

BOGDAN SŁOMIŃSKI

*Akademia Rolniczo-Techniczna w Olsztynie*

## FIZJOLOGICZNE FUNKCJE INHIBITORÓW WZROSTU W ROZWOJU I SPOCZYNKU ZIARNA ZBÓŻ

Jednym z najbardziej interesujących problemów fizjologii nasion jest okresowa niezdolność nasion niektórych roślin do kiełkowania zwana powszechnie spoczynkiem. U zbóż cecha ta nie przejawia się tak wyraźnie jak u chwastów lub roślin drzewiastych, jednak ma duże znaczenie gospodarcze. Na ogół jest rzeczą pożądaną, aby ziarniaki przecho- dziły chociażby krótki okres spoczynku. Zapobiega to ich porastaniu w niesprzyjających warunkach pogody i w konsekwencji umożliwia uniknięcie poważnych strat. Z drugiej jednak strony cecha ta utrudnia kwalifikację materiału siewnego lub, jak w przypadku jęczmienia bro- warnego, komplikuje proces technologiczny.

Współcześni fizjolodzy stoją na stanowisku hormonalnej kontroli spoczynku czyniąc odpowiedzialnym za jego wywołanie jeden z naj- silniejszych inhibitorów wzrostu — kwas abscysynowy (ABA). Wpraw- dzie nie zaprzeczono zasadzie synergizmu ABA i inhibitorów fenolo- wych, identyfikowanych początkowo na chromatogramach w komplek- sie  $\beta$  — inhibitora, niemniej aktualny stan wiedzy wskazuje, że ABA jest jego głównie aktywnym biologicznie komponentem.

### *Zmiany zawartości kwasu abscysynowego w rozwijającym się ziarnie zbóż*

Występowanie w nasionach spoczynkowych kwasu abscysynowego stwierdzano już wielokrotnie [38]. Interesujący przy tym okazał się fakt, że akumulacja ABA w nasionach wielu roślin rozpoczyna się już w początkowej fazie ich rozwoju, osiągając wysoki poziom na długo przed zakończeniem dojrzewania [8, 29, 31]. Tego typu prawidłowość zaobserwowało również szereg autorów w ziarnie zbóż [11, 18, 24, 32]. Najwyższą zawartość ABA, rzędu 4—9 ng/ziarno stwierdzono w ziarnia- kach wówczas, gdy uzyskiwały one największą objętość (świeżą masę). Spadek aktywności tego hormonu korelował z wysychaniem ziarna.

Obecność kwasu abscysynowego wykryto praktycznie we wszystkich częściach ziarniaka. Odnosząc jednak uzyskane wyniki do suchej masy izolowanych organów wykazano, że ilość ABA w zarodkach przewyższa kilkakrotnie jego zawartość w endospermie [11, 18].

Podwyższony poziom ABA w dojrzewającym ziarnie poprzedzony jest bądź jego transportem z rośliny macierzystej, bądź syntezą w samym ziarnie. Niedojrzałe bowiem ziarno pszenicy inkubowane w roztworze kwasu mewałonowego syntetyzowało ten związek de novo [27].

W dojrzałym morfologicznie ziarnie zbóż ilość kwasu abscysynowego, zwłaszcza w formie wolnej, jest bardzo mała. Nasuwa to przypuszczenie, że po zakończeniu dojrzewania przechodzi on w formę nieaktywną. Przypuszcza się, że rolę substancji zapasowej wiążącej nadmiar ABA w tkankach roślinnych spełnia abscysylo- $\beta$ -D-glukopiranozyd [26]. Ponadto metabolitami tego hormonu są również kwasy fazeinowy, dwuhydroksyfazeinowy oraz inny niezidentyfikowany związek polarny. Występowanie tego typu przemian w nasionach fasoli [37] i jesionu [36] sugerują ich obecności także w ziarnie zbóż.

### *Fizjologiczna rola ABA oraz związków fenolowych w dojrzewającym ziarnie zbóż*

Fizjologiczną funkcję kwasu abscysynowego upatruje się w wywoływaniu spoczynku nasion. Uważa się, że zapobiega on przedwczesnemu kiełkowaniu niedojrzałych nasion na roślinie macierzystej [5, 17, 38].

