



Prirodno-matematički fakultet – Biologija

Seminarski rad

PREŽIVLJAVANJE BILJAKA U USLOVIMA PLAVLJENJA

Predmet: Ekofiziologija

Smjer: Ekologija

Mentor: Prof. dr Danka Caković

Student: Jelena Stožinić

Podgorica, Mart 2022.

PREŽIVLJAVANJE BILJAKA U USLOVIMA PLAVLJENJA

1.Uvod

Pri prekomjernoj količini vode u zemljištu tj. pri plavljenju ili podizanju nivoa podzemnih voda, osnovni problem je stvaranje anaerobnih uslova koji ne pogoduju funkcionisanju korijenovog sistema. Anaerobni uslovi javljaju se i u močvarnim, loše strukturiranim, teškim, glinovitim i sličnim zemljištima. Dobro strukturirana zemljišta imaju veliku poroznost, povoljan odnos makro i mikro pora što dobro utiče na snabdjevenost vodom i aeraciju tako da je životna aktivnost korijena tj. usvajanje mineralnih materije i vode kao i rast i razvoj, optimalna. Prisustvo kiseonika omogućava proces disanja i obezbjeđivanja potrebne energije. Pored kiseonika u zemljištu je važno i prisustvo CO₂ koji sa vodom daje ugljenu kiselinu koja povećava razlaganje mnogih minerala u vodi.

Korijen koji se razvija u slabo aerisanom zemljištu ima veći prečnik i više međucelijskih prostora ispunjenih vazduhom. Kod jakog nedostatka kiseonika, na primjer pri dužem plavljenju, dolazi do degeneracije korijena a ponekad i do negativnog geotropizma (rast korijena prema površini) i formiranja tzv. pneumatofora - korijenova za disanje. To su zapravo potporni korijenovi čiji djelovi izbijaju iz zemlje i prekriveni su lenticelama. U ovim uslovima dolazi i do značajnijeg smanjenja rasta korijena, naročito pri smanjenju koncentracije kiseonika ispod 15% u atmosferi zemljišta. Biljke koje su otporne na nedostatak kiseonika obrazuju nove korijenove sa unutrašnjim kanalom (aerenhim) u koji kiseonik ulazi iz nadzemnog djela. Neke biljke su prilagođene na povremeno plavljenje, a druge na dugotrajnije i mogu da imaju optimalni porast i u ovakvim uslovima. Takve biljke koriste kiseonik rastvoren u vodi (vrbe, topole, jasen, trske). Duže zadržavanje vode u zemljištu dovodi i do pogoršanja njegovih fizičkih osobina a često i do zaslanjivanja. Ovakvi uslovi mogu se poboljšati odvodnjavanjem, odgovarajućom obradom i korišćenjem organskih đubriva.

U plavnim zemljištima se, zbog velike količine vode, akumuliraju mnoga toksična jedinjenja koja izazivaju oštećenja biljka. Najčešće su: sulfidi, CO₂ i velike količine gvožđa i mangana. Pored njih, nakupljaju se i jedinjenja koja stvaraju same biljke, a to su: etanol, acetaldehid i cijandina jedinjenja. Anaerobni mikroorganizmi još dodaju i metan, etan, propilen, razne aldehide i ketone.



Slika br.1

2.Naučni rad br. 1

1.Uvod

Adaptacije životne istorije na poplave

Poplava utiče na širenje sjemena, klijavost, nicanje klijanaca, uspostavljanje i opstanak , takođe utiče i na rast i reprodukciju.Voda u manjoj mjeri utiče na širenje sjemena, dok vjetar je primarni način širenja sjemena u poplavnim područjima. Obale rijeka su uglavnom naseljene kratkovječnim spekulama, pokazujući strategije koje karakterišu brze stope obrtanja. Kada izvršimo poređenje dvije vrste *Chenopodium rubrum* (jednogodišnja) i *Rumex palustris* (dvogodišnja) govori nam da tokom kratkog perioda recesije vode između dvije poplave *Chenopodium rubrum* brzo završava svoj životni ciklus i proizvodi sjeme, koji uspijeva preživjeti sledeću poplavu.Dok vrsta *Rumex palustris* svoj opstanak uspijeva na sledeći način plavi u vegetativnom stanju, odlaže cvjetanje i proizvodnju sjemena za sledeću godinu.

2.Cilj

Kratkoročna metabolička adaptacija

Kada dolazi do poplava tada biljke se mogu oponašati tako što njihovo izlaganje korijena parcijalnim pritiscima koji utiču na kiseonik , samim tim ukazuju na nedostatak kiseonika koji je najvažniji u ograničavanju tokom plavljenja. Biljke u poplavljenim ravnica prikazuju niz mehanizama za opstanak privremeni bez kiseonika. Tada biljke se aklimatizuju da bi mogle tolerisati stres tokom relativno kratkog perioda.Posledica toga je da se kod viših biljaka proizvodnja ATP-a kroz aerobno disanje ne može nastaviti. Bitna stavka je da se glikoliza može odvijati tokom anoksije u biljci sve dok se stvoreni NADH može oksidovati u NAD. Jedna od tvrdnji je da je glavni put za ovo u višim biljkama etanolska fermentacija.Ovaj metabolički put omogućava reoksidovanje pirimidinski nukleotida to se dešava zbog nastanka glikolize.Tu imamo još proizvodnju ATP-a, iako je stopa generisanja mnogo sporija nego u uslovima sa potpunom aeracijom. Na molekularnom nivou nedostatak kiseonika indukuje proizvodnju skupa od približno 20 polipeptida, to su anaerobni stresni proteini(ASPS). Pri potpunom potapanju biljaka osvijetljenost je mala, što ozbiljno utiče na fotosintezu. Kod potopljenih kopnenih biljaka doći će do ograničenja upotreba ugljen-dioksida(CO₂), kao jedinog izvora ugljenika. Biljke koje su sposobne da vrše fotosintezu na niskom nivou CO₂ i da pri tome smanje brzinu disanja imaju veliku prednost npr: potopljene kopnene vrste: *Poa pratensis*, *Cardamine armara* i homofilne vodozemne vrste *Veronica beccabunga* i *Miosotis palustris* imaju stope fotosinteze veće od 3,5mg O₂ (gDV) H⁻ što im omogućava rast pod vodom. Stope fotosinteze u potopljenim listovima heterofilnih amfibijskih biljaka npr *Sparganium* prelaze 7,9mg O₂ (gDV) h. Smanjena fotosinteza kod homofilnih biljaka pri potapanju , manja prilagođenost kopnenih i vodozemnih biljaka ima za rezultat da dolazi do neadekvatnog snabdijevanja biljke ugljenim hidratima, što tim biljkama smanjuje šansu za preživljavanje na neki duži rok.

3. Materijali i metode

Dugoročne reakcije u korijenu

Mnoge biljke otporne na poplave su u stanju da razviju mehanizme izbjegavanja da bi preživjele dugotrajne poplave. Ove adaptacije se zasnivaju na brzim promjenama u fiziološkim procesima koje se često manifestuju promjenama u anatomskim i morfološkim karakteristikama. Nakon plavljenja početni efekti kod biljaka su u korjenovom sistemu. Najvažniji odgovor u korijenu na produžene periode plavljenja je formiranje aerenhima (prozračno tkivo) bilo kolapsom ćelije (lizigenija) ili povećanjem međućelijskih prostora koje ima za rezultat razdvajanja ćelija bez kolapsa (šizogenija). Lizogeni oblik posjeduju : *Nimphoides*, *Luronium*, *Littorella*, *Zea mays*, dok šizogenija se može naći u močvarnim biljkama kao što su : *Rumex palustris*, *Filipendula*.

Primarni bočni korijen većine kopnenih biljaka nisu u stanju da razviju efikasne adaptacije prema poplavama. Oni podlegnu tokom hipoksije i novi adventivni korijenovi će se razviti u roku od nekoliko dana u biljkama otpornim na poplave. Ovi korijenovi obično rastu na bazi izdanaka, hipokotilu i gornjem dijelu korijena i na čvorovima stabljike, uglavnom istražujući gornje bolje gazirane slojeve zemljišta. Aerenhim obezbeđuje međusobno povezani sistem vazdušnih kanala, omogućavajući difuziju ili ventilaciju gasova između biljnih organa. Ako djelovi biljaka izlaze iz vodene površine, kiseonik iz vazduha stiže do korijena i rizosfere.



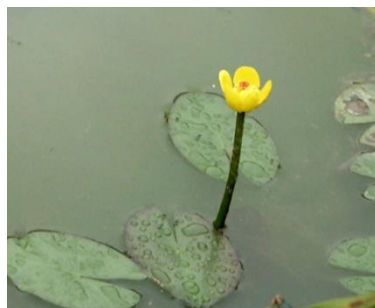
a) *Isoetes lacustris*

b) *Littorella uniflora*

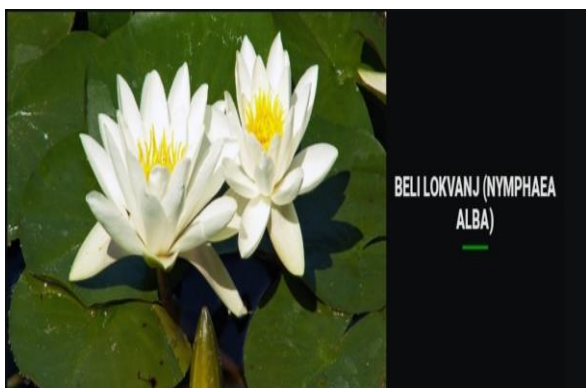
c) *Luronium natans*



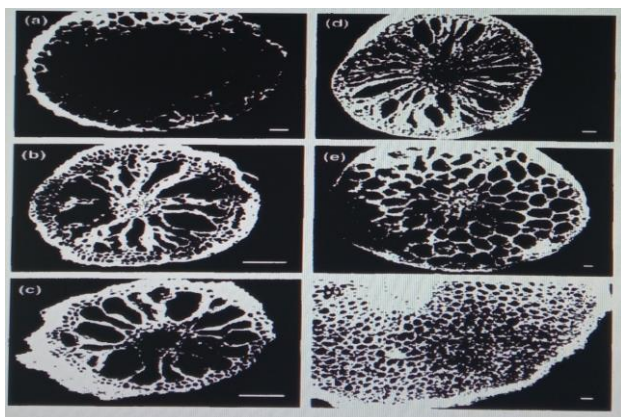
d) *Nymphoides peltata*



f) *Nuphar lutca*



e) *Nymphaea alba*

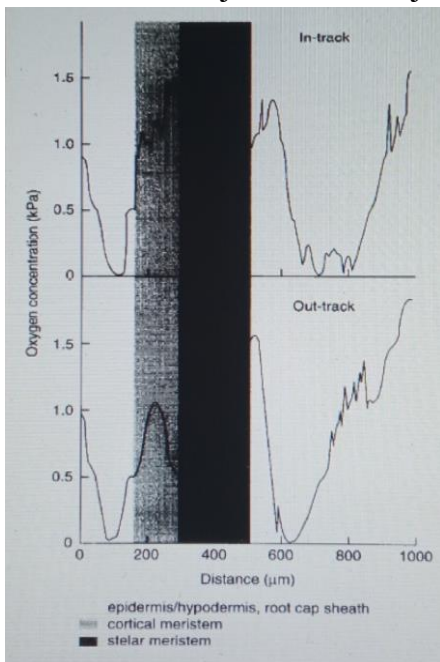


Slika br.2 Poprečni presjeci elektronskih skeniranja korijena šest vodenih makrofita.

- a) *Isoetes lacustris* b) *Littorela uniflora* c) *Luronium natans* d) *Nymphoides peltata*
 e) *Nymphaea alba* f) *Nuphar lutca*

4. Eksperimenti

Difuzija gasne faze se može mjeriti korišćenjem mikroelektroda za istraživanje uzdužne i radijalne distribucije kiseonika u korijenima koji rastu u stagnirajućim anaerobnim medijima.



Modeli koji se odnose na stvarna mjerenja su konstruisani za *Zea mays*. Kiseonik značajno varira sa rastojanjem duž korijena. Varijacije su u velikoj mjeri povezane sa kiseonikom, snagom snabdijevanja korteksa, koja opada sa rastojanjem od izdanka.

Eksperimentalni podaci su pokazali radijalni gubitak kiseonika, od korteksa do medijuma za korijenje, koncentracija kiseonika u rizosferi može se direktno mjeriti cilindričnom platinskom elektrodom.

Slika br.4 Mikroelektrodni polarografski radijalni profil kiseonika primarnog korijena kukuruza (*Zea mays*) (dužine približno 90mm) na apikalnoj poziciji unutar zone omotača kapice korijena peristema. Ovo se odnosi na pomjeranje elektrode od spoljašnje strane korijena ka centralnom dijelu korijena.

Dugoročne reakcije izdancima

Poplavljanje gornjih djelova biljke može izazvati promjene u fiziologiji i morfologiji, česte kao promjene u obrascima rasta. Kod nekih vrsta

nakon potapanja biljke dolazi do prestanka rasta, dok kod drugih vrsta dolazi do održavanja ili čak povećanja proizvodnje biomase. Izduženje izdanka koje obnavlja kontakt sa otvorenim vazduhom je adaptivna reakcija kod biljaka otpornih na poplave, njeno dejstvo je da ubrzava rast i stimuliše cvjetanje i samu proizvodnju sjemena. Pojačano izduživanje izdanka nakon poplave primijećeno je u mnogim poluvodenim rodovima kao što su *Polygonum*, *Ranunculus*, *Rumex*. Rod *Rumex* pruža odličan model za proučavanje reakcija adaptacije nakon poplava. Biljke sa suvih lokaliteta sve umiru nakon poplave, dok vrste *Rumex* iz staništa sklonih poplavama povećavaju stope izduženja mladih peteljki, lamina i internodija stabljika koje se spajaju u roku od nekoliko sati i preživljavaju poplavu.

