Inst., Environ. Stud. Ibaraki* 66, 99—104.
23. Palta J.P., Levitt J., Stadelmann E.J.: *Cryobiology* 15, 249—255, 1978.
24. Sakai A., Larcher W.: *Frost Survival of Plants*, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1987.
25. Siminovitch D. i in.: *Can. J. Bot.* 40, 1267—1269, 1962.
26. Steponkus P.L., Lanphear F.O.: *Plant Physiol.* 42, 1423—1426, 1967.
27. Sugawara Y., Sakai A.: *Plant Physiol.* 54, 722—724, 1974.
28. Tao D., Li P.H., Carter J.V.: *Physiol. Plant.* 58, 527—532, 1983.
29. Towill L.E., Mazur P.: *Plant Physiol.* 57, 290—296, 1976.
30. Wiest S.C., Good G.L., Steponkus P.L.: *Plant Physiol.* 62, 599—605, 1978.
31. Wilner J.: *Can. J. Plant Sci.* 40, 630—637, 1960.

Opracowanie niniejsze zostało wykonane w ramach prac finansowanych częściowo przez C.P.B.F. 05-02-03.