

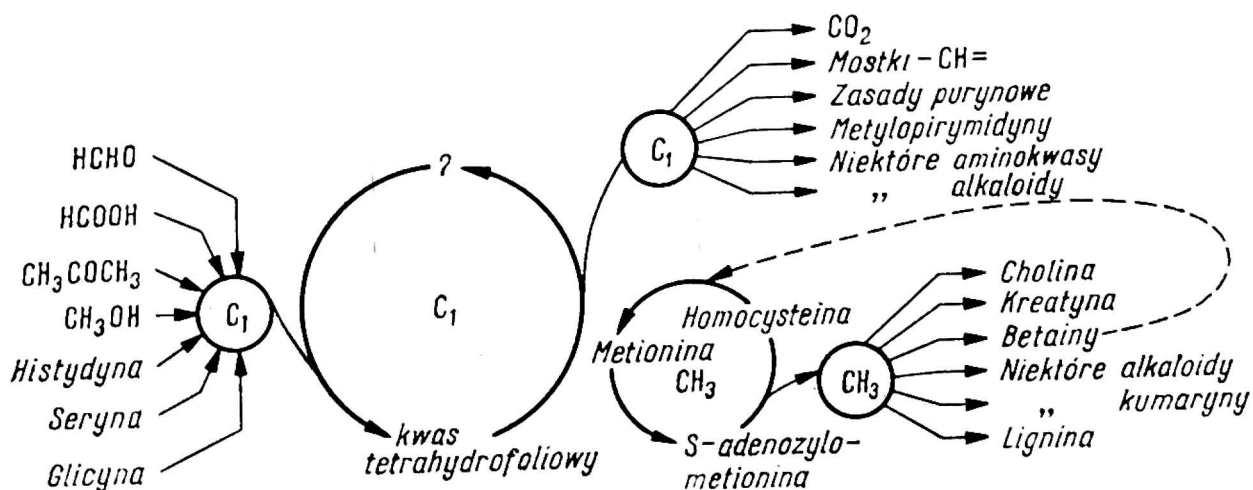
FIZJOLOGICZNE DZIAŁANIE KUMARYNY NA ROŚLINY ZDROWE I OPANOWANE CHOROBYMI WIRUSOWYMI

Antonina Mikulska-Macheta

Katedra Botaniki WSR, Kraków

WYSTĘPOWANIE I WŁAŚCIWOŚCI KUMARYNY

W organizmach roślinnych obok zasadniczych procesów metabolicznych, zachodzą również przemiany o charakterze bardziej wyspecjalizowanym. Tą drogą powstałe substancje są wynikiem wtórnych przemian związków podstawowych i określa się je mianem związków swoistych [6]. Biosyntezę ważniejszych związków swoistych występujących w roślinach wyższych przedstawia rys. 1. O roli tych związków w procesach życiowych roślin zdrowych a tym bardziej zainfekowanych patogenami wiemy na ogół niewiele. Jeszcze nie tak dawno uważano, że występowanie większości metabolitów jest wynikiem braku zdolności wydzielniczych u roślin [3]. Do mało poznanych związków swoistych w świecie roślin należą kumaryny. Zainteresowanie tą grupą substancji sięga odległych już czasów. Pierwsze bowiem wiadomości dotyczące oddziaływania fizjologicznego możemy znaleźć w pracy Klebsa pochodzącej z 1896 r. Biosyntezą kumaryny zaczęto właściwie interesować się dopiero w latach pięćdziesiątych, przyjmując jako obiekt obserwacji gatunki w rodzaju *Melilotus*, *Hierochloë* i *Lavandula* [3, 4, 44]. W literaturze naukowej



Rys. 1. Schemat udziału jednostek jednowęglowych w syntezie ważniejszych substancji swoistych (wg Blaima)

pochodzącej z ostatnich lat coraz częściej można stwierdzić związek badań nad kumaryną z badaniami nad retardantami wzrostu i rozwoju roślin [1, 10, 14, 15, 21, 29, 41, 43]. Niewątpliwie zainteresowanie kumaryną wypływa z rozpowszechnienia wśród roślin jak i silnie zaakcentowanego działania fizjologicznego. Obecność związków kumarynowych została dotychczas stwierdzona w ok. 150 roślinach należących do 34 różnych rodzin [3, 4, 20]. Wśród nich jest szereg o dużym znaczeniu gospodarczym jak: *Gramineae*, *Rosaceae*, *Papilionaceae*, *Umbelliferae*, *Solanaceae* czy *Compositae*. Spośród związków kumarynowych szeroko rozpowszechnione są w roślinach: kumaryna, umbelliferon, eskulentyna, dafnina i skopoletyna.