Polygonum lapathifolium (jednogodišnja) biljka koju karakterišu brze početne stope rasta sa visokim udjelom biomase koja se izdvaja za izdanke, ne reaguje na poplave. Ova vrsta pokazuje kratku konkurentsku prednost u odnosu na višegodišnje biljke, što nam može djelimično objasniti sposobnost tih biljaka da zauzmu nestabilna, nedavno poremećena područja sa fluktuirajućim nivoima tla i vode.

Navedene studije proizvodnje biomase 20 močvarnih vrsta uzgajanih u poplavljenim, plodnim i kontrolnim uslovima otkrivaju jasno rangiranje kompetitivnog efekta koji ima tendenciju da bude konstantan u svim sredinama, ali je osjetljiv na vrstu okoline. Svaka vegetaciona zona u rasponu od obale rijeke do nepoplavljenih mjesta ima svoju karakterističnu grupu vrsta. Gornje granice su određene konkurentskom sposobnošću spekulata koje se pojavljuju zajedno, a donje granice njihovom otpornošću na plavljenje.

5.Rezultati

Hormonska regulacija adaptivnih odgovora

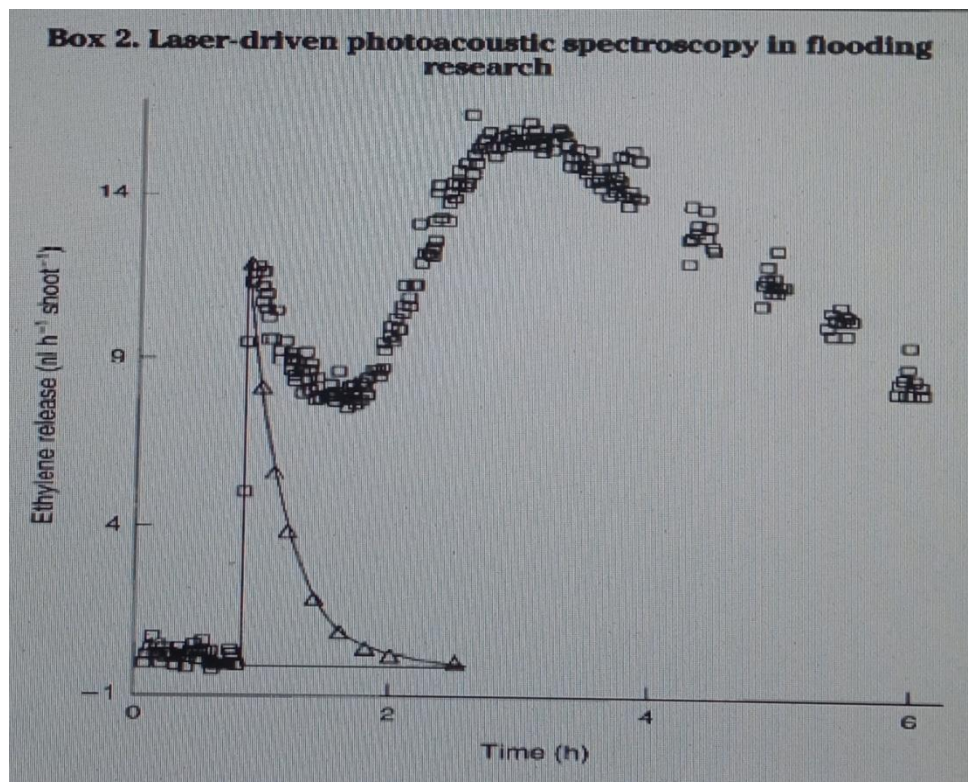
Fitohromi djeluju kao posrednici između signala i okoline odgovora biljke na ove stimulse. Zbog svoje gasovite prirode jednostavan 2-ugljenični hormon etilen je veoma pogodan da signalizira prelazak u okolinu biljke sa isušenih na prevlažne uslove.

Biosinteza etilena i transdukcija signala etilena, jednostavan fitohormon sa 2 ugljenika je među najbolje okarakterisanim regulatorima rasta i razvoja biljaka. Ima istaknutu ulogu u procesima kao što su klijanje, starenje, abscizija, sazrijevanje plodova i privikavanje biljaka na stres okoline. Tokom preživjelih uslova u rasponu od zalijevanja vode do potpunog potapanja, etilen učestvuje u stimulaciji ekstenzije izdanaka, programiranoj ćelijskoj smrti tokom formiranja aerenhima i pokretanju slučajnog formiranja korijena. Da bi se razotkrili mehanizmi prilagođavanja, dejstva dva enzima u biostatističkom putu etilena posebno određuju adaptivne procese u višim biljkama. Enzim ACC-sintaza igra ulogu u proizvodnji intermedijera 1-aminociklo propan-1-karboksilne kiseline. Konstitutivni enzim ACC-oksidaza katalizuje konverziju ACC u etilen. Faktori životne sredine koji utiču na ove enzime su ishrana i smanjeni nivoi kiseonika. Mutanti *annua* crucifer *Arabidopsis thaliana* su važno sredstvo u rešavanju puta transdukcije signala etilena. Jedan od ovih mutanata, koji se zove ETR1 mutant, je neosjetljiv na egzogeno primjenjen etilen. Produkt ETR1 gena, ETR1 protein, djeluje veoma dobro u lancu transdukcije etilena signala, možda kao sam receptor. Aminokiselinska sekvenca ETR1 ohova ima visoku sličnost sa grupom proteina koja je vrlo česta u organizmima ušnih organa, poznatim kao dvokomponentni sistem. Ovaj konzumacioni modul sadrži dva proteina: senzor koji sadrži metal dizajniran da osjeti etilen i regulator odgovora koji indirektno može uticati na ekspresiju gena.

U potopljenim biljkama, nivoi etilena se brzo povećavaju, jer je brzina difuzije ovog gasa u vodi približno 10 000 puta sporija nego u vazduhu i iz tog razloga se etilen teško metaboliše u većini tkiva. Sama brzina proizvodnje etilena je stimulirana parcijalnim pritiscima ispod okoline. Etilen podstiče formiranje lizigenog aerenhima u korteksu korijena, na primjer *Zea mays*.

Programiranoj smrti ćelija u korteksu korijena kukuruza prethodi degradacija ćelijskog zida, što je povezano sa povećanjem koncentracije celuloze.

Formiranje šizogenog aerenhima, karakterističnog za mnoge močvarne biljke nije pod kontrolom etilena. Ova tehnika omogućava mjerenje endogenih koncentracija etilena i stope proizvodnje etilena u živim biljkama, bez fizičkih perturbacija.



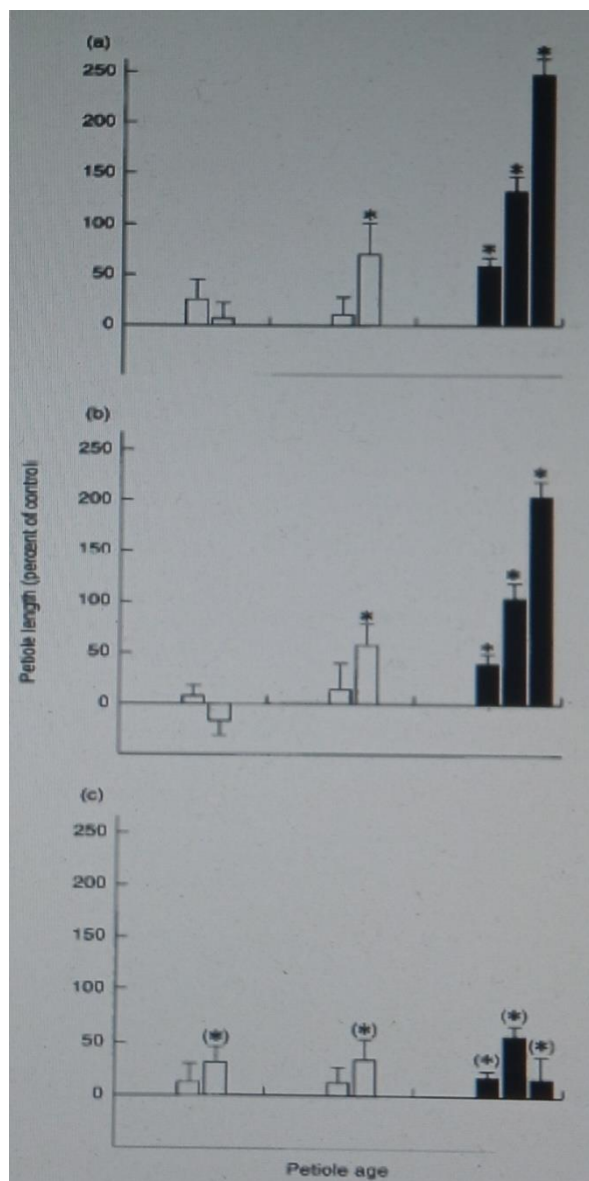
U okviru 2 je prikazano laserski pokretana fotoakustična spektroskopija

Fotoakustička spektroskopija je primijenjena da bi se precizno izmjerila koncentracija endogenog etilena u izbojcima *Rumex palustris* potopljenim tokom 24 sata. Potapanje izaziva zarobljavanje etilena zbog njegove spore stope difuzije u vodi, nakon de-subnergencije, akumulirani etilen će brzo difundovati u spoljašnji vazduh zbog veoma strmog gradijenta koncentracije. Potapanje izdanka *Rumex palustris* je dovelo do dva pika oslobađanja etilena, kao što je prikazano na slici.

Prvi pik predstavlja endogenu koncentraciju i odgovara etilenu zarobljenom tokom perioda plavljenja. Zasječena površina rep rosonto othylono koncentracija od 7,9. Značaj ove koncentracije je etilena je ubrzan rast biljaka kako bi izašle iznad površine vode.

Drugi vrhunac je uzorkovan povećanom biosintezom etilena izazvanom de-potopljenjem, ovaj eksta etilen još više povećava visinu izdanaka na otvorenom, što se činilo da ima pozitivnu korelaciju sa proizvodnjom sjemena.

Oba vrha pružaju informacije o tome u kojoj mjeri su regulisana stopa proizvodnje endogenog etilena i koncentracija. Važno je da u bliskoj budućnosti proširimo svoja saznanja o regulaciji etilona oonoantrotiono in planto jer, u velikoj mjeri, ekonomija etilena određuje šanse za opstanak biljaka u poplavljenim područjima.



Prikazana je starost peteljki: Slika br.5 Dužina peteljki *Rumex acetosa* (bijele pruge), *Rumex crispus* (osjenčene pruge), *Rumex palustris* (crne pruge).

Nakon a) potapanja, b) izlaganja gasnoj smješi etilen-vazduh (0,5Pa), c) potapanja u rastvor srebrenog nitrata, u labaratorijskim uslovima, izraženo kao procenti kontrola uzgojenih u arr. Zvezdica predstavlja vrijednosti koje se značajno razlikuju od kontrolnog nivoa. Zvezdice u zagrada predstavljaju vrijednosti koje se značajno razlikuju od vrijednosti potapanja.

Etilen je ključni hormon u pokretanju pojačanog izduživanja listova, peteljki, internodija, koleoptila i mezokotila u potopljenim uslovima. Za određene ekotipove plutajućeg pirinča zabilježene su stope rasta od 25cm u 24 sata, što može dovesti do dužine biljke od skoro 7m. Usklađeno dejstvo niskog kiseonika, etilena, giberelina i moguće apscizinske kiseline reguliše brz rast potopljenih stabljika kod ove vrste. Predložen je mehanizam za izduživanje peteljki vrsta *Rumex species*.

Zajedno etilen i auksin igraju važnu ulogu u formiranju adventivnih korjenova. Za razliku od eksperimenata sa reznicama, nije pronađena akumulacija endogenog auksina u preplavljenim intaktilnim biljkama *Rumex*-a.

Granični nivoi auksina su od suštinskog značaja za indukciju novih korijena, a nedavni

eksperimenti snažno pokazuju da etilen senzibilizira tkivo koje formira korijen na auksin. Skringing hormonske regulacije adaptivnih odgovora u drugim vrstama poplavne ravnice je sledeći korak u istraživanju poplava. Ovo se dešava u različitim zonama. Ovaj postupak će takođe potvrditi upotrebu modelnih vrsta u ekologiji biljaka.

6.Zaključak

Buduća istraživanja

Povećani uvid u proces koji djeluju u biljnim zajednicama u promjenljivim hidrološkim uslovima imaće vrijedne primjene. Mnoga područja širom svijeta trpe katastrofalne poplave, a obnova oštećenih poplavnih ravnica i poribljavanje rijeka, pejzaža biljaka otpornim na poplave su teme aktivnog istraživanja. Poznavanje adaptivnih odgovora pojedinih biljaka neophodno je za razumijevanje procesa na nivou vegetacije.

Mnoge fiziološke i morfološke reakcije u biljka su već poznate, ali mnogo se mora uraditi na adaptivnim mehanizmima na nivou ćelije.

Hormonska regulacija igra važnu ulogu u reakciji adaptacije i u bliskoj budućnosti možemo očekivati napredak u razumijevanju kombinovanog djelovanja hormona.

Fotoakustička tehnika je moćan novi instrument za mjerenje reakcija organizama koji žive pod stresom životne sredine. Malo se zna o lancu transdukcije signala nakon poplava i o genetskoj varijaciji između biljnih populacija koje su izložene dugotrajnim poplavama. Molekularno biološke tehnike će se sve više koristiti za povećanje uvida u ove procese.