Ścisłe sprecyzowanie formy spoczynku ziarna zbóż jest dosyć kłopotliwe. Spoczynek posprzętny bowiem, w miarę wprowadzania do upraw nowych odmian zbóż, staje się znacznie mniej widoczny. Natomiast wyraźny stan spoczynku obserwuje się w trakcie dojrzewania ziarna. Już wcześniej stwierdzono, że po zakończeniu formowania podstawowych organów zarodka ziarno zbóż kiełkuje znacznie gorzej [12]. Dużą wymowę fizjologiczną ma pojawienie się, krótko po zakończeniu procesów organotwórczych zarodka, stosunkowo dużych ilości ABA [11, 18, 24].

Obserwowany szybki spadek zawartości kwasu abscysynowego wraz z osiągnięciem przez ziarno dojrzałości pełnej nie musi jednak towarzyszyć wyjściu ziarna ze stanu spoczynku [18]. Wskazywałoby to na wpływ czynników siedliskowych warunkujących uzyskanie przez ziarno pełnej zdolności kiełkowania. Siedlisko wywiera istotny wpływ na początkowe fazy ontogenezy nasion warunkując dynamikę zachodzących w nich procesów. Goldbach i Michael [11] przenosząc rośliny jęczmienia do fitotronu o temperaturze 26°C stwierdzili, towarzyszący przyspieszonemu dojrzewaniu ziarna, wcześniejszy szczyt aktywności endogennego ABA.

Stwierdzono ponadto, że przedwczesnemu wysuszeniu ziarna towarzyszy zmniejszanie ilości ABA. W tym samym ziarnie jednak, gdy przechowywano je w atmosferze nasyconej parą wodną obserwowano czterokrotnie wyższy poziom tego hormonu [18]. Stanowić może to jedną z przyczyn, obserwowanego wielokrotnie, znacznie lepszego kiełkowa-

nia ziarna niedojrzałego po jego uprzednim wysuszeniu. Spoczynek ziarna jest cechą warunkowaną genetycznie nie można jednak wykluczyć wpływu wielu czynników mogących go w pewien sposób modyfikować.

Nadal nie w pełni wyjaśniona jest fizjologiczna rola, powszechnie występujących w roślinach związków fenolowych. Obecność kwasów fenolowych, w tej liczbie: wanilinowego, p-hydroksybenzoesowego, ferulowego, kawowego, p-kumarowego, sinapowego i innych, wielokrotnie stwierdzano w organach generatywnych roślin [6, 7, 10, 34, 35]. Stosowane w badaniach testy biologiczne często potwierdzają ich inhibicyjny charakter, jednak dyskusyjne wydają się stężenia w jakich przejawiają one właściwości inhibitorów. Są to z reguły stężenia bardzo wysokie ( $10^{-2}$  M— $10^{-4}$  M). Często natomiast w niższych koncentracjach związki te wywołują nawet efekt stymulujący [4, 16, 19, 25, 33]. Określone przez autora (dane nie opublikowane) koncentracje szeregu kwasów fenolowych w ziarnie jęczmienia ( $10^{-5}$  M— $10^{-7}$  M) są również znacznie niższe od wspomnianych wyżej dawek preparatów kwasów fenolowych w jakich hamują one przemiany metaboliczne. Rola więc tych związków w wywoływaniu spoczynku nasion wydaje się nadal dyskusyjna.