Najprostszym w swej budowie chemicznej związkiem kumarynowym jest kumaryna $C_9H_6O_2$. Wywodzi się z bardzo rozpowszechnionego wśród roślin kwasu aromatycznego, jakim jest kwas cynamonowy. Kumaryna jest nienasyconym laktonem kwasu *cis-orto* — hydroksycynamonowego, zwanego także kwasem kumarynowym. Zaznaczyć należy, że *in vivo* kumaryna występuje zasadniczo pod postacią β glikozydu kwasu kumarynowego. W komórce roślinnej podlega on przemianie na kwas melilotowy i szereg innych pochodnych, dzięki czemu aktualnie występuje w komórkach w znikomo małych ilościach [20]. Fizjologiczne działanie kumaryny uzależnione jest wyłącznie od obecności pierścienia laktonowego. Otwarcie lub uwodornienie tego pierścienia znosi całkowicie to działanie. Stwierdzono również, że w tym związku chemicznym nie ma specjalnej grupy odpowiedzialnej za jego aktywność inhibicyjną czy stymulacyjną [44]. Kumarynę spotyka się często w roślinach, głównie w śladowych ilościach. W niektórych gatunkach może być gromadzona i stanowi wówczas 4—5% suchej masy. Synteza kumaryny została stwierdzona zarówno w nasionach, korzeniach jak i częściach nadziemnych [4, 7]. W naturalnych warunkach synteza zlokalizowana jest głównie w młodych liściach. Poziom związków kumarynowych w roślinie jest uzależniony od stadium vegetacyjnego a nawet od pory dnia. Fakt powszechnego występowania kumaryny w roślinach, w tym również w nasionach nasuwa przypuszczenie, że jest to substancja sprawująca kontrolę nad określonymi funkcjami w roślinie. Zastosowanie do badań znakowanej kumaryny C^{14} a także znakowanego fosforu P^{32} w obecności kumaryny dowiodły, że jest ona czynna metabolicznie [33, 41]. Fizjologiczna aktywność tego związku jest tym słabsza im niższa temperatura otoczenia a działanie jego gwałtownie wzrasta dopiero po przekroczeniu $26^{\circ}C$ [21]. Synteza kumaryny lub jej ścisłych prekursorów pozostaje pod kontrolą genetyczną [44]. Niską jej zawartość w roślinie niektórzy badacze uzależniają od pojedynczego, recesywnego genu kontrolującego syntezę.

FIZJOLOGICZNE DZIAŁANIE KUMARYNY NA ROŚLINY ZDROWE

Niemal od pół wieku kumarynę uważa się za jeden z najaktywniejszych, naturalnie występujących inhibitorów o specyficznym działaniu na fazę kiełkowania [8, 11, 17, 23, 29, 31, 32, 33, 34, 39, 43]. Udowodniony został hamujący wpływ kumaryny na wzrost kielków pszenicy [18, 19, 21, 22], kielków bulw ziemniaka [38] nasion jarmużu i kalafiora [23, 29]. Wrażliwość na kumarynę wykazują nasiona zarówno roślin jednoliściennych — pszenica, jęczmień jak i dwuliściennych — sałata czy cykorja [30].

