

**SCHIMBAREA TERMOTOLERANȚEI GENOTIPURILOR
STEJARULUI PUFOS (*Quercus Pubescens* WILD.)
ÎN FUNCȚIE DE PERIOADA PRELEVĂRII FRUNZELOR
ȘI TERMENELE DE ÎNFRUNZIRE**

Petru CUZA

Catedra Ecologie, Botanică și Silvicultură

The method of electrolytes leakage has been applied for identification of distinctions between genotypes of a fluffy oak (*Quercus pubescens* Wild.). This method allows revealing on level of electrolytes leakage distinctions between genotypes with high accuracy. Distinctions between genotypes become more obvious after application of temperature of a thermal shock which causes approximately 50% level of electrolytes leakage from their total content. It is revealed, that in comparison with the beginning of summer with approach of the hot period of July heat stability of leaves of an oak raise. Thus, change thermotolerance is used by plants as the adaptation to heats. Trees with late terms of blooming of leaves show heat stability in comparison with early dismissed. Apparently, accumulation of fat acids in cages of leaves at these plants occurs more vigorously, that is shown in change thermotolerance.

Introducere

La ora actuală, identificarea genotipurilor cu rezistență sporită la acțiunea temperaturilor înalte este o problemă importantă, deoarece tendințele schimbărilor climatice pe glob devin pregnante, ceea ce în viitorul apropiat poate modifica actualul areal al unor specii forestiere. În pofida acestui fapt, până în prezent cercetării toleranței speciilor lemnoase la acțiunea temperaturilor înalte i se acordă o atenție scăzută. În Republica Moldova trebuie întreprinse investigații referitoare la rezistența speciilor edificatoare de pădure la acțiunea nefavorabilă a factorilor climatici, mai ales că unele studii recente au evidențiat faptul că în țară are loc intensificarea procesului de deșertificare [1].

În scopul realizării studiilor privind termotoleranța la unele specii spontane, cum ar fi, de exemplu, stejarii, este necesar să se aplice o tehnică de lucru modernă, rapidă și precisă. Până nu demult un obstacol în realizarea acestui obiectiv a fost lipsa de metode corespunzătoare, însă în ultimul timp în domeniul agriculturii au fost elaborate unele metodologii care permit soluționarea problemei în cauză. O metodă promițătoare în acest sens este scurgerea electroliților, care, fiind aplicată, a dat rezultate optimiste în cercetarea rezistenței mai multor specii și soiuri ale plantelor agricole la acțiunea temperaturilor înalte [2-4]. Metoda sensibilizează schimbările în concentrația electroliților la diferite organe deteriorate ale plantei (frunze, fructe, porțiuni de rădăcină) în rezultatul acțiunii temperaturilor înalte asupra lor. Având în vedere că gravitatea leziunilor provocate de către temperatura șocului termic este proporțională cu cantitatea de electroliți penetrați din organe în mediul de incubare, deosebirile dintre genotipuri pot fi apreciate în termeni de conductibilitate electrică. Este important să se stabilească felul în care se schimbă termotoleranța plantelor pe parcursul perioadei de vegetație. Unele studii efectuate în acest domeniu au constatat că termorezistența celulelor frunzelor la mai multe specii în perioada de primăvară și toamnă este mai joasă decât vara. În perioada caniculară al verii termostabilitatea maximă a structurilor celulare ale frunzelor revine orelor de după amiază, iar în orele răcoroase ale nopții aceasta scade întrucâtva, ca în continuare să se ridice din nou. S-a ajuns la concluzia că schimbarea rezistenței plantelor, în condițiile naturale, a avut loc în procesul evoluției ca o adaptare la temperaturile supraoptimale [5].

În prezentul articol sunt incluse rezultatele care demonstrează eficacitatea metodei de scurgere a electroliților pentru testarea pe parcursul perioadei de vegetație a deosebirilor dintre genotipuri, precum și dintre indivizii stejarului pufos care se deosebesc după termenele desfășurării frunzelor.

