

Biochemiczne regulatory kiełkowania nasion

Część I. Inbibitory kiełkowania nasion

Studia nad kiełkowaniem nasion mają duże znaczenie dla produkcji rolniczej. Zarówno nasiennictwo i przechowalnictwo, jak i hodowla i aklimatyzacja roślin zainteresowane są rozwojem badań nad biologią kiełkowania.

Duży postęp w tej dziedzinie nastąpił z chwilą wykrycia i zastosowania tzw. substancji wzrostowych, stymulujących zarówno kiełkowanie, jak i wzrost poszczególnych części rośliny. Odkrycia stymulatorów wzrostu dokonano w początkach naszego stulecia przez dwóch niezależnie od siebie badaczy — Rosjanina Chołodnego i Holendra Wentego. Odkrycie to pozwoliło Wentemu na ogłoszenie nowej teorii, według której wzrost komórki należało rozumieć jako wprost proporcjonalny do zawartości w niej substancji wzrostowych, ograniczony jedynie zapasami materiałów budowlanych. Okazało się jednak bardzo szybko, że ograniczenie wzrostu jedynie do dwóch czynników nie może być we wszystkich wypadkach wystarczające. Musiano zacząć poszukiwania i innych czynników wpływających na wzrost. Tak np. pąk lub nasienie bogate w substancje zapasowe i substancje wzrostowe nie zawsze jednak wykazują zdolności do wzrostu. Zwrócono wkrótce uwagę na pewne procesy korelacyjne, zachodzące u roślin.

Daje się mianowicie obserwować niejednokrotnie dużą współzależność wśród takich procesów, jak np. tworzenie się korzeni, regulacja wzrostu bocznych pąków, kwitnienie i tworzenie owoców itp. Badania nad wzrostem roślin posunęły się daleko naprzód od momentu zainteresowania się tzw. substancjami hamującymi lub inaczej mówiąc inhibitorami wzrostu. Chociaż początki badań nad tym zagadnieniem mają już swą dość odległą historię, to jednak prawdziwe zainteresowanie się substancjami hamującymi przypada dopiero na lata ostatnie.

Inhibitory i stymulatory wzrostu zostały na wniosek American Society of Plant Physiologists ujęte wspólnym mianem — regulatorów wzrostu.

Regulatory wzrostu dadzą się ogólnie, z punktu widzenia biologicznego, podzielić na dwie duże grupy — na substancje aktywne pochodzenia obcego, zewnętrznego, znajdujące coraz szersze zastosowanie w praktyce rolniczej, ogrodniczej i sadowniczej (jako tzw. stymulatory wzrostu, herbicydy, defolianty itp.) oraz takie substancje czynne, które syntetyzowane są przez organizm roślinny. Tym ostatnim można by nadać wspólną nazwę — biochemicznych regulatorów wzrostu.

W artykule niniejszym zajmiemy się substancjami czynnymi pochodzenia naturalnego i to prawie wyłącznie tymi, które odgrywają jakąś rolę w procesie kiełkowania nasion.

Naturalne substancje hamujące wzrost znajdują się przede wszystkim w tych organach rośliny, które przechodzą okres spoczynkowy, jak nasiona, owoce, pąki.

Badaniem nad przyczynami hamowania kiełkowania niektórych nasion zaczęto zajmować się już na długo przed odkryciem substancji wzrostowych. Jest np. bardzo ciekawe, że hamujące działanie soczystego miąższu owoców znane było już przez Alberta Magnusa (1193 — 1280). Dopiero jednak u schyłku ubiegłego wieku w 1894 r. J. Wiesner odkrył w soczystych owocach (jabłka i gruszki) substancje hamujące. Substancjami tymi zajął się bliżej w 1934 r. Köckemann (5) i nadał im nazwę substancji blastokolinowych od greckich słów: *blastanēin* — kiełkować i *cholyein* — przeszkadzać.

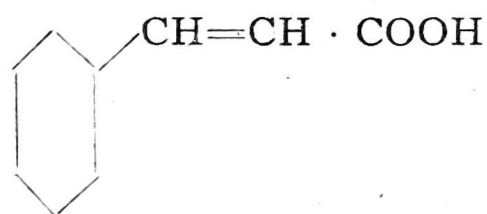
Köckemann pokroił jabłko na cienkie plasterki i w ciągu 48 godz. ekstrahował je eterem w celu wydzielenia substancji hamujących. Po odparowaniu eteru oczyścił jasno żółtą pozostałość za pomocą eteru naftowego. Tak oczyszczona substancja była łatwo rozpuszczalna w wodzie i eterze, wytrzymywała wysoką temperaturę i łatwo ulegała utlenianiu.