Kumaryna charakteryzuje się również specyficznym działaniem na fazę wzrostu roślin [1, 4, 5, 10, 13, 18, 24, 34] i jest inhibitorem wzrostu. Efekt działania uzależniony jest od długości okresu poddawania rośliny działaniu kumaryny i od wieku rośliny. Im roślina starsza, tym efekt działania na nią jest mniejszy [13, 27]. Kumaryna ewidentnie utrudnia wbudowywanie znakowanego fosforu do tkanek liści *Datura stramonium* [26]. Inhibicja jest mniej więcej proporcjonalna do koncentracji kumaryny. Stwierdzony również został wpływ kumaryny na zawartość azotu w roślinie [2]. Ponadto kumaryna hamuje syntezę antocyjanu [37], prostowanie hypokotyli [10], zanik chlorofilu i kwasu rybonukleinowego w tkankach jarmużu i kukurydzy w ciemności [24, 25]. Kumaryna zastosowana w dużym stężeniu hamuje mitozy w komórkach korzeni *Allium cepa* i *Lilium longiflorum*. Uszkodzeniu ulegają chromosomy zarówno w komórkach spoczynkowych jak i dzielących się. Kumaryna wpływa na uwodnienie roślin, obniżając przepuszczalność wodną protoplazmy [3, 5]. To fizjologiczne działanie, jak stwierdził Blaim [3, 5], polega przede wszystkim na regulacji przepuszczalności samej plazmy a nie błon komórkowych.

Interesujący jest fakt silnego reagowania roślin na kumarynę zaraz w pierwszym stadium po zetknięciu się z nią. Następnie bowiem daje się zauważyć jakby naturalizacja rośliny w nowych warunkach, przy czym opóźnienie wywołane inhibitorem po pewnym czasie może zostać nadrobione i rośliny traktowane kumaryną mogą dorównać roślinom kontrolnym.

Poznane zostały inhibitorowe właściwości kumaryny, a także zjawisko potęgowania i osłabiania tych właściwości przez współdziałanie kumaryny z regulatorami i substancjami czynnymi w procesach fizjologicznych. Spotęgowanie inhibitorowych właściwości kumaryny można wywołać działaniem retardantów wzrostu na przykład Fosfonu D czy też B 995 [23, 29, 42]. Opisane działanie retardantów na właściwości kumaryny może mieć jednak charakter selektywny, uzależniony od gatunku rośliny. Podobnie zresztą rzecz przedstawia się w odniesieniu do związków odwracających hamujące działanie kumaryny na rośliny. Do substancji o podanym wyżej działaniu można zaliczyć B alaninę [33], glukozo-1-fosforan [35], kwas giberelinowy (GA) [32], kinetynę i chlorek

(2-chloroetylo) trójmetyloaminowy (CCC) w połączeniu z działaniem światła czerwonego [12].

Kumaryna dawkowana w niskich stężeniach może wywołać efekty stymulujące [39]. Pobudzająco wpływa na nasiona jęczmienia [17], włośnicy, ryżu i innych roślin. Stymulujący wpływ zaznaczył się również na korzenie się roślin, na aktywność kambium i wzrost liści [17, 19]. Neumann [40] stwierdził 2 do 4-krotny wzmożony wzrost wycinków hypocotyli słonecznika po traktowaniu ich wodnym roztworem kumaryny. Jak okazało się jest to zjawisko powszechne, gdyż kumaryna stymuluje wzrost wydłużeniowy siewek zarówno roślin jednoliściennych jak i dwuliściennych [15, 40, 41]. Pod wpływem kumaryny wzrasta również o 20—30% intensywność oddychania młodych tkanek. Natomiast tkanki już nie rosnące wykazywały jeszcze silniejsze spotęgowanie oddychania nawet do 200% z równoczesną obniżką pobierania fosforu [16, 24]. Przypuszcza się, że przyczyna tkwi we wzmożonej syntezie wzbogaconego w uracyl kwasu rybonukleinowego. Kumaryna posiada również zdolność indukowania wrażliwości roślin i nasion na światło [30, 43].