Material și metode

Pentru testarea deosebirilor dintre genotipurile stejarului pufos într-un arboret din teritoriul Ocolului silvic Băiuș au fost selectați 10 arbori care se deosebeau după termenele de înfrunzire. 5 arbori din aceștia, notați pe teren cu numerele 1A, 73, 85, 105 și 150, înfrunzesc timpuriu, iar alți 5, desemnați cu numerele 68, 133, 136, 139 și 169, se caracterizează prin desfășurarea târzie a frunzelor. De pe acești arbori pe 3 iunie și 1 iulie 2004 au fost recoltate probe de frunze pentru a stabili felul cum se schimbă pe parcursul perioadei de vegetație termotoleranța structurilor celulare ale frunzelor.

Pentru a înlătura de pe suprafața frunzelor colbul și electroliții exogeni, în laborator probele fiecărui arbore au fost spălate cu apă distilată și zvântate. Din frunzele fiecărui arbore cu ajutorul ștanței au fost decupate câte 15 porțiuni circulare de limb foliat cu diametrul de 9 mm. Din totalitatea mostrelor fiecărui arbore câte 3 porțiuni circulare au fost trecute în 5 eprubete în care se găseau 3 ml de apă deionizată. Eprubetele cu mostrele de frunze ale fiecărui individ au fost introduse în termostatul cu apă (*Universal ultrathermostat „UTU-4”*), unde au fost supuse șocului termic la temperatura de 50 și 62°C în decurs de 10 minute. După finalizarea șocului termic mostrele cu frunze au fost trecute în apă rece și agitate în decurs de 2 ore în amestecător (*Wstrzasarka uniwersalna typ WU-4*, Polonia) la temperatura camerei (25°C).

Conductibilitatea mediului de incubare a mostrelor de frunze a fost determinată folosindu-se în acest scop conductometrul de tip *N 5721* (Polonia). În continuare, pentru a asigura deteriorarea completă a țesuturilor, mostrele de frunze din toate variantele de cercetare tratate anterior la temperaturile șocului termic de 50 și 62°C au fost supuse temperaturii de 100°C pe parcursul a 10 minute. Apoi, eprubetele au fost răcite cu apă rece, agitate în decurs de 2 ore și măsurată conductibilitatea mediului de incubare a mostrelor.

Scurgerea relativă a electroliților la toți arborii analizați a fost calculată din ecuația:

$$\text{Sc. rel.} = \mu_{50} / \mu_{100}$$

în care:

Sc. rel. – rata de electroliți eliberați din probele frunzelor fiecărui individ sub acțiunea șocului termic de 50°C;

μ_{50} – conductibilitatea variantelor experimentale supuse șocului termic la temperatura de 50°C, în mS/m;

μ_{100} – conductibilitatea totală a variantelor experimentale (după aplicarea șocului termic cu temperatura de 100°C), în mS/m.

În mod similar a fost calculată scurgerea relativă la toți arborii cărora le-a fost aplicat șocul termic cu temperatura de 62°C.

Aprecierea legăturilor corelative dintre termotoleranța stejarilor s-a făcut după rata relativă a electroliților penetrați din frunze în conformitate cu algoritmul elaborat de Spaerman, care a fost preluat din [6].