Warto zaznaczyć, że siłę substancji hamujących oznacza się od czasów Wiesnera za pomocą testów nasion rzeżuchy (*Lepidium sativum*).

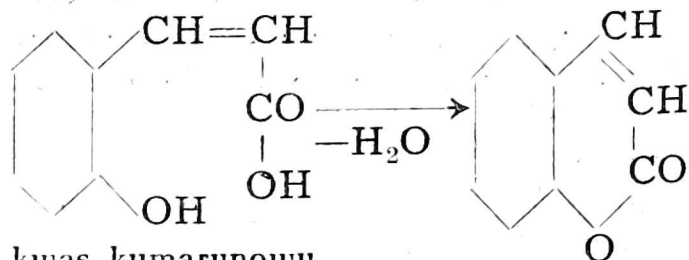
Substancje blastokolinowe, z punktu widzenia swej budowy, nie stanowią jakiegś jednorodnej grupy chemicznej. Kuhn i Moewius oraz ich współpracownicy (8) stwierdzili, że duży wpływ hamujący na kiełkowanie nasion oraz rozwój innych części roślin, pozostających w spoczynku, wywierają nienasycone laktony (estry wewnętrzne). Substancje te, wśród których szczególnie silnie działa kumaryna (Mayer i Evenari) (7), hamują jednocześnie wzrost i są uważane za substancje antagonistyczne do substancji wzrostowych.

Prócz wyżej wymienionej kategorii związków chemicznych istnieje duża ilość innych substancji, które już w niewielkich stężeniach hamują kiełkowanie (Schmidt) (13). Takie np. substancje, jak HCN, etylen, mocznik, kwasy organiczne i alkaloidy są substancjami hamującymi. Badania Eulera (1946) wykazały również podobne działanie saponin i glikozydów naparstnicy (*Digitalis*). Substancje te hamują wzrost korzonków kiełków jęczmienia i rzeżuchy, nie wpływając zupełnie na koleoptile.

Inni badacze, jak np. cytowany już Köckemann, przypuszczają, że substancje blastokolinowe zbliżone są do kwasu maleinowego ($\text{COOH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$) i do etylenu. Istnieją przypuszczenia, że wiele substancji hamujących wskutek pewnych przemian chemicznych staje się substancjami aktywującymi kiełkowanie, i że właśnie na tym procesie polega gotowość nasion do kiełkowania (Veldstra i Havinga) (18). Także kumaryna stoi w ścisłym związku z substancjami wzrostowymi. Powstaje ona mianowicie z kwasu orto-oksy-ciscynamonowego, który sam jest aktywatorem wzrostu.



kwas cynamonowy



kwas kumarynowy

(orto-oksy-ciscynamonowy)

kumaryna

Działanie hamujące nienasyconych laktonów przebiega poprzez rozbicie pierścieni laktonowych. Podobne substancje hamujące jak w nasio-

nach występują także w znajdujących się w spoczynku pąkach i bulwach. Tak np. według Hemberga (3) w ziemniaku, a szczególnie w peridermie znajdują się substancje hamujące, które giną wraz z ukończeniem stanu spoczynku. Według Mołotkowskiego (9) przejście do spoczynku jesienno spowodowane jest nagromadzeniem się substancji hamujących w okresie intensywnej przemiany materii w czasie aktywnego okresu wegetacyjnego. Marth (1943) stwierdził, że im starszy jest pąk, tym głębszy jest jego stan spoczynku, tym mniejsza jest wrażliwość na kumarynę. Podobnie Libbert (6) wykazał, że wpływ kumaryny na kiełkowanie rzeżuchy zależy bardzo silnie od wieku nasion. Kiełkowanie w styczniu zebranych w jesieni nasion jest silniej hamowane niż w kilka miesięcy później. Nienasycone laktony hamują szczególnie silnie kiełkowanie fizjologiczne w pełni jeszcze nie dojrzałych nasion.