Reference

- 1 Brown, V.K. (1992) Plant succession and life history strategy, *Trends Ecol. Evol.* 7, 143-144
- 2 Mulamoottil, G., Warner, B.G. and McBean, E.A., eds (1996) *Wetlands: Environmental Gradients, Buffers and Boundaries*, Lewis-CRC Press
- 3 Roberts, J. and Ludwig, J.A. (1991) Riparian vegetation along current-exposure gradients in floodplain wetlands of the river Murray, Australia, *J. Ecol.* 79,117-127
- 4 Nilsson, C. et al. (1991) Long-term effects of river regulation on river margin vegetation, *J. Appl. Biol.* 28,963-987
- 5 Schnitzler, A., Carbiener, R. and Tremolières, M. (1992) Ecological segregation between closely related species in the flooded forests of the upper Rhine river, *New Phytol.* 121,293-301
- 6 Hills, J.M. et al. (1994) A method for classifying European riverine wetland ecosystems using functional vegetation groups, *Funct. Ecol.* 8,242-252
- 7 Engelaar, W.M.H.G. et al. (1993) Root porosities and radial oxygen losses of *Rumex* and *Plantago* species as influenced by soil pore diameter and soil aeration, *New Phytol.* 125,565-574
- 8 Blom, C.W.P.M. et al. (1994) Physiological ecology of riverside species: adaptive responses of plants to submergence, *Ann. Bot.* 74,253-263
- 9 Grace, J.B. (1995) In search of the Holy Grail: explanations for the coexistence of plant species, *Trends Ecol. Evol.* 10,263-264
- 10 Blom, C.W.P.M. et al. (1990) Adaptations to flooding in plants from river areas, *Aquat. Bot.* 38,29-47

3.Naučni rad br. 2

1.Uvod

Strategije preživljavanja ekološkog stresa zimi mogu se razlikovati od onih koje obezbeđuju zaštitu od istog stresa kada se dogodi ljeti. Tokom vegetacije, mehanizmi za bjekstvo od stresa imaju tendenciju da prevladavaju, pošto su periodi nedaća uglavnom kratki. U zimskom periodu postoji velika vjerovatnoća da će nepovoljni uslovi životne sredine potrajati u dužem vremenskom periodu i posljedično, opstanak zavisi od tolerancije.

2.Cilj

Ovaj rad napisan je sa ciljem utvrđivanja znanja o fiziološkim i ekološkim prilagođenostima biljaka na stresne uslove plavljenja i anoksiju.

3. MATERIJALI I METODE

Sezonske razlike u odgovorima biljaka na poplave i anoksiju R.M.M. Crawford

Okolnosti pod kojima se ishrana dešava razlikuju se uzavisnosti od sezone. U toplijim uslovima vegetacije povećana metabolička potražnja za kiseonikom čini nedostatak kiseonika akutnijim.



Slika br.1 Sadnice slanutka (*Cicer arietinum*) koje su se opravljale na vazduhu 7 dana nakon 48h inkubacije u anaerobičnim inkubatoru. Biljke sa lijeve strane bile su u maloj posudi unutar inkubature gdje je gas cirkulisan unutar veće zapremine inkubatora. Biljke sa desne strane su držane u identičnom kontejneru bez ikakve cirkulacije što je omogućilo akumulaciju gasova koji su prodrli anaerobno (fotografija Crawford et al 1987).

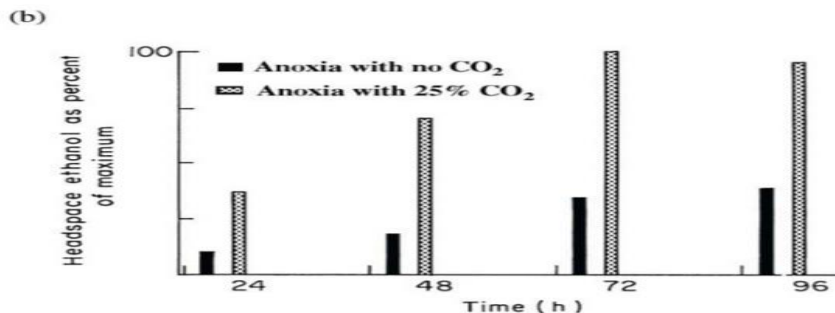
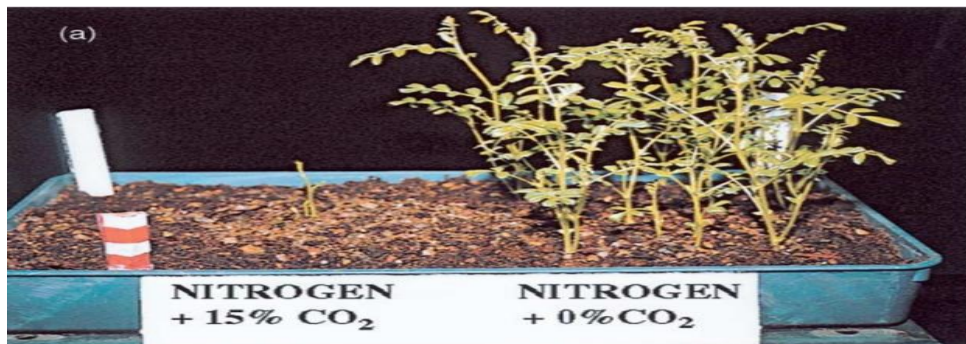
Područja sklona tegularima i produženim zimskim poplavama postaju poželjna staništa za karakterističnu močvarnu floru gdje monokotiledoni obično nadmašuju vrste dikotiledona. Samo nekoliko specijalizovanih drvenastih biljaka može da izdrži nepovoljnu sezonu u kojoj su im krovovi, a često i donji djelovi debla pod vodom.

Opasnosti od poplava za klijanje sjemena u proljeće

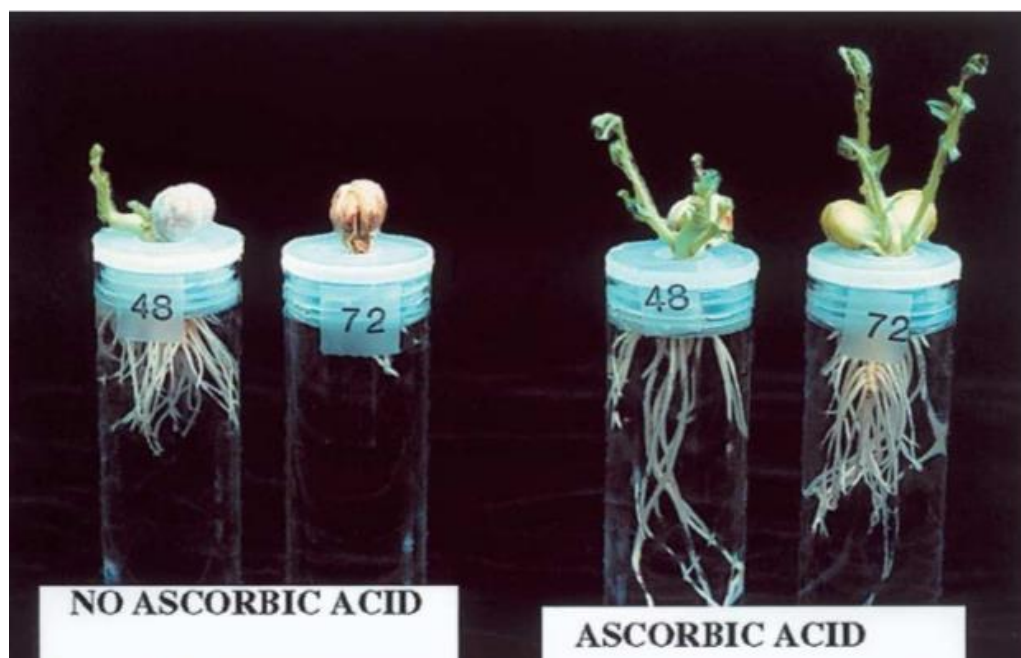
Proljeće je sezona kada imamo neizvjesnost za klijanje sjemena. Prilikom porasta temperatura prije nego što prođu opasnosti od zimskih poplava, period prisilne prinude kiseonika može biti poguban za nicanje na polju.

Za mnoge biljke sa krupnim sjemenom kao što je kukuruz, a posebno grašak, zemljišta zasićena vodom u vrijeme klijanja su posebno opasna. Nepropusnost omotača sjemena olakšava da većina sjemena prolazi kroz period prirode anaerobioze.

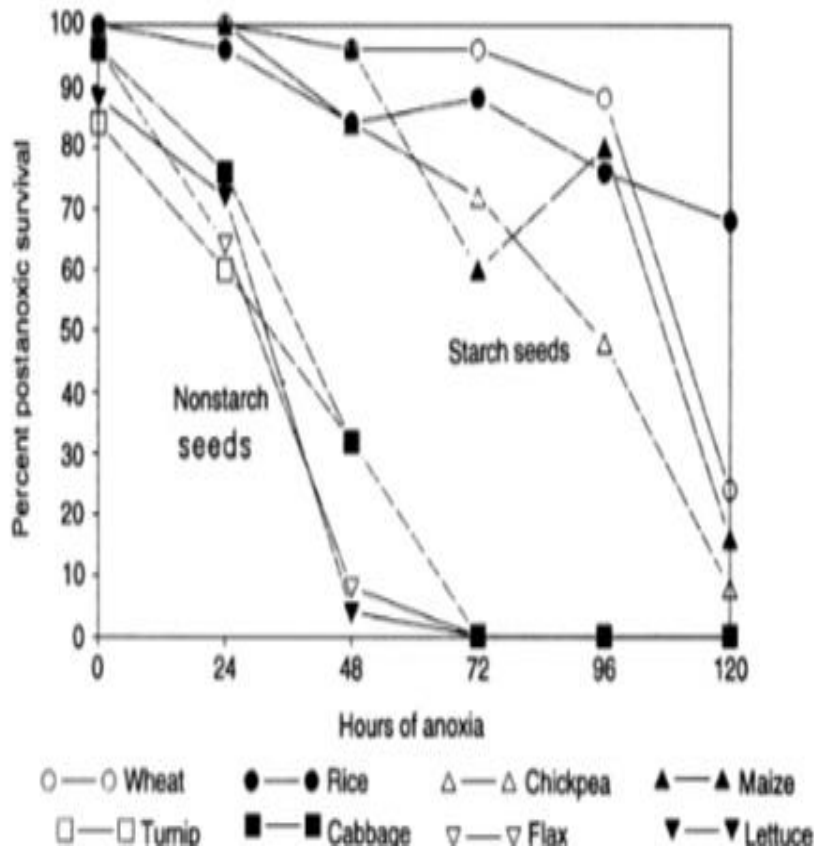
- Kada se klijuće sjeme slanutka stavi u kontrolisane anaerobne uslove, moguće je uočiti koji aspekti anoksije ometaju rast i preživljavanje. Cirkulacija anaerobnične atmosfere može biti dovoljna da produži život sjemena koje klija pod anoksijom.(slika br. 1)
- Promjena atmosfere u anaerobnom inkubatoru sugerise da su kod vrsta osjetljivih na anoksiju štetni efekti nedostatka kiseonika pogoršani visokim koncentracijama ugljen-dioksida(slika br.2)
- Izvjestan oporavak je moguć kada se sadnice tretiraju askorbatom prije nego što se vrate u vazduh(slika br.3)
- Lipidi isto mogu uticati energetski na sjeme. Ugljeni hidrati najčešća rezerva energije u sjemenu velike veličine i brzog klijanja. Lipidno disanje troši više kiseonika nego ugljeni hidrati u sjemenu koje je preplavljeno ili nekim drugim putem lišeno kiseonika, metabolizam će biti podvrgnut većoj prepreci zbog nedostatka kiseonika sa posljedičnim gubitkom vitalnosti.(slika br.4)



Slika br.2 Leblebija (*Cicer arietinum*) nakon različitih tretmana u anaerobnom inkubatoru. Biljke sa lijeve strane ne uspijeva da se oporave nakon inkubacije u prisustvu 15% ugljenik-dioksida (fotografija R.M.M. Crawford). Na desnoj strani je sav karbon dioksid uklonjen iz anaerobne atmosfere kalijum hidroksidom(h).



Slika br.3 Askorbinske kiseline koja djeluje kao antidont za anoksične povrede. Sadnice salanutka sa desne strane su prebačene u 10mmol/L rastvor askorbinske kiseline (Ph5,4) koji je uzet iz anaerobnog inkubatora posle 48h i 72h. Antioksidantima svojstva askorbinske kiseline ograničena na 48h, minimalizuju povredu i potpomognuti oporavak.



Slika br.4 Preživljavanje sadnica (n=25) podložnih različitim dužinama anaerobne inkubacije. Obratite pažnju na veću toleranciju anoksije kod sjemena koje sadrže skrob.(podaci iz Crawford 1992).

Poplave mogu prekinuti mirovanje sjemena kod jednogodišnjih biljaka močvarnih biljaka, koje lako klijavu kada se nivo vode spusti.

Studije o sjemenu ljetnjih močvarnih vrsta *Ammannia coccinea* i *Rotala ramosior* su otkrile da je sjeme obje vrste generalno pokazalo poboljšanu klijavost u rasponu temperatura kada je u julu izvađeno iz poplavljenog zemljišta nego sjeme koje nije bilo poplavljeno.

Uzorci sjemena uzetih sa priobalnih lokacija u Finskoj takođe su pokazali da je poplava praćena povećanjem klijavosti.

Imamo značajno povećan broj klijavih sadnica. Izdvojićemo jednu vrstu *Typhla latifolia* koja je veoma tolerantna na anoksiju, nakon što je došlo do velikog plavljenja u tom periodu klijavost se povećala mnogo više nego kad nisu bile poplavljene.

Period proljeća u hladnim klimatskim uslovima klijanje se može prekinuti kada se početak proljeća preokrene sa kratkim povratkom u zimu sa nepovoljnim temperaturama, kao i sa poplavama. Poplave dovode do povrede sjemena koje dobro upija kada je u kontaktu sa slobodnom vodom.