WPLYW KUMARYNY NA ROŚLINY OPAŃOWANE INFEKCJĄ WIRUSOWĄ

Zarówno kumaryna jak i jej pochodne w większej ilości pojawiają się w stanach patologicznych organizmów. Stany te mogą być wywołane niedoborem składników pokarmowych na przykład brakiem boru, infekcją grzybową, bakteryjną lub wirusową. Synteza związków kumarynowych pod wpływem patogena wiąże się z reakcją obronną roślin [9]. Pojawienie się tych związków w tkankach zainfekowanych wirusem u *Nicotiana tabaccum* czy *Solanum tuberosum* jest łatwe do wykrycia dzięki niebieskiej fluorescencji w świetle ultrafioletowym. Kumaryna zastosowana do badań nad rozwojem wiroz roślinnych wykazała ewidentną inhibicję rozmnażania się wirusa mozaiki tytoniu w obrębie tkanek gospodarza. Stopień inhibicji okazał się mniej więcej proporcjonalny do stężenia kumaryny zastosowanej w postaci roztworu wodnego. Autorzy tych badań sugerują fakt, że inhibicja jest indukowana być może przez metabolizm komórek normalnych, które nie podległy infekcji. Z drugiej strony stwierdzają, że synteza wirusa jest związana z pojawieniem się kumaryny jako komponenta w zakażonej roślinie co wskazuje na powiązanie między syntezą wirusa w komórce i substancjami czynnymi w metabolizmie [28]. Z obserwacji nad infekcją tytoniu ziemniaczanym wirusem X (*Solanum virus 1* Smith) w obecności kumaryny wynika, że inhibujące właściwości kumaryny wydają się być uzależnione od odmiany, tym samym inhibitor ten może działać wybiórczo [36].

Większość związków inhibitorowych wpływa na samą infekcję, niektóre tylko wpływają na mnożenie się wirusów w tkankach gospodarza. Ta ostatnia grupa jest najistotniejsza z praktycznego punktu widzenia,

gdyż mogłaby rzucić światło w miarę poznawania mechanizmu działania na syntezę wirusów. Być może do tej grupy należy kumaryna i jej pochodne.

W świetle przytoczonych w największym skrócie danych staje się oczywiste, że działanie kumaryny w organizmie roślinnym ze względu na specyfikę należy rozpatrywać jako jeden z regulatorów, wpływających głównie na wzrost i rozwój obok auksyn, kinin, giberelin i nie zidentyfikowanych jeszcze składników endogennych inhibitorów i stymulatorów. Większość efektów hamujących wywołanych przez kumarynę, może być wytłumaczona tym, że zapobiega ona rozpadowi inhibitorów wewnętrznych lub blokuje syntezę stymulatorów. Przesuwa równowagę na korzyść inhibitorów, a tym samym indukuje pośrednio stan spoczynku nasion i hamuje wzrost. Działanie kumaryny w roślinie związane jest ze stymulacją wytwarzania etylenu, który może działać toksycznie [39]. Ta interpretacja wskazywałaby na pośredni a nie bezpośredni wpływ na roślinę. Mechanizm działania kumaryny tak na organizm rośliny zdrowej jak też opanowanej patogenami nie został ostatecznie rozszyfrowany. Między innymi wysuwane jest przypuszczenie, że ma on charakter enzymatyczny. Zwraca się nawet uwagę na tę substancję jako wykazującą właściwości witaminy P.

LITERATURA

1. Audus L. J.: Plant Growth Substances. London 1959, s. 88—114
2. Bachman S., Szopa I. S.: Wpływ kwasu B-indoliloctowego, chlorku trójmetylochloreoetyloamoniowego (CCC) i kumaryny na zawartość azotu i pobieranie tlenu w kiełkującym ziarnie kukurydzy. II Symp. Regulatory wzrostu roślin, Toruń, 1963
3. Blaim K.: Związki kumarynowe i ich działanie fizjologiczne. Kosmos 1957, z. 3, s. 243—253
4. Blaim K.: Zum Problem der Bildungsstätte für Cumarin bei *Melilotus albus*, Naturwissenschaften 1960, t. 47, s. 206—207
5. Blaim K.: Wpływ kumaryny na pobieranie wody przez ziarna pszenicy oraz jej działanie na wzrost korzonków i koleoptyli. Roczn. Nauk rol. 1960, ser. A. t. 81, s. 401—413
6. Blaim K.: Swoiste substancje roślin uprawnych. Warszawa 1965
7. Cleland R.: Evidence on the site of action of growth retardants. Pl. Cell. Physiol. 1965, z. 6, s. 7—15
8. Evenari M.: The physiological action and biological importance of germination inhibitors. Symp. Soc. exp. Biol. 1957, z. 11, s. 21—43
9. Farkas G. L., Kiraly Z.: Role of phenolic compounds in the physiology of plant diseases and disease resistance. Phytopath. Z. 1962, t. 44, s. 105—150
10. Goodwin R. H., Taves C.: The effect of coumarin derivatives on the growth of *Avena* roots. Ann. J. Bot. 1950, t. 37, s. 224—231
11. Ishikawa S.: A note on the effects of coumarin on the germination of seeds. Kuamoto J. Sci. 1955, z. 2, s. 97—103
12. Khan A. A., Tolbert N. E.: Reversal of inhibitors of seed germination by red light plus kinetin. Physiol. Plant. 1965, t. 18, s. 41—43