Ilościowy aspekt działania kumaryny jako inhibitora kiełkowania badał w 1953 r. A. M. Meyer. Badacz ten, poddając nasiona kiełkowaniu w roztworze wodnym kumaryny o różnym stężeniu, stwierdził, że im większe jest stężenie kumaryny w roztworze, tym więcej jej przenika do nasion i tym słabsze jest ich kiełkowanie. Nasiona posiadają zdolność rozkładania kumaryny, ale jest ona ograniczona i wyczerpuje się. Wyciągi z nasion suchych i kiełkowanych w wodzie szybciej rozkładają kumarynę niż wyciągi z nasion, które kiełkowały w 20% roztworze kumaryny. Prawdopodobnie zużywa się jakiś produkt metabolizmu lub ulega inaktywacji jakiś system enzymatyczny, który bierze udział w rozkładzie kumaryny.

Zagadnienie inhibitorów kiełkowania nasion łączy się ze znaną u wielu roślin zależnością kiełkowania od światła. Istnieją pewne przypuszczenia, że w wypadku tym rola światła sprowadza się do rozkładu substancji hamujących. Zjawisko to jednak mimo usilnych badań nie jest jeszcze w dostateczny sposób poznane. Badania w tym kierunku są utrudnione, ponieważ światło może być czynnikiem zarówno hamującym, jak i aktywującym kiełkowanie. Nasiona wielu roślin kiełkują nieprawidłowo, o ile nie poddamy ich naświetleniu, podczas gdy kiełkowanie nasion innych roślin jest przez światło hamowane. Nasiona suche są z reguły niewrażliwe na światło i ciemność, wrażliwość ta powstaje dopiero po pobraniu przez nasiona wody, a więc po pewnym czasie od wyjścia nasion ze stanu spoczynkowego. Mechanizm działania światła możemy sobie wyjaśnić tylko wówczas, gdy uprzytomnimy sobie, że energia promienista dopiero po zaadsorbowaniu jej przez substancje wywołuje procesy chemiczne. Prawdopodobnie mamy w tym wypadku do czynienia ze zjawiskiem fotodynamicznym. Takie działanie fotodynamiczne zachodzi wówczas, gdy istnieje możliwość adsorpcji energii promienistej przez fluoryzujące substancje barwne. Z tego względu cenne jest stwierdzenie, że u *Phacelia tanacetifolia* w zakończeniu łupiny nasiennej od strony chalazy znajdują się substancje fluoryzujące. Kiełkowanie tych nasion, należących do kategorii nasion kiełkujących w ciemności, jest możliwe tylko w tym wypadku, o ile zakończenie łupiny nasiennej od strony, gdzie znajdują się substancje fluoryzujące, będzie zacienione.

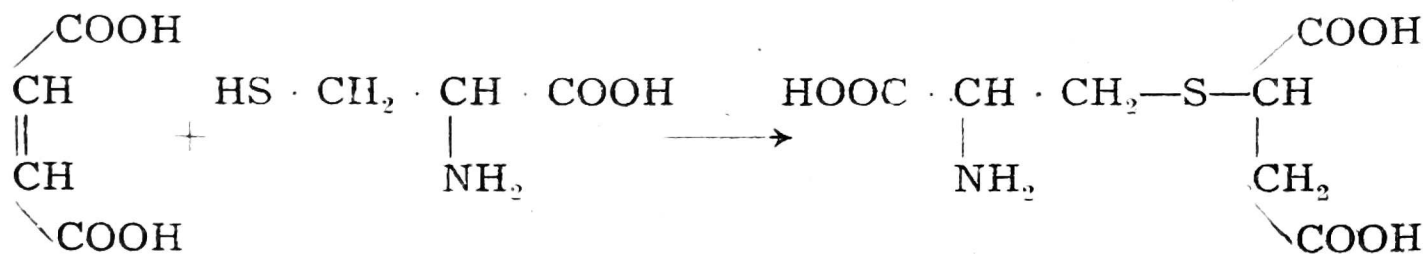
Substancje fluoryzujące i działające fotodynamicznie zostały wykryte w wielu różnych nasionach.

Z drugiej strony znane są obserwacje dotyczące działania światła na kiełkowanie nasion, których dokonał Nutile (11). Owoce sałaty (*Lactuca*), odmiany niewrażliwej na światło, poddane działaniu kumaryny stały się wrażliwe na światło. Eksperyment ten jest ciekawy z punktu widzenia znaczenia, jakie ma światło jako czynnik powodujący rozkład substancji hamujących.