Rezultate și discuții

În scopul evidențierii termotoleranței la 10 arbori de stejar pufos, care se deosebesc după termenele de înfrunzire în diferite perioade de timp (în lunile iunie și iulie), au fost recoltate probe de frunze și apreciată starea țesuturilor în funcție de valoarea temperaturii șocului termic și perioada de colectare a mostrelor. În literatura referitoare la alegerea temperaturii optime a șocului termic, care sensibilizează în cel mai elocvent mod deosebiriile dintre genotipuri, se arată că ea trebuie să aibă o mărime care provoacă deteriorări proporționale cu 50% de scurgere a electroliților din țesuturile frunzei [4]. Pentru stabilirea reacției de răspuns a diferitelor genotipuri la aplicarea șocului termic a fost aleasă temperatura de 62°C, deoarece este apropiată de 65°C, care, după cum s-a determinat într-o lucrare anterioară, fiind aplicată timp de 5 minute, induce 50% de scurgere a electroliților din țesuturile frunzelor stejarului pufos [7]. Probele de frunze au fost, de asemenea, tratate cu o temperatură de toleranță absolută a șocului termic (de 50°C). Alegerea și aplicarea unei asemenea temperaturi s-a făcut pentru a constata dacă există o corespondență între reacția genotipurilor în cazul tratării frunzelor stejarului cu diferite doze ale șocului termic.

În Figura 1(A și B) sunt prezentate rezultatele experimentelor de laborator care au avut drept scop să determine termotoleranța unui șir de genotipuri în baza tratării probelor de frunze cu temperaturile de 50 și 62°C în decurs de 10 minute. Experimentele s-au efectuat la 3 iunie 2004, adică la începutul verii, când temperaturile diurne nu sunt încă prea ridice. După cum se observă, temperatura de 50°C nu a pricinuit leziuni grave structurilor celulare ale frunzelor. Appreciate în unități de scurgere a electroliților, leziunile provocate genotipurilor au avut valori cuprinse între 0,21 și 0,26 μS . Valorile indicilor scurgerii relative a electroliților demonstrează că rezistența arborilor la acțiunea șocului termic este diferită. De aceea, în funcție de valorile acestui indice, s-a recurs la împărțirea arborilor în două grupuri. Arborii care se caracterizează printr-o rezistență sporită la acțiunea temperaturii de 50°C au fost atribuiți la primul grup. La ei rata de scurgere a electroliților din țesuturile frunzelor nu a întrecut valoarea de 0,22 μS . Din rândul lor fac parte arborii cu numerele 73 și 105, care înfrunzesc timpuriu, și cu numerele 68, 133 și 136, care își desfac frunzele târziu. Din grupul al doilea fac parte arborii care se deosebesc printr-o sensibilitate scăzută la acțiunea șocului termic și cărora le este proprie o cantitate mai mare de 0,22 μS de electroliți eliberați din țesuturile frunzelor. Printre aceștia se numără arborii 1A, 85, 139, 150 și 169. Din analiza datelor reiese că temperatura de 50°C este slabă și nu permite să identifice într-un mod cert deosebiriile dintre arborii stejarului pufos care se caracterizează prin anumite termene de înfrunzire.