13. Knypl J. S.: Inhibitory effect of coumarin vapours on the growth of Burley seedlings. *Naturwissenschaften* 1960, t. 47, s. 524
14. Knypl J. S.: A biological activity of coumarin. Proc. 2-nd Symp. Plant Growth Regulations. Toruń 1963
15. Knypl J. S.: Characteristic features of the coumarin induced growth. *Planta* 1964, t. 51, s. 352—360
16. Knypl J. S.: Coumarin — induced respiration sunflower. *Physiol. Plant.* 1964, t. 17, s. 771—778
17. Knypl J. S.: The coumarin induced stimulation of germination and growth. *Naturwissenschaften* 1964, t. 51, s. 117—118
18. Knypl J. S.: Dependence of indylo-3-acetic acid and coumarin induced growth an ribonucleic acid and protein synthesis. *Nature* 1965, t. 206, s. 844—846
19. Knypl J. S.: Biologiczna czynność kumaryny. Uniwersytet Łódzki 1965. Rozprawa doktorska
20. Knypl J. S.: Naturalne i syntetyczne regulatory wzrostu i rozwoju roślin I. Kumaryna. *Post. Nauk rol.* 1965, z. 6, s. 31—50
21. Knypl J. S.: Naturalne i syntetyczne regulatory wzrostu i rozwoju roślin II. *Post. Nauk rol.* 1966, z. 5, s. 49—78
22. Knypl J. S.: Growth retardans in relation to the germination of seeds. *Acta Soc. Bot. Pol.* 1967, t. 36, s. 235—250
23. Knypl J. S.: Kinetin reversal of the synergistic inhibitory effect of 2, 4-dichlorobenzyl-tributylphosphonium chloride and coumarin on the germination of *Brassica oleracea* L. var. *acephala* seeds. *Biol. Plant.* 1967, z. 9, s. 212—221
24. Knypl J. S.: Coumarin and indolo-3-acetic acid induced growth and respiration in sunflower as effected by 2-chloroethyl trimethylammonium chloride, actinomycin C₁ puromycin and diazouracil. *Acta Soc. Bot. Pol.* 1968, t. 37, s. 53—60
25. Knypl J. S.: Mechanizm działania retardantów wzrostu i kumaryny na starzenie się roślin. VII Zjazd PTB Wrocław 1969, s. 164
26. Knypl J. S.: Arrest of yollowing in senescing leaf discs of maize by growth retardants, coumarin and inhibitors or RNA and protein synthesis. *Biol. Plant.* 1970, z. 12, s. 199—207
27. Knypl J. S., Antoszewski R.: The influence of coumarin on the incorporation of P³² into the leaf-discs of *Datura stramonium*. *Naturwissenschaften* 1960, t. 47, s. 91
28. Knypl J. S., Gubański M.: The inhibitory effect of coumarin on the Tobacco leaf-discs. *Naturwissenschaften* 1960, t. 47, s. 308—309
29. Knypl J. S, Bilecka A., Słupek T.: Retardanty wzrostu i kiełkowanie nasion IV. *Rocz. Nauk rol.* 1969, ser. A, t. 95, s. 167—175
30. Maciejewska-Potapczykowa W.: Substancje wzrostowe roślin. Warszawa 1967, s. 488
31. Mayer A. M.: Quantative aspects of the behaviour of coumarin as a germination inhibitor. *Physiol. Plant.* 1953, z. 6, s. 413—424
32. Mayer A. M.: Joint action of gibberellic acid and coumarin in germination. *Nature* 1959, t. 181, s. 826
33. Mayer A. M., Evenari M.: The relation between the structure of coumarin and its derivatives, and their activity as germination inhibitors. *J. exp. Bot.* 1952, z. 3, s. 346—352
34. Mayer A. M., Poljakoff-Mayber A.: Coumarin and their role in growth and germination. Iowa Univ. Press. 1961, s. 735—749
35. Mayer A. M., Poljakoff-Mayber A.: The germination of seeds. Pergamon Press, Oxford 1963, s. 226