Te dwie powyżej przytoczone obserwacje nie stoją w stosunku do siebie w sprzeczności, gdy przypomnimy sobie, że substancje hamujące mogą łatwo przechodzić w substancje aktywujące i na odwrót. Procesy tego rodzaju odgrywają prawdopodobnie dużą rolę w czasie tzw. wtórnego dojrzewania nasion. Sam mechanizm działania substancji hamujących nie jest jeszcze dokładnie wyjaśniony.

Według Thimanna i Bonnera (1941) (15) działanie np. kumaryny polega na blokowaniu biorących udział we wzroście enzymów, które posiadają grupy sulfhydrylowe SH. Kumaryna poprzez oddziaływanie na enzymy o grupach sulfhydrylowych przerywa działanie wzrostowe. Wynikałoby więc, że substancje hamujące nie oddziałują antagonistycznie na substancje wzrostowe, ale wywierają pośredni wpływ na procesy wzrostu.

Podobne poglądy wyrażają Elliot i Leopold (1953) w pracy swej, dotyczącej inhibitorów kiełkowania znajdujących się w ziarnach owsa. Stwierdzili oni mianowicie w okrywie nasiennej owsa występującą substancję, która hamuje kiełkowanie oraz wzrost odcinków etiolowanych pędów grochu. Substancja ta inaktywuje również działanie alfa — i beta — amylazy. Jest ona odporna w ciągu 20 minut na działanie temp. 100°C. Inhibitor ten natomiast traci swą aktywność w obecności papainy. Przypuszczalnie działanie inhibitora odnosi się do grup sulfhydrylowych, gdyż glutation i dwutiopropanol przywracają aktywność amylaz. Sam mechanizm działania inhibitorów na grupy sulfhydrylowe przebiega prawdopodobnie tak, jak mechanizm działania hydrazynu kwasu maleinowego (syntetyczna, fizjologicznie czynna substancja) z enzymami roślin zawierającymi grupy sulfhydrylowe. W tym wypadku podwójne wiązanie hydrazynu, aktywowane grupami karboksylowymi, reaguje z grupami sulfhydrylowymi. Reakcje tego typu łatwo przebiegają z kwasem maleinowym:



Na temat biologicznego znaczenia substancji hamujących kiełkowania nasion nie możemy jeszcze w tej chwili wiele powiedzieć, bez wątpienia jednak znaczenie ich jest wielorakie. Substancje blastokolinowe odgrywają np. dużą rolę w procesach wtórnego dojrzewania. Procesy te można przedstawić jako rozbitcie substancji hamujących. Typ nasion o zawartości substancji blastokolinowych wymaga kilkumiesięcznego spoczynku przy stosunkowo niewysokich temperaturach.

Zagadnienie substancji hamujących kiełkowanie jest nie tylko ważne z punktu widzenia procesów wtórnego dojrzewania, ale również ma duże

znaczenie z punktu widzenia wpływu czynników zewnętrznych na kiełkowanie nasion.

Interesujący jest np. fakt wpływu ziemi i płynącej wody na kiełkowanie nasion *Vaccaria pyramidata* (Birris) i *Kochia indica* (Shishiny i Thoday) (14). Nasiona te kiełkują tylko w glebie, nie kiełkują natomiast (niezależnie od warunków świetlnych) na bibule filtracyjnej. Gleba nie działa w tym wypadku bezpośrednio stymulująco dzięki zawartości jakichś określonych substancji, ale dzięki własnościom adsorbcyjnym, adsorbującej substancje hamujące kiełkowanie zawarte w nasionach. Wniosek ten potwierdza doświadczenie wykonane z wodą przepływającą przez bibulę filtracyjną. Substancje hamujące, aby mogły być łatwo usunięte, muszą znajdować się w postaci łatwo usuwalnej, albo być w formie gazowej.

Podobnie jak gleba działa węgiel, kolloidium i tlenek glinu — a więc wszystkie te adsorbenty, które są obdarzone dodatnim ładunkiem elektrycznym.