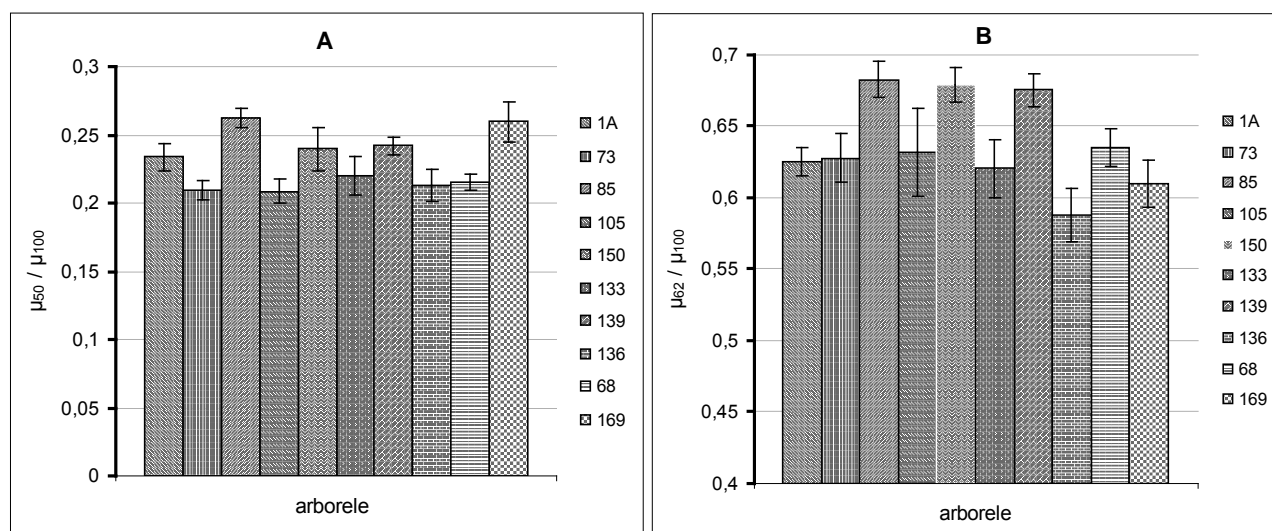


Fig.1. Scurgerea relativă a electroliților din segmentele frunzelor arborilor de *Quercus pubescens* supuse șocului termic la temperatura de 50°C (A) și 62°C (B). Data recoltării frunzelor 03.06.2004.

Temperatura de 62°C aplicată în decurs de 10 minute a pricinuit leziuni considerabile structurilor celulare ale frunzelor stejarului pufos. Din Figura 1(A și B) se observă că în comparație cu temperatura de 50°C sub acțiunea temperaturii șocului termic de 62°C s-a schimbat termotoleranța frunzelor indivizilor și s-au majorat deosebiriile dintre arbori. La unii indivizi s-a mărit rezistența la acțiunea șocului termic. Este de rețut că după nivelul de 0,64 μS de scurgere a electroliților au fost identificați arborii care se caracterizează prin termotoleranță înaltă, printre care cei cu numerele 1A, 68, 73, 105, 133, 169 și 196, precum și stejarii care au o rezistență scăzută, cum sunt cei cu numerele 85, 139 și 150 (Fig. 1B). Din totalitatea genotipurilor caracterizate la aplicarea temperaturii șocului termic de 62°C, în comparație cu temperatura de 50°C s-a mărit rezistența arborilor nr. 1A și 169. Drept cele mai rezistente putem considera genotipurile la care rata electroliților eliberați din țesuturile frunzelor nu a depășit valoarea de 0,62 μS . Aceștia sunt arborii cu numerele 133, 136 și 169. Unele genotipuri, dimpotrivă, se caracterizează prin termotoleranță scăzută (nr. 85, 139 și 150). Este de menționat că deosebiriile dintre diferite genotipuri nu sunt întâmplătoare, ci statistic asigurate. Astfel, genotipul cel mai rezistent cu numărul 136 se deosebește semnificativ de genotipul 85 ($t = 4,748$; $p < 0,01$), care se caracterizează prin rezistență scăzută, de asemenea, de cel cu numărul 139 ($t = 4,488$; $p < 0,05$), care și el manifestă sensibilitate scăzută. Din cele relatate se întrevide tendința unei rețineri mai bune a electroliților de către arborii cu înfrunzirea târzie. În plus, evidențierea deosebirilor mai mari dintre arbori demonstrează că temperatura șocului termic de 62°C este mai sensibilă decât cea de 50°C și surprinde mai exact diferențele în termostabilitatea structurilor celulare ale frunzelor.