Studije na nizu sorti kravljeg graška (*Vigna unguiculata*) otkrile su da sve one sa sjemenima koje imaju potpuno ili djelimično kremaste ili bež teksture brže upijaju od sorti sa tamnijim teksturama. Mogući uzrok povrede kao rezultat brže inhibicije je metabolički.

Potapanje sjemena Francuskog pasulja (*Phaseolus vulgaris*) u vodu zasićenu vazduhom smanjilo je uzimanje kiseonika u isječenim osovinama i kotiledona i rezultiralo je nivoom ATP-a. Šta više namakanje proizvedenog sjemena proizvelo je etanol brzinom koja je bila pet puta veća od one kod nenatopljenog kontrolnog sjemena, kupanja tokom perioda ljuštenja i posle namakanja.

Zajedno sa niskom stopom potrošnje kiseonika od strane sjemena povrijeđenog natapanjem, navodi da je povreda od namakanja povezana sa nemogućnošću prelaska sa anaerobnog na aerobni režim disanja. Nizak nivo ATP-a je vjerovatno bio posledica ubrzane i produžene fermentacije. Etil celulozom se smanjuje (usporava) upijanje vode i poboljšava klijanje posebno sa srednjim i malim sjemenima.

Klijanje tropskog sjemena u poplavljenim uslovima

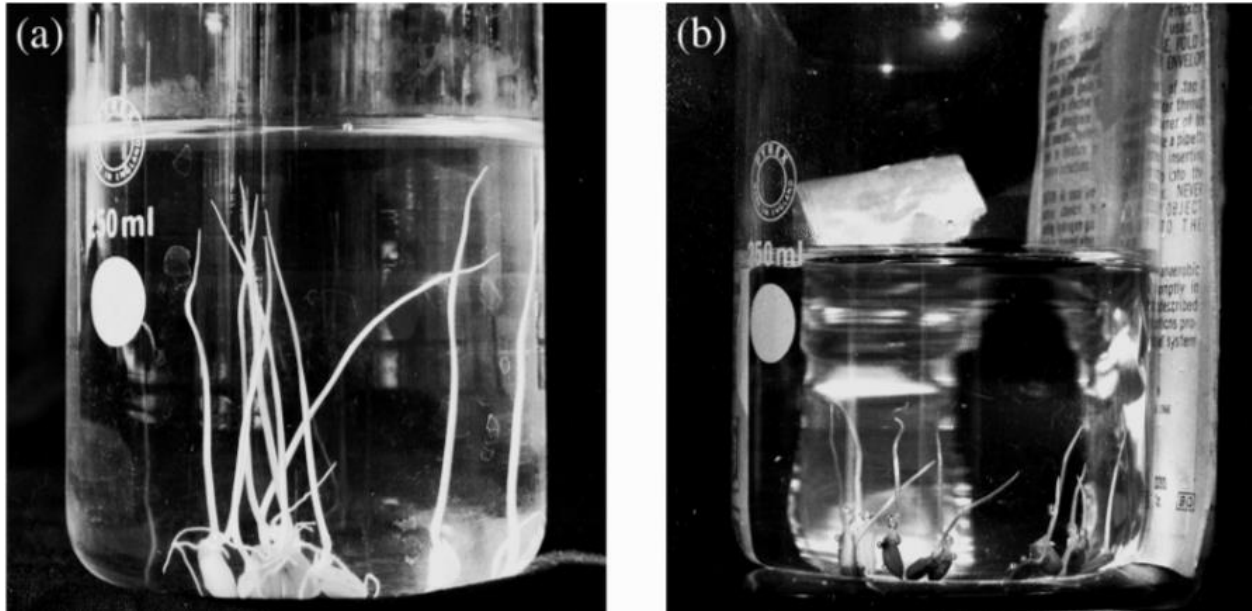
Ključni parametri su: kapacitet fermentacije, nivoi ATP-a, ukupnih adenilata.

Najveća otpornost na anoksiju povezana je sa povećanom dostupnošću slobodnih šećera, dehidrogenaze i odgovarajući nivo mRNK, efikasnije uklanjanje etanola i laktata i viši nivoi adenilata kod otpornih vrsta. Smrtonosna posledica je izazvana anoksijom bila je oslobađanje slobodnih masnih kiselina u velikom obimu. Nasuprot tome, hidroliza lipida nije se desila kod najotpornijih vrsta *Sesbania virgata*. U ovoj studiji je bilo jasno da ova vrsta prilagođena poplavama ima dovoljne rezerve ugljenih hidrata i sredstava za njihovo brzo iskorišćavanje. Sjeme je stoga u stanju da postigne klijanje čak i kada je spoljno snabdijevanje kiseonikom ograničeno.

4.EKSPERIMENTI

Pirinač

Pirinač ima tolerantnost na poplave sa promjenljivim kapacitetom da preživi anoksiju. Sposobnost da klija u potpunom odsustvu kiseonika i raste u stajaćoj vodi.



Slika br. 5 Ova tolerancija anoksije je takođe dovoljna za nicanje koleoptila, ali ne dozvoljava značajan rast korijena. Dalji razvoj se ne odvija pod potpunom anoksijom.

Jednom kad se koleoptil pojavi mora postojati pristup gaziranoj vodi u suprotnom svako produženje anoksije brzo izaziva epinastiju i smrt.

Ove studije su otkrile da je rast koleoptila pirinča i ovsa bio inhibiran etanolom koji egzogeno primijenjen u koncentracijama većim od 200 i 30 mmol/L. Na koleoptilu pirinča nije pokazana toksičnost.

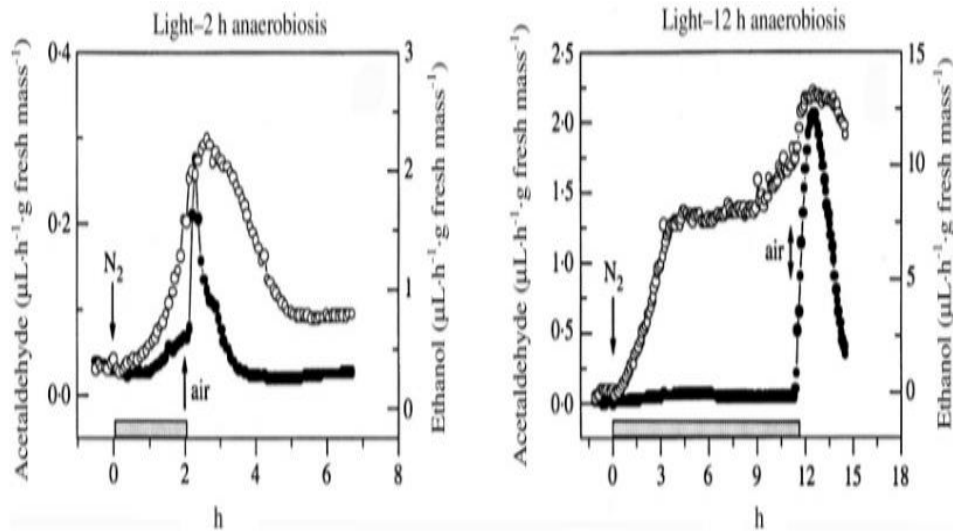
Na slici br.5 prikazana je intolerancija na anoksiju kod pirinča.

Sjeme pirinča koje klija u mraku

- a) Pod vodom koja je otvorena za atmosferu
- b) Pod de-aerisanom vodom i stavljena je pod anoksiju u anaerobnu teglu.
Obratite pažnju na nedostatak razvoja korijena i epinastiju kod koleoptila.

Postoji debata o tome da li se povreda od potapanja može direktno pripisati nedostatku kiseonika. Poređenje između sorti su ukazala na štetnu neravnotežu između proizvodnje i konzumiranja asimilata koji izaziva energetska krizu koja se pogoršava jako pojačanim proširenjem listova i stvaranje listova kao rezultat odgovora posredovanih etilenom na poplave.

Povećana je proizvodnja alkoholne fermentacije kao markeri za anaerobiozu tkiva koristeći osjetljivu lasersku spektroskopiju, uspjelo je da osjeti etanol i acetaldehid do 3 i 0,1nL/L. Ova studija je također pokazala da je emisija acetaldehida počela u roku od 0,5h od nametanja okruženja bez kiseonika u gasnoj fazi, nakon čega je uslijedila akumulacija etanola. Kako je anaerobni tretman napredovao, proizvodnja etanola se povećavala i premašila emisiju acetaldehida koji je imao tendenciju da se stabilizuje nakon 3h. Pri ponovnom ulasku vazduha primijećen je oštar postanaerobni vrhunac proizvodnje acetaldehida. Utvrđeno je da je ovo dijagnostika prethodne anoksične epizode od 0,5h ili više.

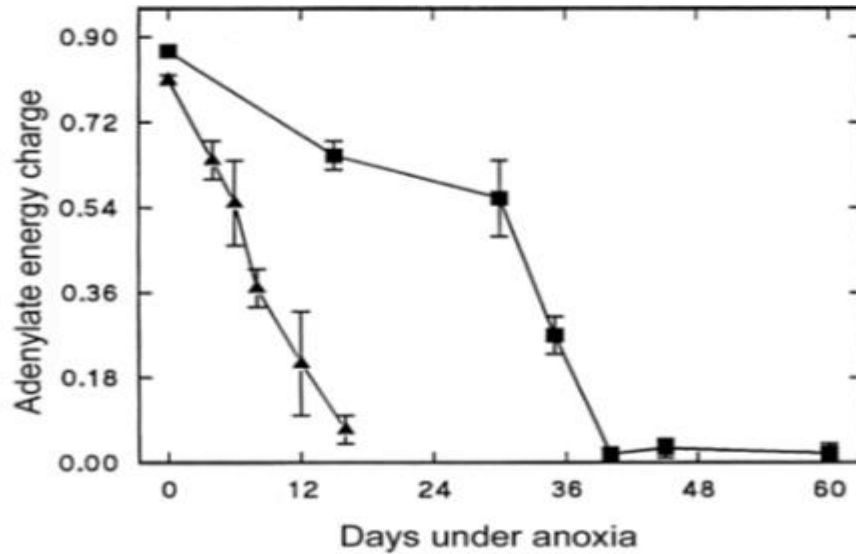


Slika br.6 Kada je anaerobioza produžena na 12h, veličina postanaerobnog izbijanja acetalaldehyda se povećava. Može se očekivati da će se ova oksidacija etanola u acetaldehid lako odvijati, kao u post anoksičnoj situaciji. Katalaza i vodonik peroksid će dovesti do veoma brzog produkcija acetaldehida iz akumuliranog etanola. Svjetlost može da smanji fermentaciju, ali kada je poplava praćena visokim nivoom zamućenosti u poplavnoj vodi, opasnost od anaerobnih povreda je uvijek moguća, posebno ako se metabolička aktivnost ubrzava da bi se prilagodila reakcijama rasta.

Na graficima konkretno možemo vidjeti prikaz :

Efekat 2 ili 12h anaerobnog tretmana i naknadnog oslobađanja od anaerobioze na stope emisije acetaldehida (popunjeni krugovi) i etanola (otvoreni krugovi) u sadnicama pirinča detektovane laserskom akustikom. Biljke su bile izložene svjetlosti tokom anaerobnog tretmana (sive trake) i prilikom vraćanja na vazduh. (Iz Boamfa et al. 2003, reprodukovano uz dozvolu Ann. Bot. Vol. 91str. 285, e 2003 Academic Press Limited.)

Preovladavaju mehanizmi izazvani stresom, jer postoji vjerovatnoća da će period nevolje biti kratkotrajni. Npr. Kod zelene salate, nivoi energetskog naboja (slika br.9) padaju čak 0,2-0,3 za nekoliko minuta nakon čega nema oporavka i smrt slijedi brzo.

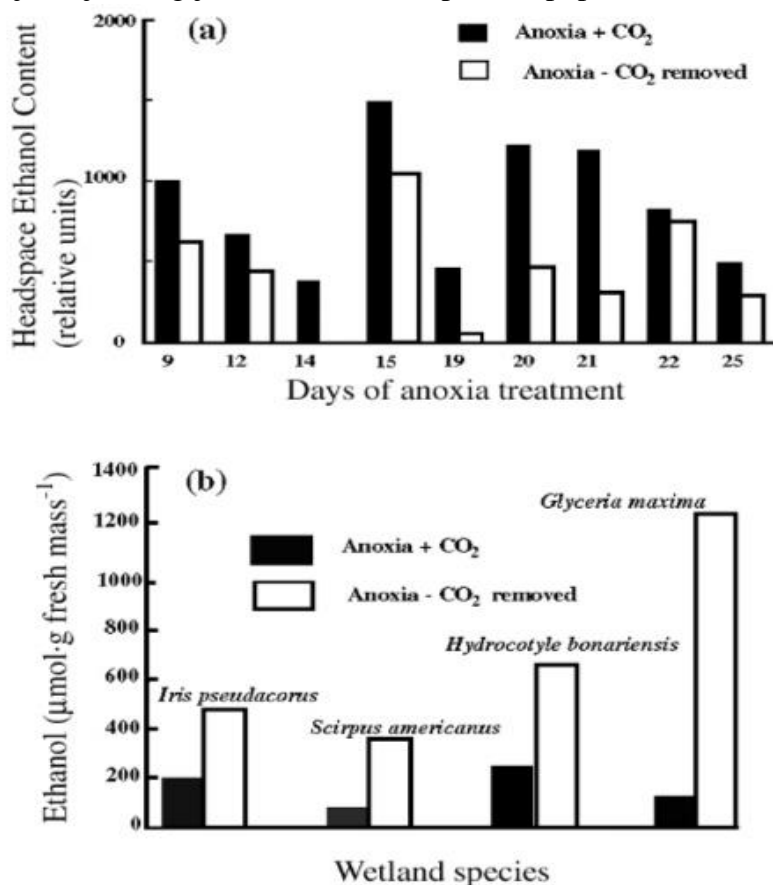


Slika br.9

Energetski naboj adenilata *Iris pseudacorus* (T) i *Iris germanica* (■) u materijalu jezgra rizoma inkubiranom u anoksiji u mraku na 20 °C. Adenilat energetski naboj = $(ATP + 0,5ADP)/(ATP + ADP + AMP)$. (Iz Hanhijarvi i Fagerstedt 1995, reprodukovano uz dozvolu Phisiol. Plant., Vol. 93, str. 496, © 1995 Munksgaard International Publishers Ltd

5.REZULTATI

Poznato je gdje ubrzanje glikolize tokom vegetacije može poslužiti za održavanje adekvatnog snabdijevanja energijom tokom kratkih perioda poplava.