Istnieje natomiast szereg danych wskazujących na dość istotne, konstytucjonalne funkcje identyfikowanych w ziarnie związków fenolowych. Kwasy fenolowe, głównie pochodne kwasu cynamonowego, wchodzi w skład białek i polisacharydów [1, 6, 39]. W mące pszenicy wykryto cztery frakcje glikoproteidów zawierające związany eterowo kwas ferulowy [9]. Znane są glikozydy kwasów kawowego, kumarowego, ferulowego czy sinapowego [39]. Durkee [6] identyfikuje szereg, połączonych wiązaniami estrowymi, kwasów fenolowych w warstwie aleuronowej gryki. Również Fulcher i wsp. [10] donoszą o kompleksie kwas ferulowy—wielocukrowiec w ścianach komórkowych warstwy aleuronowej pszenicy. Szereg estrów kwasów fenolowych zidentyfikowano w ziarnie owsa [7]. Stąd też w niedojrzałym ziarnie jęczmienia obserwuje się kilkakrotnie wyższą zawartość wolnych kwasów fenolowych aniżeli w ziarnie, które uzyskało pełną dojrzałość morfologiczną (badania własne). Wskazuje to, że podczas dojrzewania związki te podlegają złożonym przekształceniom prowadzącym do powstania szeregu połączeń z innymi składnikami komórkowymi ziarna zbóż.

#### *Hipotetyczny mechanizm spoczynku ziarna zbóż*

Na temat mechanizmu funkcjonowania endogennych inhibitorów wzrostu istnieją nadal duże różnice w poglądach. Regulacyjny bowiem charakter tych związków przejawiać się może na wielu poziomach [16, 17, 21, 38]: 1) Kontroli procesów fosforylacji oksydacyjnej, 2) Wpływu

na aktywność wielu enzymów, 3) Kontroli procesów biosyntezy kwasów nukleinowych, 4) Interakcji ze stymulatorami wzrostu.

Duża rozpiętość reakcji fizjologicznych jakie wywołują inhibitory wzrostu wskazuje, że muszą one oddziaływać na kluczowe ogniwa metabolizmu roślin. Bardzo prawdopodobna wydaje się więc interpretacja wywoływania i ustępowania spoczynku hormonalną kontrolą metabolizmu kwasów nukleinowych.

Głębokość spoczynku organów roślinnych jest dość ściśle uzależniona od zawartości kwasów nukleinowych. Podczas spoczynku zawartość DNA i RNA jest mała natomiast w miarę jego ustępowania wzrasta. W studiach z izolowaną chromatyną spoczynkowych pąków ziemniaka stwierdzono zmniejszoną jej zdolność do podtrzymywania syntezy RNA *in vitro* [38.] Endogenne kwas kawowy i skopoletyna pozyskane ze spoczynkowych bulw ziemniaka, jak i syntetyczne preparaty tych związków w koncentracji  $10^{-3}$  M, hamowały włączanie znakowanej  $C^{14}$  — adeniny w DNA, tRNA i rRNA oraz tworzenie się wysokomolekularnej frakcji zawierającej mRNA [20]. W odróżnieniu od związków fenolowych ABA nawet w koncentracji  $10^{-8}$  M hamował powstawanie tejże frakcji [23]. Omawiane związki niwelowały jednocześnie stymulujący wpływ kwasu giberelowego ( $GA_3$ ). Reakcje ABA przejawiać się mogą w inhibicji syntezy nukleotydów [21], zahamowaniu aktywności polimerazy RNA [28], stymulującego wpływu na aktywność RNAzy [22, 30] oraz oddziaływania na proces translacji [2, 17, 26].

Tego typu hormonalna aktywność ABA staje się interesująca w interpretacji mechanizmu spoczynku nasion. BOWIEM już podczas ich dojrzenia zachodzi transkrypcja wszelkich typów kwasów nukleinowych. Stąd też nasiona dojrzałe, nie poddane pęcznieniu, zawierają w zasadzie wszystkie składniki niezbędne do zainicjowania biosyntezy białek enzymatycznych, głównie mRNA w postaci informosomów, rRNA, tRNA i inne [3, 13, 14].

W obszernych studiach nad kiełkowaniem zarodków pszenicy Chen i Osborne [2] wyciągnęli wniosek, że kwas giberelowy ( $GA_3$ ) aktywuje już wcześniej wytworzony, zablokowany mRNA co w konsekwencji prowadzi do powstania polisomów i syntezy  $\alpha$ -amylazy [15]. Hormonalna natomiast aktywność kwasu abscysynowego, przejawiająca się w podtrzymywaniu spoczynku, odzwierciedlałaby się w nieznanym mechanizmie represji zsyntetyzowanego już mRNA [17]. Również Ihle i Dure [cyt. 26] donoszą o inhibicji wywołanej na poziomie translacji mRNA w dojrzewających nasionach bawełny.