O altă serie de experiențe au fost făcute la 1 iulie 2004 și au avut drept scop să aprecieze termotoleranța acelorași arbori, însă la un interval de o lună, adică în plină vară, în perioada când s-a instaurat perioada caniculară. Șocul termic cu temperatura de 50°C aplicat probelor de frunze a determinat o concentrație mai mare de electroliți în mediul de incubare în comparație cu experiența efectuată la începutul verii (a se compara datele din Figurile 1A și 2A). În plus, rata electroliților penetrați din țesuturile probelor de frunze s-a dovedit a avea valori apropiate pentru majoritatea dintre genotipurile testate, situate în jur de 0,25 μS (Fig. 2A). Totuși, după termostabilitatea structurilor celulare ale frunzelor la acțiunea temperaturii șocului termic arborii stejarului pufos pot fi separați în două grupuri. La primul grup se atribuie arborii cu numerele 105, 150, 133, 136 și 139, care au manifestat o rezistență ceva mai ridicată la acțiunea șocului termic. Nivelul concentrației electroliților în probele frunzelor la acești arbori a fost mai scăzut decât 0,25 μS . Printre arborii nominalizați doi se caracterizează prin desfacerea timpurie (105 și 150) și trei (133, 136 și 139) prin desfacerea târzie a frunzelor. Al doilea grup include arborii care se deosebesc prin termotoleranță mai scăzută, la care a fost evidențiată o rată mai sporită decât 0,25 μS a nivelului de scurgere a electroliților. Printre ei se numără arborii 1A, 68, 73, 85 și 169, care se deosebesc vădit după termenele de înfrunzire. Comparând datele obținute în lunile iunie și iulie, constatăm că la majoritatea dintre arborii urmăriți nu se păstrează în timp tendința de reținerere la un anumit nivel a electroliților în probele de frunze. Pentru confirmarea celor spuse s-a efectuat corelarea arborilor după indicii de scurgere relativă a electroliților obținuți în lunile iunie și iulie. Analiza corelativă a rangurilor (după Spaerman) nu a identificat deosebiri semnificative dintre genotipuri după rata relativă a scurgerii electroliților ($r = 0,24$).

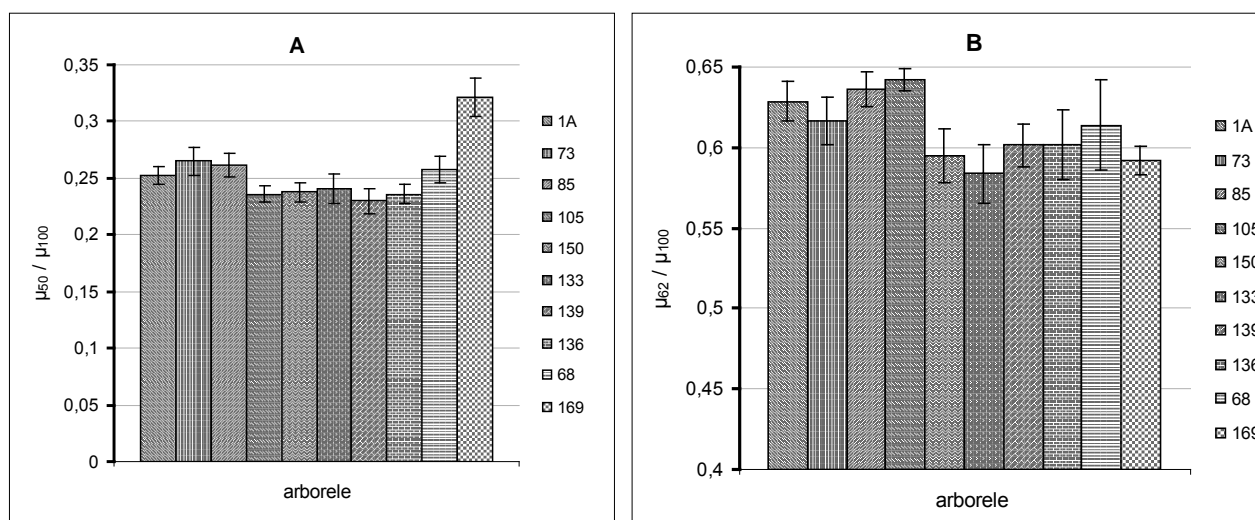


Fig.2. Scurgerea relativă a electroliților din segmentele frunzelor arborilor de *Quercus pubescens* supuse șocului termic la temperatura de 50°C (A) și 62°C (B). Data recoltării frunzelor 01.07.2004.