Slika br.7 Uticaj visokih koncentracija ugljen-dioksida na brzinu proizvodnje etanola kod rizomatoznih vrsta (n=25)

7a) Povećanje etanola koji se može detektovati iz glave kao rezultat prisustva visokih koncentracija ugljen-dioksida u travi (*Elitrigia repens*), tipičnoj vrsti za suvo zemljište.

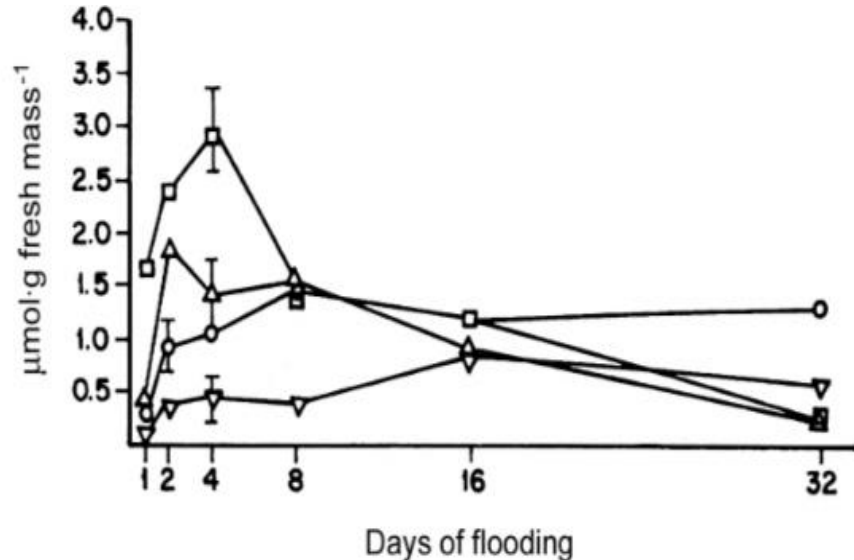
7b) Smanjenje etanola koji se može detektovati u prostoru kao rezultat prisustva visokih koncentracija ugljen-dioksida u vrstama vodozemaca (podaci iz Crawford 1089). t2000

Ukoliko se poplave produže, istaknute u ranim stadijumima o fiziologiji tolerancije na poplave. (Crawford 1983. 1989)

Npr: Vrsta koja je prikazana na slici 7a *Elitrigia repens*, *Lupinus luteus*, *Avena sativa*, *Hordeum vulgare*, *Phleum pratense*, *Lolium multiflorum*.

Nasuprot tome, odgovor na visoke koncentracije CO u prezimljujućim rizomima vodozemnih biljaka u močvarnom području je smanjenje ili nikakva promjena u brzini glikoliza.(prikazano na slici 7b)

U poljskim uslovima često je teško odrediti u kojoj mjeri je korijenje biljaka otpornih na poplave podložno nedostatku kiseonika. Svi vrhovi korijena sadrže vrlo malo slobodnog kiseonika zbog visoke stope potrošnje, a svako smanjenje dostupnosti kiseonika, kao i dovođenje do viših nivoa etanola proširiće region u kome se etanol može detektovati.



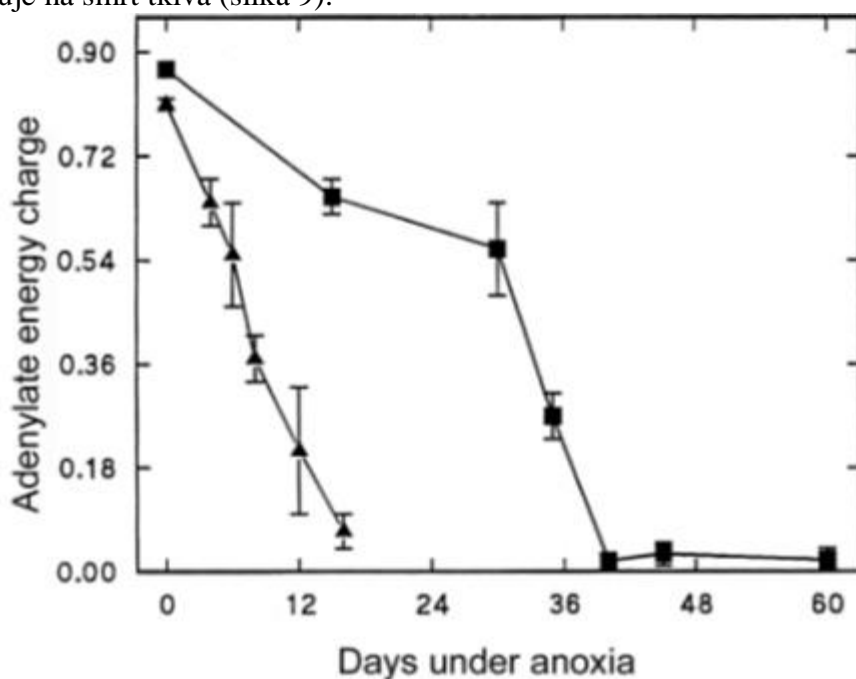
Slika br.8 Poplava može u početku da izazove nedostatak kiseonika, ali razoj adventivnih korjenova i aerenhima će ublažiti ovo stanje i brzo obnoviti adventivnu zalihu barem korijenova bliže površini zemljišta.

Eksperimentalne studije u kojima se organi koji prezimljuju, umjesto da budu samo potopljeni u vodu, inkubiraju u potpuno anoksičnom okruženju, pokazala su da mnoge vodozemne vrste mogu preživjeti mjesec potpune anoksije (Barclai i Crawford 1982; Braendle i Crawford 1999). Neke od ovih vrsta su u stanju da nastave sa rastom izdanaka u proljeće iz dubine u anaerobnom blatu bez potrebe za dovodom vazduha, dok druge čekaju da se poplavne vode slegnu prije nego što nastave sa rastom. Vrste koje izlaze iz dubine pod potpunom anoksijom (npr. *Schoenoplectus lacustris*, *Tipha latifolia*) sposobne su da održe održivi izdanak u uslovima totalne anoksije nekoliko nedelja, što je veća demonstracija anaerobne tolerancije od one koja se vidi u relativno kratkom živi pirinač koleoptil. Za razliku od ubrzanja glikolize koje je primijećeno kod biljaka koje su kratkotrajno poplavljene tokom vegetacije, vrste koje prezimljuju, ako su tolerantne na produženu anoksiju, smanjuju svoj metabolizam i na taj način smanjuju rizik od iscrpljivanja, rezerve ugljenih hidrata i nagomilavanje toksičnih metabolita. U višestrukim rizomima prezimljavajućih rizoma šiblja (*Schoenoplectus lacustris*) energetski naboj brzo opada tokom prva 24h anoksije, a zatim se oporavlja i stabilizuje na oko 0,5. U ljeto kada je metabolizam rizoma aktivniji, još uvek postoji početni pad nametanja anoksije, ali se oporavak nastavlja tokom produžene anaerobne inkubacije i vraća se na vrijednosti od 0,7–0,8 što je približno vrijednosti koje preovlađuju tokom aerobni metabolizam (Braendle 1991). Moguće je čak i da prezimljene netaknute biljke prežive potpunu anoksiju u mraku do 75 dana kao kod *Acorus calamus* 'Sweet Flag' i do 60 dana sa *Iris pseudacorus* 'Yellow Flag', a zatim izađu u vazduh i nastavi normalnu metaboličku aktivnost (tabela 1).

Table 1. Survival of leaves under anoxia in *Acorus calamus* and *Iris pseudacorus* under total anoxia (data from Schlüter and Crawford 2001).

Species	% survival after 28 d anoxia*	Max. survival of leaves (days of anoxia)		
		Leaves that overwinter	Leaves during the growing season	
			Old leaves	Young leaves
<i>Acorus calamus</i>	96	75	40	50
<i>Iris pseudacorus</i>	86	60	20	35

U Finskoj je napravljeno poređenje nivoa ugljenih hidrata tokom zime u rizomima *Iris pseudacorus* na terenu, zajedno sa procjenom energetskog naboja adenilata (AEC) (Hanhijarvi i Fagerstedt 1994). Odabrano područje je prirodno bilo poplavljeno od sredine decembra do kraja maja i vlažno do kraja perioda istraživanja. Sadržaj glukoze u rizomi su pali sa 10 mg/g svježe težine u jesen na 5 mg/g svježe težine u proljeće. Ukupni redukujući šećeri su se povećali zimi, dok je količina nereducirajućih šećera porasla tokom rane jeseni i smanjila se tokom zime i proljeća. Nereducirajuće rezerve šećera nisu iscrpljene u proljeće kada je rast nastavljen. Eksperimentalna anaerobna inkubacija je takođe otkrila da je energetski naboj adenilata ostao relativno visok tokom 30 dana (blizu 0,6 ili više), a zatim je brzo opao, što ukazuje na smrt tkiva (slika 9).



Slika br.9

Energetski naboj adenilata *Iris pseudacorus* (△) i *Iris germanica* (■) u materijalu jezgra rizoma inkubiranom u anoksiji u mraku na 20 °C. Adenilat energetski naboj = $(ATP + 0,5ADP)/(ATP + ADP + AMP)$. (Iz Hanhijarvi i Fagerstedt 1995, reprodukovano uz dozvolu Phisiol. Plant., Vol. 93, str. 496, © 1995 Munksgaard International Publishers Ltd

Sadržaj ugljenih hidrata je takođe upoređen između *Iris pseudacorus* otporne na anoksiju i *Iris germanica* otporne na anoksiju (Hanhijarvi i Fagerstedt 1995). Ovo je pokazalo da dok se sadržaj glukoze u rizomima *Iris pseudacorus* postepeno smanjivao tokom prvih 30 dana pod anoksijom, kod rizoma *Iris germanica* promjene su bile dramatičnije, a vremenska skala znatno kraća.

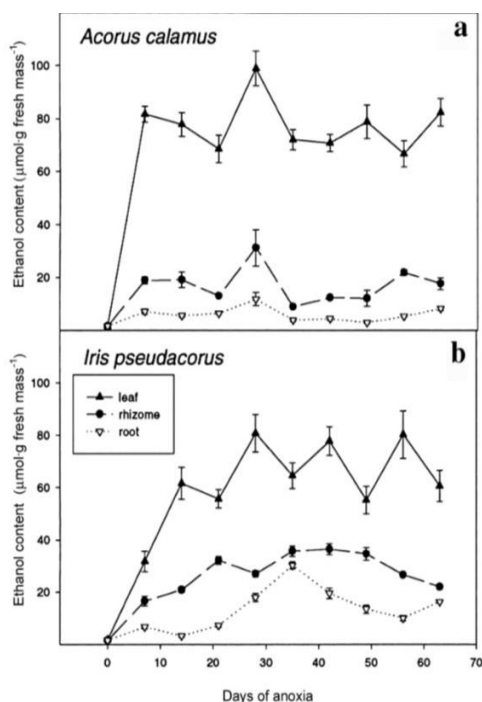
Nereducirajući sadržaj šećera u rizomima *Iris pseudacorus* se brzo smanjivao tokom prvih 15 dana pod nedostatkom kiseonika, a zatim se ponovo povećavao, do skoro početnih nivoa na 35 dana. Međutim, kod netolerantne *Iris germanica* količina nereducirajućih šećera se postepeno smanjivala tokom cijele anoksične inkubacije.

Slična studija nivoa AEC u *Acrocyus calamus* držan pod anoksijom do 16 dana (Joli i Braendle 1995) pokazao je značajan pad na 0,50 zajedno sa smanjenjem ukupnih nukleotida, ali se zatim vratio u vazduhu na 0,8. Razlika između *Iris pseudacorus* i gore pomenuti *Schoenoplectus lacustris* u potrošnji ugljenih hidrata je vjerovatno zbog činjenice da *Schoenoplectus lacustris* prirodno raste u mnogo dubljim vodama od *Iris pseudacorus*, a samim tim i njegove zalihe ugljenih hidrata padaju na veoma nizak nivo tokom proljećnog perioda rasta, za razliku od *Iris pseudacorus* koji u ovoj fazi još uvijek ima obilne rezerve ugljenih hidrata (Steinmann i Braendle 1984; Hanhijarvi i Fagerstedt 1994).

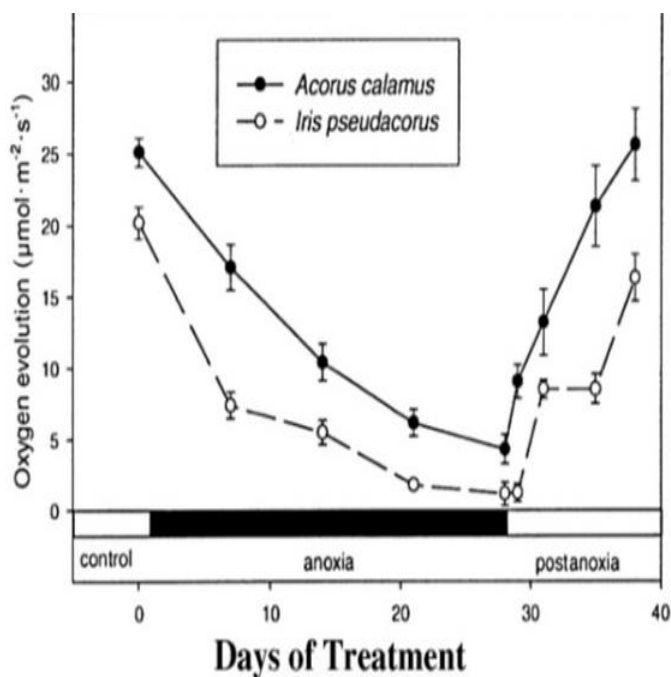
Ispitivanje listova *Acorus calamus* i *Iris pseudacorus* u ponovljenim intervalima tokom 28-dnevnog anoksičnog tretmana pokazalo je smanjenje brzine glikoliza, kapaciteta za očuvanje ugljenih hidrata, a nakon početnog porasta, stabilizaciju etanola sadržaja. Produžena anoksija značajno je potisnula kapacitet lista za disanje i fotosintezu.