Istnienie takiego mechanizmu spoczynku pozostaje jednak w sferze hipotezy, bowiem uzyskane wyniki pośrednio tylko pozwalają na sformułowanie tego typu wniosków.

## LITERATURA

1. Błarzej A., Szutyj L.: Fenolnyje sojedinienia rastitielnowo proischorzdienia. Izd. Mir, Moskwa 1977.
2. Chen D., Osborne D. J.: Hormones in the translational control of early germination in wheat embryos. *Nature*, 226, 1157—1160, 1970.
3. Ching T. M.: Metabolism of germinating seeds. In: Kozłowski T. T. (red.) — Seed biology. Academic Press, New York-London, 103—218, 1972.
4. Demas E. K., Woolwine M., Wilson R. H., McMillan C.: The effects of ten phenolic compounds on hypocotyl growth and mitochondrial metabolism of mung bean. *Amer. J. Bot.*, 62, 97—102, 1975.
5. Dure L. S.: Seed formation. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 26, 259—278, 1975.
6. Durkee A. B.: Polyphenols of the bran-aleurone fraction of buckwheat seed (*Fagopyrum sagittatum*, Gilib). *J. Agric. Food Chem.*, 25, 186—187, 1977.
7. Durkee A. B., Thivierge P. A.: Ferulic acids and other phenolics in oat seeds (*Avena sativa* L. Var. Hinoat). *J. Food Sci.*, 42, 551—552, 1977.
8. Euwens C. J., Schwabe W. W.: Seed and pod wall development in *Pisum sativum* L. in relation to extracted and applied hormones. *J. Exp. Bot.*, 26, 1—14, 1975.
9. Faush H., Kunding W., Neukom H.: Ferulic acid as a component of a glycoprotein from wheat flour. *Nature*, 199, 277, 1963.
10. Fulcher R. G., O'Brien T. P., Lee J. W.: Studies on the aleurone layer. I. Conventional and fluorescence microscopy of the cell wall with emphasis on phenol-carbohydrate complexes in wheat. *Aust. J. Biol. Sci.*, 25, 23—24, 1972.
11. Goldbach H., Michael G.: Abscisic acid content of barley grains during ripening as affected by temperature and variety. *Crop. Sci.*, 16, 797—799, 1976.
12. Grzesiuk St.: Studia nad fizjologią dojrzewającego ziarna zbóż. *Zeszyty Nauk. WSR Olsztyn*, 11, 3—82, 1961.
13. Gumilewskaja N. A.: Sintez białka w szkieletach i prorastających siemieniach. W: Kretowicz W. L. (red.) — Rastitielnyje białki i ich biosintez. Izd. Nauka, Moskwa, 195—220, 1975.
14. Jochymczyk W. J., Sieliewanowicz B., Chlebowicz E.: Activation of preexisting messenger RNA in day pea embryo axes. *Acta Biochem. Pol.*, 21, 137—143, 1974.
15. Jones R. L.: Gibberellins: their physiological role. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 24, 571—598, 1973.
16. Kefeli V. I.: Prirodnyje inhibitory rosta i fitogormony. Izd. Nauka, Moskwa 1974.
17. Ketring D. L.: Germination inhibitors. *Seed Sci. Technol.*, 1, 305—324, 1973.
18. King R. W.: Abscisic acid in developing wheat grains and its relationship to grain growth and maturation. *Planta*, 132, 43—51, 1976.
19. Klusák H.: Die Veränderungen des Streckungswachstums bei Weizen und Gerstenkoleoptile hervorgelöst durch einige Phenolverbindungen. *Biologia (Bratislava)*, 31, 183—186, 1976.
20. Korablewa N. P., Ładyrzenskaja E. P., Morozowa E. W., Mielickij L. W.: Wlijanie regulatorów rosta na biosintez nukleinowych kwasów