Mai important este să vedem în ce direcție s-a schimbat termotoleranța genotipurilor în decurs de o lună, adică să constatăm dacă ridicarea temperaturii aerului din luna iunie a influențat asupra schimbării termotoleranței stejarilor. Un interes deosebit în acest sens prezintă compararea rezultatelor experiențelor de termotoleranță efectuate în lunile iunie și iulie în cazul când tratarea probelor de frunze s-a făcut la temperatura de 62°C. Diagramele prezentate în Figurile 1B și 2B ilustrează, că, în comparație cu datele obținute la 3 iunie, peste intervalul de o lună (adică la 1 iulie) indicii scurgerii relative a electroliților din frunze au scăzut la majoritatea arborilor. De menționat că o scădere semnificativă a nivelului de scurgere a electroliților a fost surprinsă la arborii, în probele frunzelor prelevate de la care la începutul perioadei de vară a fost evidențiată cea mai înaltă concentrație a electroliților. Printre aceștia se menționează arborii cu numerele 150, 139 și 85. S-a constatat că nivelul de scurgere relativă a electroliților din frunzele arborelui nr. 150 s-a redus cu 14,1%, la arborele nr. 139 – cu 12,3% și la arborele nr. 85 – cu 7,3%. Doar la un singur arbore (nr. 136) s-a observat o creștere neînsemnată a concentrației electroliților în probele frunzelor (cu 2,3%), iar la alți doi arbori (nr. 1A și 105) rata electroliților practic nu s-a schimbat în timp. Evidențierea unui nivel de electroliți mai scăzut la majoritatea dintre arborii cercetați este rezultatul schimbării în timp a stării fiziologice a plantelor. Așa cum reiese din datele analizate, la sfârșitul primăverii, care se caracterizează prin temperaturi relativ ridicate, termotoleranța structurilor celulare ale frunzelor este joasă; în condițiile lunii iunie, când se instaurează canicula, rezistența celulelor frunzelor la stejarul pufos se mărește. Astfel, stejarul pufos și-a dezvoltat de-a lungul timpului capacitatea de a-și modifica metabolismul și alte funcții celulare pentru o mai bună adaptare la condițiile climatice sezoniere. Pentru confirmarea fenomenului surprins pot fi făcute referiri la lucrarea lui V.Ia. Alexandrov [5], care abordează termotoleranța unor componente celulare la un șir de plante ce vegetează în Turkmenistan. Autorul nu a constatat schimbări în mișcarea protoplasmei la plante în perioada răcoroasă a anotimpurilor de primăvară și toamnă. Însă, cu sosirea perioadei caniculare, a putut fi surprinsă creșterea termorezistenței protoplasmei și schimbarea mișcării acesteia în decursul zilei. Studiile întreprinse i-au permis autorului să concluzioneze că în natură călirea termică este utilizată de către plante ca una dintre căile posibile pentru a se adapta la temperaturile superoptimale.

Un alt aspect ce se întrevide în cazul comparării nivelului de scurgere a electroliților din mostrele frunzelor în experiențele efectuate în iunie și iulie vizează schimbarea în timp a termotoleranței arborilor. Din Figura 2B reiese că termotoleranța arborilor urmăriți se poate aprecia după nivelul de 0,61 μS a concentrației electroliților. O rezistență înaltă au manifestat-o arborii cu numerele 68, 133, 136, 139, 150 și 169, deoarece la ei a fost evidențiată o rată mai mică decât 0,61 μS a nivelului de scurgere a electroliților. Arborii cu numerele 1A, 73, 85, 105, dimpotrivă, s-au caracterizat printr-o toleranță scăzută la acțiunea șocului termic. Se observă corespondența între nivelul de scurgere a electroliților din frunze și termenele de înfrunzire a stejarilor. Astfel, stejarii cu desfacerea târzie a frunzelor au reținut mai bine electroliții decât cei cu înfrunzirea timpurie. De aici rezultă că arborii stejarului pufos cu înfrunzirea târzie sunt mai rezistenți la acțiunea temperaturilor înalte decât cei cu desfacerea timpurie a frunzelor. De menționat că în [7], lucrare dedicată stejarului pedunculat, au fost evidențiate rezultate similare în cea ce privește termotoleranța arborilor care se deosebesc după termenele de înfrunzire. Care ar fi cauza ce a determinat toleranța mai sporită la acțiunea temperaturilor șocului termic a stejarilor cu înfrunzirea târzie? Este de așteptat că în natură indivizii cu înfrunzirea târzie beneficiază de o