Posle 28 dana anoksije, respiratorni kapacitet je smanjen.

Acorus calamus i *Iris pseudacorus* za 80% i 90%, respektivno. Fotosintetski kapacitet listova smanjen je za 83% kod *Acorus calamus* i za 97% kod *Iris pseudacorus* nakon 28 dana anoksije (sl. 10–11).



Slika br.10



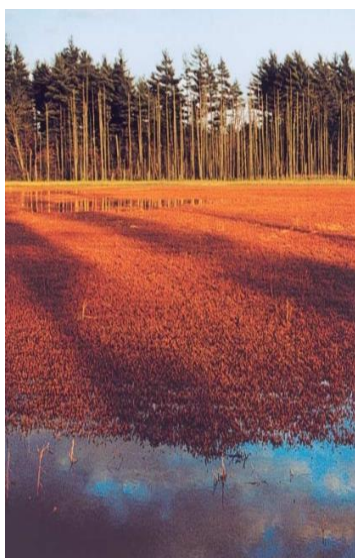
Slika br.11

Slika 10. Sadržaj etanola u korijenu, rizomima i listovima *Acorus calamus* (a) i *Iris pseudacorus* (b) držanih u anoksiji 63 dana u anoksiji (n = 6). Imajte na umu da se u ovim eksperimentima sprovedenim sa netaknutim biljkama, nakon 20 dana anoksije, dostiže plato u koncentraciji etanola sa znatnim količinama koje se nalaze u listovima odakle se on lako raspršuje. (Iz Schluter i Cravford 2001, reprodukovano uz dozvolu J. Ekp. Bot., Vol. 52, str. 2218, © 2001 Okford Universiti Press)

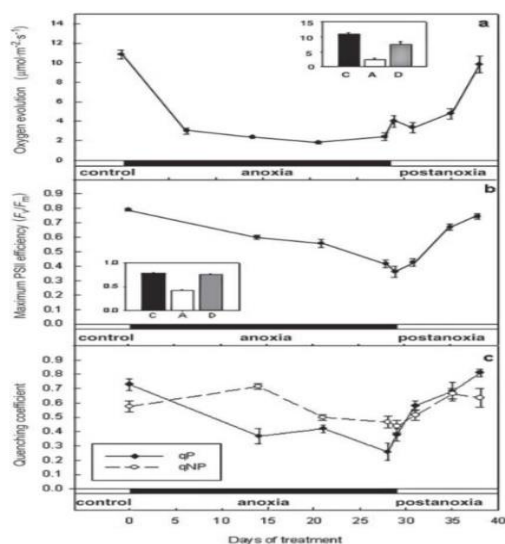
Slika 11. Fotosintetski kapacitet procijenjen kao evolucija kiseonika i izmjeren kiseoničkom elektrodom u listovima *Acorus calamus* i *Iris pseudacorus* odmah po uklonjanju iz anoksične komore u intervalima do 28 d anoksije. (Iz Schluter i Cravford 2001, reprodukovano uz dozvolu J. Ekp. Bot., Vol. 52, str. 2220, © 2001 Okford Universiti Press.)

Ovo smanjenje fotosintetskog kapaciteta je praćeno modifikacijom obrasca fluorescencije hlorofila, što ukazuje na oštećenje reakcionog centra fotosistema II i kasniji transport elektrona. Po povratku na vazduh listovi *Acorus calamus* koji su izdržali 28 dana anoksije povratili su punu fotosintetičku aktivnost u roku od 7 dana, dok su listovi *Iris pseudacorus* imali fazu kašnjenja od 3–10 dana. Ova dobro razvijena sposobnost da se izdrže produženi periodi nedostatka kiseonika kod obje ove vrste povezana je sa smanjenom regulacijom metaboličke aktivnosti kao odgovorom na nametanje anaerobioze (Schluter i Crawford 2001).

Još jedan primjer metaboličke adaptacije za prezimljavanje nedavno je prijavljen kod autohtone sjevernoameričke brusnice (*Vaccinium macrocarpon*, slike 12–14). Brusnice se uzgajaju u posebno izgrađenim močvarama brusnice i obično su poplavljeni zimi da bi se spriječile povrede od mraza. Ova zaštita pod ledom može dovesti do produženih perioda anoksije, što u zavisnosti od stanja vinove loze i uslova okoline može izazvati ozbiljne povrede usljed nedostatka kiseonika. Eksperimentalna studija tolerancije vinova loza brusnice do kontrolisane potpune anoksije otkrila je da su zreli tamnozeleni listovi sa visokim nivoom ugljenih hidrata u stanju da prežive produžene periode potpunog nedostatka kiseonika, dok se mlađi, novoformirani listovi lako oštećuju. Tokom anoksičnog tretmana, zrelo lišće pokazuje značajno smanjenu regulaciju metabolizma na isti način kao što je gore navedeno kod *Acorus calamus* i *Iris pseudacorus* (Schluter i Crawford 2003).



Slika br.12



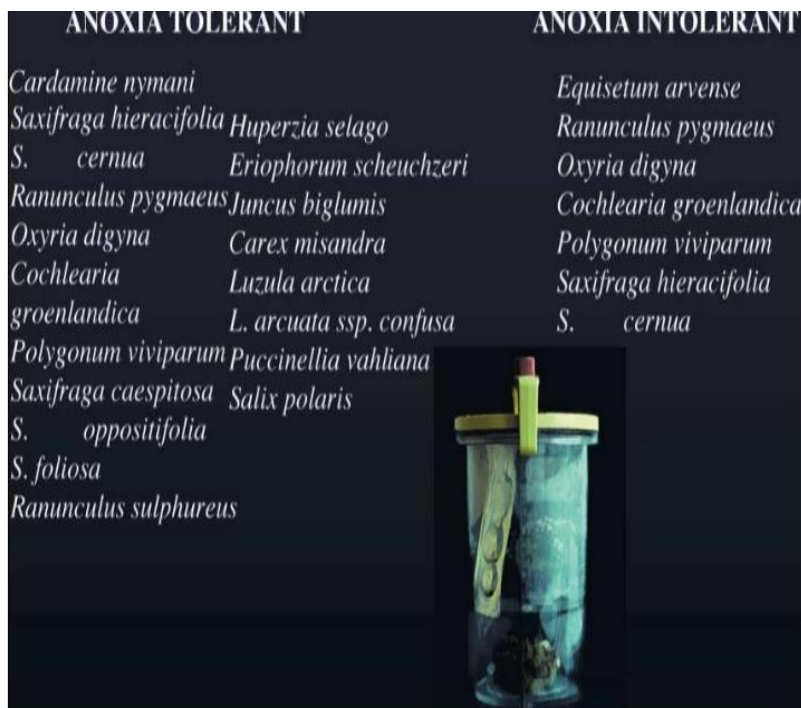
Slika br.14

Slika 14. Efekti produžene anoksije praćene postanoksićnom aeracijom na fotosintetićku aktivnost zrelih listova brusnice.

(a) Evolucija kiseonika mjerena kiseonićkom elektrodom.

(b) Maksimalna efikasnost fotosistema II (PSII) (Fv/Fm mereno fluorescencijom, gdje su Fv i Fm varijabilna i maksimalna fluorescencija). (c) Koefficijenti gašenja fluorescencije, fotohemijsko gašenje (kP) i nefotohemijsko gašenje (kNP). Umetnuti histogrami pokazuju poređenje između kontrole (C), 28-d anoksićnog tretmana tame (A) i 28-d tame (D). Obratite pažnju na smanjenje fotosinteze tokom perioda anoksije. (Za eksperimentalne detalje videti Schluter i Cravford 2003.) (Od Schluter i Cravford 2003., reprodukovano uz dozvolu Phisiol. Plant., Vol. 117, str. 497, © 2003 Munksgaard International Publishers Ltd.

Najduže zime na Artiku, gdje biljke mogu biti pod snijegom i ledom od oktobra do juna i ponekad duže kada se velike sniježne naslage ne otapaju ljeti. Arktik je takođe region gdje su biljke najviše izložene riziku da moraju da izdrže duge periode bez pristupa kiseoniku zbog omotaća u led. Paradoksalno, kao rezultat klimatskog zagrijavanja, ovaj rizik se povećava. Sjeverne zime sada su sve češći periodi topljenja snijega, pa čak i kiše, kao rezultat intervala toplog vremena koji dolazi sa juga. Snijeg koji se topi i kiša zatim oblažu smrznutu zemlju tundre u led. Stoga nije iznenađujuće što se najveća incidencija tolerancije na anoksiju nalazi u flori visokog Arktika (Crawford et al. 1994). U studiji sprovedenoj u Špicbergenu, utvrđeno je da je 19 od 26 testiranih vrsta potpuno tolerantno na anoksiju, pri čemu su listovi, pa čak i cvjetovi preživjeli neoštećeni (Slika 15).

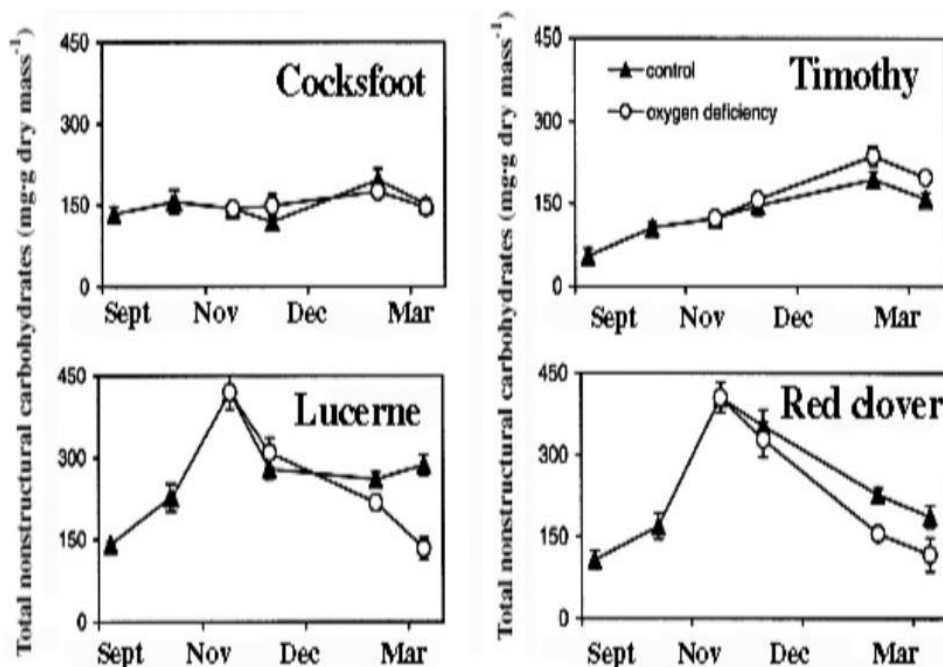


Slika br.15

Istraživanja prirode oštećenja biljaka od leda uglavnom su vršena na usjevima u subarktićkim oblastima, gdje klimatsko zagrijavanje takođe povećava učestalost pokrivanja ledom. Posebno su ugroženi višegodišnji krmni usjevi u istoćnoj Kanadi, gdje se predviđa da će povećanje od 2–6 °C tokom zime preživljavanja pod ledom na minimalnoj temperaturi Arktika tokom zimskih mjeseci usljed globalnog zagrijavanja vjerovatno uticati na opstanak krmnih usjeva. (Belanger et al. 2002).

Ova studija je izračunala da će se broj dana sa zaštitnim sniježnim pokrivačem tokom hladnog perioda smanjiti za 15,6 dana do sredine ovog vijeka. Toplije jesenje vrijeme će takođe odložiti razvoj hladnog kaljenja, a to će zajedno sa vrstama krmnog bilja zatvaranjem saksijskih biljaka u nepropusne vreće u kasno smanjen zaštitni sniježni pokrivač tokom hladnog perioda, povećati izloženost biljaka ubijanje mraza, nadimanja tla i omotača leda.

Trenutna saznanja o prirodi povrede od leda zasniva se uglavnom na studijama sprovedenim na krmnim kulturama na istoku, izlažući ih Kanadi i Islandu. U kanadskom eksperimentu (Bertrand et al. 2001), anoksični stres je nametnut brojnim simuliranim jesenima i zimski uslovi u neogrijavanom stakleniku. Približni anaerobni uslovi postignuti su nakon 60 dana ograđenog prostora za voćnjake ili pijetlove (*Dactylis glomerata*), lucerku (*Medicago sativa*) i crvenu djetelinu (*Trifolium pratense*) i nakon 80 dana za timotiju (*Phleum pratense*). Osjetljivost vrste na anaerobne uslove, na osnovu ponovnog rasta biljaka, bila je sledeća: crvena djetelina = voćna trava > lucerka > timotiju. Koncentracija etanola se povećavala kao odgovor na nedostatak kiseonika i dostigla je najveću vrijednost kod osjetljive crvene djeteline, dok je njena koncentracija bila najmanja u timotiju. Ekspresija ADH gena (*Adh*) bila je znatno niža kod timotija nego kod ostale tri vrste za koje je ekspresija bila ekvivalentna. Zaključeno je da je veća otpornost timotija na anaerobne uslove na niskim temperaturama povezana sa sporijim glikolitičkim metabolizmom (Bertrand et al. 2001). Dalja istraživanja su pokazala da je koncentracija ugljenih hidrata ostala na višoj koncentraciji u timotiju nego u ostale tri vrste pod niskom koncentracijom O₂ (slika 16).