W ostatnich latach wyekstrahowano wiele substancji hamujących, które posiadają swą właściwość tylko w stosunku do nasion innego gatunku. Szczególnie wyraźne jest to „obce działanie“ wyciągów z tych nasion lub owoców, które posiadają olejki eteryczne. Wyciągi z tych nasion wpływają bardzo silnie na obniżenie siły kiełkowania i hamują wzrost korzonków nasion obcego gatunku, nie wpływając zupełnie na kiełkowanie nasion własnych.

Biologiczne znaczenie tych substancji blastokolinowych dla nasion własnych pozostaje jeszcze nie wyjaśnione. Być może, że spełniają one jakąś funkcję ekologiczną.

Pewne światło w tym kierunku rzucają prace Wintera i Bublitz (1, 16). Uczni ci stwierdzili mianowicie występowanie substancji hamujących w świerkowej i bukowej ściółce leśnej. W związku z tym warto również przypomnieć prace Wintera i Schönbecka (17) omawiające hamujący wpływ wyciągów wodnych ze słomy zbóż na kiełkowanie ziarna.

Niedawno ukazała się praca K. Mothesa i H. Kala (10) dotycząca zagadnienia umiejscowienia syntezy kumaryny w roślinie. Stwierdzili oni mianowicie na przykładzie nostrzyku (*Melilotus*), że związek ten jest syntetyzowany przez roślinę w korzeniach. Jest to tym ciekawsze, że, jak wiadomo, miejscem syntezy alkaloidów są również korzenie.

Na zakończenie wspomnę o pracy I. N. Konowałowa (4), dotyczącej doświadczeń nad podwyższeniem mrozoodporności roślin pod wpływem moczenia ich nasion w ekstraktach z roślin mrozoodpornych. Praca ta nie łączy się wprawdzie bezpośrednio z tematem niniejszego referatu, rzuca jednak pewne światło na biologiczną rolę inhibitorów kiełkowania. Konowałow w celu podwyższenia mrozoodporności lewkonii i kapusty moczył ich nasiona w wyciągach wodnych z liści bergenii (*Bergenia crassifolia* L.). Okazało się, że przy pewnych stężeniach ekstraktu wpływa on początkowo hamująco na kiełkowanie nasion, a zwłaszcza na ich system korzeniowy. Po kilkunastu jednak dniach wegetacji rośliny wyrównywały się z kontrolnymi i były bardziej wytrzymałe na działanie niskich temperatur.

Podobne prace wykonał G. A. Samygin (12). Działaniem hydrazylu kwasu maleinowego (30% preparat) w koncentracji 0,1—1% wywołał on zahamowanie wzrostu i podwyższenie mrozoodporności cytryn.

Z prac powyższych można by dopatrywać się pewnej analogii w działaniu biologicznym inhibitorów kiełkowania do roli, jaką spełniają niskie temperatury w procesach życiowych zbóż ozimych. Wykazanie słuszności tej hipotezy miałyby bez wątpienia duże znaczenie zarówno naukowe, jak i praktyczne.

LITERATURA

1. Bublitz: *Naturwissenschaften*, 15, 1953.
2. Evenari: *Bot. Rev.* 15, 1949.
3. Hemberg: *Physiologia Plantarum* 5, 1952.
4. Konowałow I. N.: *Dokłady Akad. Nauk SSSR*, 101, 4, 1955.
5. Köckemann A.: *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 52, 1934.
6. Libbert E.: *Planta* 44, 3, 1954.
7. Mayer and Evenari: *Journal of Exper. Bot.* 3, 1952.
8. Moewusi wsp.: *Z. Naturforsch.* 6 b, 1951.
9. Mołotkowski j.: *Dokłady Akad. Nauk SSSR*, 68, 1948.
10. Mothes K. und Kala H.: *Naturwissenschaften*, 6, 1953.
11. Nutile: *Plant Physiology*, 20, 1945.
12. Samygin G. A.: *Dokłady Akad. Nauk SSSR*, 95, 411, 1954.
13. Schmidt: *Helvet. Chim. Acta*, 27, 1944.
14. Shishiny and Thoday: *Journal of Exper. Bot.*, 4, 1953.
15. Thimanni Bonner: — wg Pohl R.: *Naturwissenschaften*. 1, 1952.
16. Winter und Bublitz: *Naturwissenschaften*, 15, 1953.
17. Winter und Schönbeck: *Naturwissenschaften*, 5, 1953.
18. Veldstra et Havinga: *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, 62, 1943.