36. Mikulska-Macheta A.: Wpływ kumaryny na podatność liści tytoniu odmian Ambalema i White Burley na zakażenie wirusem X. (w przygotowaniu)
37. Misra G., Patnaik S. N.: Effect of coumarin on the germination and growth of rice seedlings. *Nature* 1959, t. 183, s. 989—990
38. Moewus F., Schader E.: Die Wirkung von Cumarin und Parasorbinsäure auf das Austreiben von Kartoffel-Knollen. *Z. Naturf.* 1951, z. 6, s. 112—115
39. Morgan P. W., Powell R. D.: Involment of ethylene in responses of etiolated bean hypocotyl stook to coumarin. *Plant Physiol.* 1970, t. 45, s. 553—557
40. Neumann J.: An auxin-like action coumarin. *Science* 1959, t. 129, s. 1675—1676
41. Neumann J.: The nature of the growth — promoting action of coumarin. *Physiol. Plant.* 1960, z. 13, s. 328—341
42. Reed D. J., Moore T. C., Anderson J. D.: Plant growth retardant B 995: a possible mode of action. *Science* 1965, t. 148, s. 1468—1471
43. Rejowski A., Grzesiuk S.: Naturalne inhibitory wzrostu i ich rola w życiu roślin wyższych. *Post. Nauk rol.* 1967, z. 1, s. 9—33
44. Scheibe A., Hülsmann G.: Über das Auftreten bitterstoffarm Pflanzen von *Melilotus albus* in der C₂ Generation nach Behandlung mit mutagen Chemikalien. *Naturwissenschaften* 1957, t. 44, s. 17—18

Антонина Микульска-Махета

ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ КУМАРИНА НА ЗДОРОВЫЕ РАСТЕНИЯ И ЗАРАЖЕННЫЕ ВИРУСНЫМИ БОЛЕЗНЯМИ

Резюме

Кумарин является веществом специфического физиологического действия. С одной стороны, это активный ингибитор роста и прорастания. Задержка роста наступает уже при концентрациях, при которых еще не влияет или оказывает очень незначительное влияние на прорастание. С другой стороны, кумарин в низких концентрациях ускоряет прорастание некоторых семян. На наличие кумарина чувствительны как семена однодольных растений, так и двудольных. Кумарин и его производные в больших количествах появляются в патологических состояниях организмов; таким образом, возникает предположение, что этот факт связан с защитной реакцией растений. Кумарин, примененный для исследований по инфекции растений вирусом мозаики табака, проявил эвидентную ингибицию вируса в пределах тканей хозяина. Исследования по замедлительным эффектам, вызванным кумарином, позволили сделать вывод о том, что он предотвращает распад внутренних ингибиторов или блокирует синтез стимуляторов, вырабатываемых эндогенно растениями.

Antonina Mikulska-Macheta

PHYSIOLOGICAL IMPACT OF COUMARIN ON HEALTHY PLANTS AND THOSE INFECTED BY VIRUS DISEASES

Summary

Coumarin is a substance with specific physiological action. On the one hand it is an active inhibitor of growth and germination. Inhibition in growth occurs already at concentrations, at which it does not affect yet or affects very slightly germination. On the other hand coumarin at low concentrations accelerates ger-

mination of certain seeds. Seeds of both mono- and dicotyledonous plants are susceptible to the presence of coumarin. Coumarin and its derivatives appear in quantity in pathological status of organisms what involves a supposition that this fact is connected with the defensive response of plants. Coumarin, used in studies on the infection of plants by the virus of tobacco mosaic, indicated an evident inhibition of virus within host tissues. Studies on the inhibiting effect caused by coumarin brought about a conclusion that it prevents break-up of internal inhibitors or blocks the synthesis of stimulators produced endogeneously by plants.