Slika br.16

16. Koncentracija ukupnih nestrukturnih ugljenih hidrata u osnovama izdanaka pijetlove i timotije i krunama lucerne i crvene djeteline u kontroli i biljkama držanim u hipoksiji. Mjerenja su vršena na šest datuma tokom zime. (Od Bertranda et al. 2003, reprodukovano uz dozvolu J. Ekp. Bot., Vol. 54, str. 1725, © 2003 Okford Universiti Press.)

Koncentracije saharoze, fruktoze, glukoze i fruktana (ovdje nisu prikazane) su takođe porasle kao odgovor na nedostatak kiseonika u timotiju, dok je koncentracija rastvorljivih šećera opala pod istim uslovima u lucerki (*Medicago sativa subsp. sativa*), crvena djetelina i pjetlića (Bertrand et al. 2003). Stoga se čini da timotija, paralelno sa prezimljavanjem vodozemnih biljaka, takođe smanjuje metabolizam u uslovima anoksije i na taj način održava veće rezerve ugljenih hidrata pod nedostatkom kiseonika, što je odgovor koji bi pogodovao preživljavanju zime i proljećnom ponovnom rastu.

Komparativna istraživanja različitih provenijencija bijele djeteline sprovedena su na Islandu (Dalmannsdottir et al. 2001). Najviše je norveško stanovništvo otporan na zimu. Njegovi stoloni su imali veći procenat suve materije i veće količine nezasićenih masnih kiselina, među kojima je bila posebno istaknuta masna kiselina 18:2. Oblaganje ledom je obično dugotrajan stres, koji traje nedeljama ili čak mjesecima. Stoga je relevantno napomenuti da je kod otpornijih biljaka to povezano sa smanjenom regulacijom anaerobnog metabolizma. Ovo je u suprotnosti sa ubrzanjem metabolizma koje koriste biljke koje se prilagođavaju kratkotrajnom stresu kao što je klijanje ili kratak period ljetnjih poplava.

Povratak na vazduh nakon dužeg nedostatka kiseonika

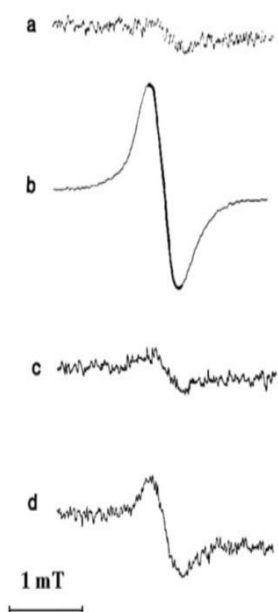
Postanoksična povreda

Sa dolaskom proljeća, biljke koje su pretrpjele dugu zimu u nedostatku kiseonika zbog poplava, a možda i zbog leda, suočavaju se sa dodatnom opasnošću od postanoksičnih povreda kada se vrate u vazduh. Metabolizam ne prestaje u potpunosti pod ledom, a anaerobni proizvodi se akumuliraju. Postoji, međutim, potpuni prekid svih aerobnih procesa.

U ovim uslovima prelazni metali uključeni u aerobni metabolizam (gvožđe u citohromima itd.) su svedeni u gvožđe stanje i promet enzima potrebnih za aerobni metabolizam je znatno smanjen. Shodno tome, iznenadni ponovni izlazak u vazduh, kako se vodostaj spušta ili se led topi, predstavlja aerobni šok za nepripremljena tkiva. U takvim uslovima mnoge biljke su podložne postanoksičnim povredama. Tkiva sklona ovoj vrsti povreda postaju mekana i sunderasta nakon ponovnog izlaganja vazduhu i brzo gube svoje ćelijske sastojke. U ovim slučajevima kiseonik ispoljava definitivno toksično dejstvo i membrane se nepovratno uništavaju. Ova vrsta oštećenja proizilazi iz postanoksičnog stvaranja reaktivnih vrsta kiseonika (ROS). U postanoksičnom stanju kada su citohromi smanjeni, Fentonova reakcija može biti posebno aktivna:



Slika br.17 prikazuje stvaranje aktivnih radikala koji se primjećuju kada se anaerobno inkubirani rizomi vrste *Iris germanica* netolerantne na anoksiju vrata u vazduh. Gašenje njihove generacije se takođe vidi kada se rizomi perfuziraju antioksidansima prije nego što budu ponovo izloženi kiseoniku.



Signali elektronske spin rezonancije koji pokazuju postanoksičnu indukciju aktivnih radikala u rizomima *Iris germanica* otporne na anoksiju iz (a) aerobnih i (b) postanoksičnih rizoma. Smanjenje amplitude EPR signala (elektroparamagnetna rezonantna spektroskopija) sa 5 mmol/L askorbinske kiseline i takođe je prikazano 5 mmol/L glutationa (c i d). (Preuzeto iz Crawford and Braendle 1996.)

Etanol koji se nakupio pod anoksijom takođe se brzo oksiduje u acetaldehid prisustvom H₂O₂ i katalaze (Monk et al. 1987) i stoga vjerovatno više doprinosi oštećenju membrane u postanoksičnom stadijumu nego tokom anoksije. Izvori ROS su redukovani lanci elektrona (Elstner i Osvald 1994). U nezelenim ćelijama mitohondrijski transport elektrona može dovesti do ROS u živim ćelijama u bilo kom trenutku. Međutim, oni se obično detoksikuju enzimskim i neenzimskim sistemima (superoksid dismutaza, katalaza, askorbat peroksidaza, vitamini C i E, glutation i mnogi drugi). U ćelijama pod stresom, kada ovi zaštitni mehanizmi nisu u potpunosti

razvijeni ili više nisu u ravnoteži ROS postaju efikasni agensi ćelijske smrti. Iako su ovi aktivni radikali sposobni da reaguju sa mnogim vrstama makromolekula, u biljkama njihovo najštetnije dejstvo je u njihovoj reakciji sa lipidima (npr. peroksidacija lipida) pokretanjem oštećenja membrane koje dovodi do uništenja ćelijskih organela. Proizvodi peroksidacije, kao što su etan i malonedijaldehid, brzo se pojavljuju u organima i tkivima netolerantnih biljaka (Hunter et al. 1983; Pfister-Sieber i Braendle 1994). Čini se da je sistem unutrašnje membrane mitohondrija posebno osjetljiv, kao što je prikazano na slikama na elektronskom mikrografu (Vartapetian 1991), a oslobađanje apoptotičkih signala iz oštećenih mitohondrija može dovesti do smrti ćelije (Virolainen et al. 2002). Proizvodnja ROS-a je takođe uobičajena karakteristika za druge stresove, uključujući sušu, povrede soli i oštećenja od zagađenja. Transformisani organizmi sa poboljšanim ROS sistemom detoksikacije pokazalo se da su tolerantniji prema različitim stresovima, ali još uvijek ne prema postanoksičnom oksidativnom stresu (Foier et al. 1994). Nažalost, za većinu sušnih vrsta njihov kapacitet za enzimsku i neenzimsku detoksikaciju ROS je smanjen kao rezultat perioda prisilne anaerobioze. Ovo se može desiti i kod močvarnih vrsta kao što je pirinač. Međutim, u poslednjem slučaju, odmah nakon ponovnog izlaganja vazduhu, sintetišu se velike količine glutationa koji detoksikuju superoksidne anjone, što je praćeno ponovnim uspostavljanjem enzimskih i drugih neenzimskih sistema detoksikacije (Ushimaru et al. 1992).

Prozračivanje krijena i rizoma ljeti i zimi

Tokom vegetacije biljke koriste različite mehanizme kako bi osigurale da njihovi podzemni ili potopljene organi dobiju adekvatnu ventilaciju. Difuzija kiselika kroz međucelijske vazdušne prostore se lako odvija u mnogim močvarnim vrstama, kao što se može vidjeti u omotaču oksidovanog gvožđa koje se obično nalazi oko korijena u redukovanim zemljištima. Mnoge vrste imaju mogućnost tokom vegetacije da prilagode svoju morfologiju kako bi se prilagodile poplavama tla (Armstrong et al. 1994). Takođe ima mnogo primjera gdje hormonski pokrenuti odgovori rasta omogućavaju biljkama da se prilagode potpunom poplavljenju produženjem izdanaka i peteljki (Summers et al. 2000; Voesenek et al. 2003). Brojne vodene i vodozemne vrste takođe koriste sunčevu energiju za pokretanje sistema za ventilaciju pod pritiskom (ponekad se naziva termoosmoza), koji cirkuliše vazduh kroz mlade izdanke ili plutajuće lišće, zatim kroz potopljene rizom i izlazi na površinu kroz starije stabljike sa manjim otporom strujanju gasa. Ovo je dobro pokazano u vodenim lilijadi godine (Dacey 1980), ali je sada poznato da djeluje u nizu drugih rizomatoznih trska i rogoza (Armstrong et al. 1996).

Odumiranje zeljaste vegetacije zimi čini neoperativnom prilagođavanje aeracije koje zavise od odgovora rasta, kao i uklanjanje organa koji su neophodni za apsorpciju sunčeve energije za ventilaciju pod pritiskom. Neke vrste, međutim, zadržavaju nešto zelenog tkiva.

Groznice kao što su *Juncus effusus* i *Juncus conglomeratus*, koje su tolerantne na poplave, ali ne i na anoksiju, zadržavaju zeleno tkivo u svojim bazalnim izdancima tokom cijele zime i tako osiguravaju dodatno snabdijevanje kiselikom za održavanje aerobnog okruženja u njihovim plitkim korijenima. Kod *Phragmites australis* mrtve stabljike koje prežive iznad nivoa zimskog plavljenja mogu da djeluju kao ventilacioni sistem za potopljene rizome (Sl. 18).



Slika br.18

Mrtve stabljike *Phragmites australis* iznad zimskog nivoa vode u Loh Staku (Škotska). Iako više nisu živa tkiva, oni pomažu u ventilaciji potopljenih rizoma. Vjetar koji duva preko slomljenih krajeva trske djeluje na način sličan vazduhu koji se duva preko rupa na flauti, a procesom Venturi konvekcije stvara razliku pritiska u visokim mrtvim stijenama koje usisavaju vazduh u podzemni sistem. (Fotografija R.M.M. Crawforda.)

Kada vjetar duva preko vrhova trske, on djeluje na način sličan vazduhu koji se duva preko rupa na žljebovima, a proces Venturi konvekcije pokreće razlika pritiska koja se stvara preko visokih mrtvih stijena koji usisavaju vazduh u podzemni sistem. Demonstrirano je (Armstrong et al. 1992) da vjetar, povećanjem Venturi-indukovane konvekcije, može povećati koncentraciju kiseonika u sistemu rizoma, izazivajući tako značajne protoke kiseonika u korijen i rizosferu. Kod nekih listopadnih vrsta drveća (npr. *Betula pubescens* i *Populus tremula*) kora zadržava određenu fotosintetičku aktivnost zimi, što poput listova koji prezimljuju u (*Juncus spp.*) će obezbijediti izvor kiseonika. Vrste drveća koje žive u močvarama često pokazuju polikormični oblik rasta (slika 19).



Slika br.19 Stabljike polikormne breze (*Betula pubescens* ssp. *czerepanovii*) koje izvire iznad bazena formiranog od otapanja snijega i leda u arktičkoj Švedskoj. Veća površina kore kod polikormičnog drveća može poslužiti za ventilaciju potopljenih tkiva. (Fotografija ljubaznošću profesora Ch. Korner-a.)