perioadă mai îndelungată de timp cu temperaturi ridicate, fapt care determină acumularea mai intensă a conținutului acizilor grași nesaturați în celulele acestor plante. Probabil, cantitatea mai sporită a acizilor grași în celulele indivizilor cu înfrunzire târzie determină sporirea termotoleranței lor, în comparație cu cea a stejarilor care își desfac frunzele timpuriu [8, 9].

Concluzii

1. Metoda de scurgere a electroliților este exactă și permite sensibilizarea deosebirilor dintre genotipurile stejarului pufos.

2. Deosebirile dintre genotipuri pot fi surprinse cu o precizie mai mare în cazul când temperatura șocului termic este apropiată de temperatura care induce 50% de scurgere a electroliților din cantitatea lor totală.

3. Arborii cu înfrunzirea târzie rețin mai bine electroliții în comparație cu acei care își desfac frunzele timpuriu. Probabil, cantitatea mai mare a acizilor grași nesaturați acumulați în celule contribuie la sporirea termorezistenței arborilor cu înfrunzirea târzie.

4. Termorezistența structurilor celulare ale arborilor este scăzută la sfârșitul primăverii, însă se mărește vara, în perioada instaurării temperaturilor caniculare. Fenomenul surprins sugerează că, de-a lungul timpului, activitatea metabolică la stejar s-a perfecționat, devenind mai eficientă, pentru a face față unei adaptări mai eficiente a indivizilor la condițiile climatice sezoniere.

Referințe:

1. Degradarea solurilor și deșertificarea. - Chișinău: Știința, 2000. - 286 p.
2. Inaba M., Crandall P.G. Electrolyte leakage as an indicator of high-temperature injury to harvested mature green // Jour. Amer. Soc. Hort. Sci. - 1988. - Vol.133. - No1. - P.96-99.
3. Ingram D.L., Buchanan D.W. Lethal high temperatures for roots of three citrus rootstocks // J. Amer. Soc. Hort. Sci. - 1984. - Vol.109. No2. - P.189-193.
4. Martineau J.R., Specht J.E., Williams J.H., Sullivan C.Y. Temperature tolerance in soybeans. I. Evaluation of a technique for assessing cellular membrane thermostability // Crop Science. - 1979. - Vol.19. - P.75-78.
5. Александров В. Я. Реактивность клеток и белки. - Ленинград: Наука, 1985. - 320 с.
6. Зайцев Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной ботанике. - Москва: Наука, 1984. - 424 с.
7. Cuza P. Aprecierea rezistenței stejarului pufos (*Quercus pubescens* Wild.) și a stejarului pedunculat (*Q. robur* L.) la acțiunea temperaturilor înalte. // Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științele vieții. - 2008. - Nr.3 (306). P. 48-56.
8. Hendricks S.B., Taylorson R.B. Variation in germination and amino acid leakage of seeds with temperature related to membrane phase change // Plant Physiology. - 1975. - Vol.58. - P.7-11.
9. Murakami Y., Tsuyama M., Kobayashi A., Kodama H., Iba K. Trienoic fatty acids and plant tolerance of high temperature // Science. - 2000. - Vol.287. - P.476-479.

Prezentat la 04.02.2009