- w poczkach rosta klubnij kartofelja w pokoje i pri prorastiani. Nauka, 190—200, 1972.
21. Korablewa N. P., Mietlickij L. W.: Wlijanie regulatorow rosta na sintez nukleinowych kislot w rastieniach. Usp. Sowr. Biol., 76, 431—446, 1973.
  22. Leshemy Y.: Abscisic acid as a ribonuclease promotor. Physiol. Plant. 24, 85—89, 1971.
  23. Ładyrzenskaja E. P., Korablewa N. P., Mietlickij L. W.: Izmienienieje sinteza RNK w meristemach klubnij kartofelja pod dejstwem prirodnych regulatorow rosta. Fizjol. Rast. (Moskwa), 23, 765—772, 1976.
  24. McWha J. A.: Changes in abscisic acid levels in developing grains of wheat (*Triticum aestivum* L.). J. Exp. Bot., 26, 823—827, 1975.
  25. Michniewicz M., Galoch E.: The role of vanillin and p-coumaric acid in the growth of scotch pine seedlings. Acta Soc. Bot. Pol., 43, 273—281, 1974.
  26. Milborrow B. V.: The chemistry and physiology of abscisic acid. Ann. Rev. Plant Physiol., 25, 259—307, 1974.
  27. Milborrow B. V., Robinson D. R.: Factors affecting the biosynthesis of abscisic acid. J. Exp. Bot., 24, 547—548, 1973.
  28. Mondal H., Biswas B.: Abscisic acid as an inhibitor of RNA synthesis by RNA polymerase *in vitro*. Plant and Cell Physiol., 13, 965—970, 1972.
  29. Nikołajewa M. G., Poljakowa E. N., Ljaszczuk A. I., Ljaszczuk S. F., Worobjewa N.: Fizjologiczieski aktywnyje wieszcziestwa klie-na tatarskowo w prociesie formirowanija siemjan w wstuplienija w sostojanie pokoja. W: Imminitiet i pokoj rastienij. Izd. Nauka, Moskwa 1972.
  30. Pilet P.: The effect of auxin, abscisic acid on the metabolism of RNA. J. Exp. Bot., 21, 446—451, 1970.
  31. Quebedeaux B., Sweetser P. B., Rowell J. C.: Abscisic acid levels in soybean reproductive structures during development. Plant Physiol., 58, 363—366, 1976.
  32. Radley M.: The development of wheat grain in relation to endogenous growth substances. J. Exp. Bot., 27, 1009—1021, 1976.
  33. Rasmussen J. A., Einhelling F. A.: Synergistic inhibitory effects of p-coumaric and ferulic acids on germination and growth of grain sorghum. J. Chem. Ecol., 3, 197—206, 1977.
  34. Rotkiewicz D., Kozłowska H., Świątek L.: Związki fenolowe w niektórych odmianach rzepaków (*B. napus*) uprawianych w Polsce. Hod. Roślin, Aklim. Nasien., 20, 447—454, 1976.
  35. Rudnicki R., Hammond R. K., Bukovac M. J.: Endogenous plant growth substances in developing fruit of *Prunus cerasusu*. II. Levels of extractable para coumaric acid in the pericarp. J. Amer. Soc. Hortic. Sci., 98, 225—229, 1973.
  36. Sondheimer E., Galson C., Tinelli E., Walton D. C.: The metabolism of hormones during seed germination and dormancy. IV. The metabolism of (S)-2-<sup>14</sup>C-abscisic acid in ash seed. Plant Physiol., 54, 803—808, 1974.
  37. Walton D. C., Dorn B., Fey J.: The isolation of an abscisic metabolite, 4'-dihydrophaseic acid, from non-imbibed *Phaseolus vulgaris* seed. Planta, 112, 87—90, 1973.
  38. Wareing P. F., Saunders P. F.: Hormones and dormancy. Ann. Rev. Plant Physiol., 22, 261—288, 1971.
  39. Zapromietow M. N.: Osnowy biochimii fenolnych sojedinieni. Izd. Wysszaja Szkoła, Moskwa 1974.