Alnus spp. izgledaju posebno uspješni u eksploataciji polikormičnog oblika rasta za preživljavanje u močvarama. U suvim staništima joha(jova) će rasti kao stub, ali kada je poplavljena, bazalni pupoljci se stimuliraju na razvoj i preovladava polikormna morfologija. Polikormični oblik rasta je toliko česta karakteristika močvarne jove (joha) da šume mogu izgledati kao da su izrasle. Veća površina stabljike koju polikormna forma proizvodi u blizini zemlje olakšava aeraciju, a ovo u kombinaciji sa prisustvom adventivnog korijena u vrbi i negativno geotropnim korijenima u jovima koje fiksiraju azot, obezbeđuje snabdijevanje kiseonikom korijenje koje raste u vlažnim zemljištima (Crawford 1989). Sve ove morfološke adaptacije indukovane su stresnim etilenom, koji se povećava u uslovima hipoksije kada su korijeni prvi put podvrgnuti plavljenju. Takođe je sugerisano da su jove (*Alnus spp.*) sposobne da unesu značajne količine kiseonika u korijenov sistem preko sočiva uz pomoć transporta gasa pod pritiskom izazvanog termalnom osmozom kada sunčeva svjetlost zagrije koru drveta. (Grosse i Meier 1992). U ovim stablima ne postoji sistem protoka koji bi olakšao aeraciju, što čini bilo kakvu kvantifikaciju efikasnosti ove metode problematičnom. Laboratorijske studije pružaju dokaze da je potreba za kiseonikom potrebna za potopljeni korijen se može djelimično zadovoljiti kada se svjetlo obasja na koru u podnožju drveta (Grosse et al. 1998). U vezi sa aeracijom tkiva u drveću treba napomenuti da mnoge vrste imaju zelenkasto tkivo ispod spoljne peri- dermalni ili ritidomalni slojevi. Ova tkiva koja sadrže hlorofil unutar stabljike mogu da iskoriste unutrašnji CO₂ stabljike i svjetlost koja prodire u koru za fotosintezu. Kada se proces fotoasimilacije ispita kvantitativno (Pfanzen et al. 2002) neto fotosintetičko usvajanje CO₂ se rijetko nalazi. Umjesto toga, unutrašnja refiksacija CO₂ u mladim grančicama i granama može da nadoknadi 60%–90% potencijalnog gubitka ugljenika u disajnim putevima. Stoga je kortikularna fotosinteza da bude efikasan mehanizam za ponovno hvatanje respiratornog ugljen-dioksida prije nego što on difunduje iz stabljike. Šta više, hloroplasti odgovarajuće frakcije

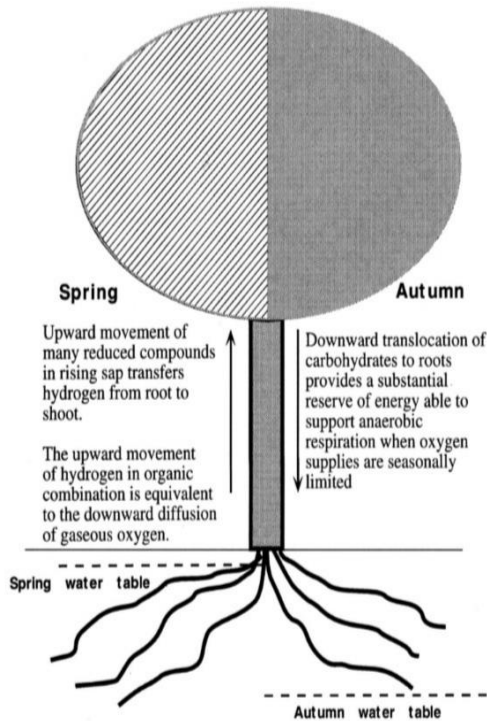
drveta ili srži takođe učestvuju u unutrašnjoj fotosintezi stabla. Iako do sada nije bilo jakih eksperimentalnih dokaza, sugerisano je da kiseonik koji je evoluirao tokom fotosinteze drveta ili srži može igrati odlučujuću ulogu u smanjenju unutrašnje anaerobioze. Bilo da je ovo interno generisano kiseonik takođe pomaže aeraciju korijena je još uvijek pod znakom pitanja. Ovaj rezime mehanizama aeracije, u skladu sa drugim argumentima koji su gore predstavljeni o metabolizmu, istakao je razlike između adaptacija na nedostatak kiseonika kako funkcioniše u biljkama zimi i ljeti. Zimske adaptacije možda neće biti tako aktivne kao one koje rade ljeti. Međutim, oni rade u različitim uslovima i dobro su prilagođeni da funkcionišu na produžen i održiv način koji će zadovoljiti, barem djelimično, niže potrebe za kiseonikom u biljnim organima koji prezimljuju.

Opasnosti od zimovanja za opstanak drveća u borealnim šumama

Drveće sa velikim stablima i dubokim usidrenim korijenima predstavlja krajnji izazov u izdržavanju nedostatka kiseonika u močvarnim staništima. U hladnim i hladnim i umjerenim regionima svijeta, poplave su generalno nepovoljne za opstanak drveća osim, ako se tlo ne zamrzne tokom perioda potencijalne poplave. Čini se da je drveće najviše izloženo riziku od poplava u okeanskim klimama gdje su zime duge, vlažne, a ne naročito hladno (Crawford et al. 2003). U kontinentalnijim regionima borealnih šuma Kanade i Sibira, produžene hladne zime ne sprečavaju rast drveća. U močvarama Letonije i Estonije moguće je pronaći velike sastojine borova koji rastu na visokim močvarama. Dalje sjevernije u nekim od najhladnijih regiona borealne šume na Aljasci, a Sibir, *Picea mariana* i *Larix dahurica* mogu rasti na močvarnim površinama čak i kada se permafrost nalazi nedaleko od površine. Međutim, u svim ovim situacijama zemljište je veći dio zime zamrznuto, korijenje je relativno plitko, a potražnja za kiseonikom je manja i snabdjevanje je manje ometano. Potpuno drugačija zimska situacija nalazi se u severnim okeanskim regionima, kao što su Britanska ostrva i djelovi zapadne Norveške, gdje korijeni mogu biti podvrgnuti zimskim poplavama prije nego što postanu mirni. Kod Sitkanske omorike (*Picea sitchensis*) poplave na temperaturama iznad 6 °C dovode do ekstenzivne smrti vrhova korijena (Coutts i Philipson 1987).

Eksperimentalna istraživanja prezimljujućih stabala sitkanske omorike u kojima se plavljenje vrši i na temperaturi okoline i na temperaturi okoline plus 5 °C pokazala su da plavljenje u blažim zimskim uslovima izaziva značajno smanjenje rezervi ugljenih hidrata u korijenu. Ovo ne dovodi do trenutne smrti korijena, ali kada se korijenje osiromašeno ugljenim hidratima ponovo izloži vazduhu kada se nivo vode spusti, dolazi do velikog odumiranja korijenovog sistema vjerovatno zbog postanoksične povrede antioksidansa, osiromašeno tkivo (Crawford i Braendle 1996). Smrt cijelog drveta ne bude odmah, ali smanjeni razvoj korijena će učiniti veće drveće nestabilnim i stoga sklonim udarima vjetra. Duga zima i potreba za očuvanjem ugljenih hidrata za obnavljanje toka soka i pucanja pupoljaka u proljeće, stvara potrebu za adekvatnim zalihama ugljenih hidrata za prezimljavanje. Kod breze, aktivno kretanje soka ksilema nagore u proljeće nosi sa sobom znatne količine rastvorljivih ugljenih hidrata etanola, organskih i aminokiselina. Ovaj tok je predložen kao sredstvo pomoću kojeg korijeni nekih drvenastih biljaka nadoknađuju nedostatak kiseonika u atmosferi tla izvozom vodonika u izdanak i na taj način održavajući redoks ravnotežu natopljenog korijenovog sistema (Crawford 1996).

Kretanje vodonika nagore u redukovanim jedinjenjima kao sastojka toka ksilema je efikasnije sredstvo za otplatu duga kiseonika potopljenih organa nego spora difuzija gasovitog kiseonika kroz više od metra drvenastog tkiva (slika 20).



Slika br. 20 Dijagramski prikaz sezonskih ciklusa kretanja ugljenih hidrata u odnosu na sposobnost breze da proizvede snažan uzlazni tok soka u proljeće čak i kada je zemljište potpuno zasićeno ili poplavljeno i aeracija je otežana. (Adaptirano iz Braendle i Cravford 1999).

Ova zamjena uvoza kiseonika izvozom vodonika, međutim, ima metaboličku cijenu, odnosno obezbeđivanje velike količine ugljenih hidrata u korijenu koji prezimljuje. Ne treba miješati prolječni tok soka u stablima breze onaj šećernog javora (*Acer saccharum*). U ovom drugom slučaju protok soka zavisi od dnevnih ciklusa smrzavanja-odmrzavanja koji utiču na stablo i stabljiku i nije funkcija pritiska korijena. Kod breze, međutim, pritisak korijena pokreće prolječni porast soka (Kozlovski i Pallardi 1997). Važno je napomenuti, međutim, da se u drveću u donjem dijelu Sjedinjenih Država pokazalo da su visoke koncentracije skroba u korijenu prije poplave važna karakteristika koja omogućava vrstama otpornim na poplave da prežive poplave. Donji *Fraxinus pennsylvanica* (zeleni pepeo) i *Nyssa aquatica* otporna na poplave su bili u stanju da skladište više ugljenih hidrata u svom korijenu i zadrže manje u svom lišću od *Quercus alba* koji je manje otporan na poplave (Gravatt i Kirby 1998).

Ubrzanje glikolize može pomoći poplavljenim biljkama da prevaziđu kratak period nedostatka kiseonika tokom vegetacije, ali će biti neprilagođeno za preživljavanje produženih perioda anaerobioze tokom zimskog režima poplava koji može trajati mjesecima. Slične dihotomije u adaptacionom ponašanju mogu se naći i kod klijavih sjemena. Drveće takođe ima adaptacije koje su specifične za preživljavanje zime i nastavak rasta u proljeće kada može doći do pucanja pupoljaka dok je zemljište još uvijek zasićeno vodom. Tabela 2 daje rezime nekih radova citiranih u ovom radu koji ističu kontrastne adaptacije koje funkcionišu u različitim godišnjim dobima na močvarnim i suvim vrstama u odnosu na njihov kapacitet da prežive poplave. Raznolikost odgovora između vrsta i godišnjih doba ukazuje da postoji snažan sezonski uticaj na vrstu adaptacija koje su pogodne za povećanje preživljavanja zimi u poređenju sa onima koje su efikasne tokom vegetacije.

Event	Wetland species	Dryland species	References
Survival under anoxia	Perennating organs of amphibious species (e.g., rhizomes, stolons, and turions) have prolonged tolerance of anoxia	Rhizomes when flooded become unviable and are readily killed by short periods of anoxia (less than 1 week)	Barclay and Crawford 1982; Crawford and Braandlie 1996
Ethanol accumulation	In intact amphibious species some accumulation on initial flooding then stabilization due to ethanol dispersal mechanisms	Continued accumulation to high levels in roots and rhizomes of species with only a short-term tolerance of anoxia	Joly 1994; Pretorius et al. 1998; Schlüter and Crawford 2001; Wuebbker et al. 2001
Alcohol dehydrogenase induction	Less active induction in comparison with intolerant species	Normally rapid response with marked increases	Baxter-Burrell et al. 2002; Fukao et al. 2003; Tamura et al. 1996; Bertrand et al. 2001, 2003
Acetaldehyde generation and toxicity	Rice during early stages of germination is tolerant of acetaldehyde up to 200 mmol/L	Highly damaging in <i>Avena sativa</i> and most other crop species	Monk et al. 1987; Kato-Noguchi 2002; Boamfa et al. 2003
Carbohydrate utilization	Slow usage of carbohydrates and maintenance of high levels of free sugars	Rapid depletion of carbohydrate reserves including free sugars under low oxygen stress	Steinmann and Braandlie 1984; Braandlie 1991; Hanhijärvi and Fagerstedt 1993
Postanoxic lipid destruction	Little damage in species tolerant of prolonged anoxia	Massive damage in anoxia-sensitive species	Hunter et al. 1983; Kolb et al. 2002
Seed reserves	Exclusively carbohydrates, fructans in grasses	Various	Bertrand et al. 2003; Crawford 1992; Wuebbker et al. 2001
Germination phenology	Inhibited by water; requiring oscillating temperatures	Rapid germination on imbibition for crop species	Frankland et al. 1987; Baskin and Baskin 1998; Jutila 2001; Legesse and Powell 1992; Pretorius et al. 1998
Germination physiology	Elevated alcohol dehydrogenase activity; availability of free sugars under anoxia; ability to disperse ethanol and lactate	Seeds require prompt rupture of testa to ensure adequate access to oxygen	Kolb et al. 2002; Crawford 1992; Legesse and Powell 1992, 1996
Seedling response to anoxia	Rice coleoptile and first leaf tolerant of anoxia; also tolerant of acetaldehyde. Weeds of rice crops have also evolved tolerance of anoxia over the germination period	Most seedlings are intolerant of anoxia	Biswas et al. 2002; Kato-Noguchi 2002; Crawford 1989
Metabolic response of mature plant to anoxia	Down-regulation of metabolism during prolonged anoxia	Acceleration of glycolysis to overcome short-term oxygen shortages	Schlüter and Crawford 2001, 2003; Crawford et al. 1987
Ice encasement	Highest frequency of tolerance of ice-encasement and anoxia-tolerance found in plants of the High Arctic Flora	Crop plants that are damaged by ice encasement have higher rates of winter anaerobic metabolism and glycolytic activity under anoxia than those that survive ice encasement	Crawford et al. 1994; Bertrand et al. 2003

Tabela 2. Rezime nekih istraživanja navedenih u tekstu o kontrastnim i nekompatibilnim adaptacijama na anoksiju koje mogu da djeluju u različitim godišnjim dobima u močvarnim i suvim vrstama.

6.ZAKLJUČAK

Zima zauzima veći dio godine za biljke koje rastu u borealnim i arktičkim regionima, pa stoga ne čudi niz adaptacija koje su specifične za ovu sezonu. U odnosu na hladnoću i sušu ovi stresovi su očigledni i mnogo su proučavani. Međutim, zimske poplave su dobile relativno malo pažnje u pogledu mogućeg efekta koji produženo izlaganje visokim zimskim nivoima vode može imati na prirodnu vegetaciju i višegodišnje usjeve. Kada se pažnja posveti prirodnoj vegetaciji, može se vidjeti da može postojati nespojivost između adaptacija koje su pogodne za prevazilaženje opasnosti od visokih voda tokom ljeta sa onima koje su neophodne za preživljavanje zime.

Reference

- Crawford, R.M.M., and Braendle, R. 1996. Oxygen deprivation stress in a changing climate. *J. Exp. Bot.* **47**: 145–159.
- Crawford, R.M.M., and Wollenweber-Ratzer, B. 1992. Influence of L-ascorbic acid on post-anoxic growth and survival of chickpea seedlings (*Cicer arietinum* L.). *J. Exp. Bot.* **43**: 703–708.
- Crawford, R.M.M., Monk, L.S., and Zochowski, Z.M. 1987. Enhancement of anoxia tolerance by removal of volatile products of anaerobiosis. *In Plant life in aquatic and amphibious habitats. Vol. 5. Edited by R.M.M. Crawford. Blackwell Scientific Publications, Oxford. pp. 375–384.*
- Crawford, R.M.M., Chapman, H.M., and Hodge, H. 1994. Anoxia tolerance in high Arctic vegetation. *Arct. Alp. Res.* **26**: 308–312.
- Crawford, R.M.M., Jeffree, C.E., and Rees, W.G. 2003. Paludification and forest retreat in northern oceanic environments. *Ann. Bot.* **91**: 213–226.