

## PODWYŻSZENIE WILGOTNOŚCI NASION OSŁABIA OBJAWY STRESU CHŁODNOWODNEGO PRZY KIEŁKOWANIU<sup>1</sup>

J. S. Knypl

Pracownia Regulatorów Wzrostu Roślin  
Uniwersytetu Łódzkiego, Łódź

### WSTĘPNE UWAGI TERMINOLOGICZNE

X Płynność nazewnictwa nasiennego zobowiązuje do precyzowania zakresu pojęciowego stosowanych terminów. Niżej wymienione określenia oznaczają w tej pracy co następuje:

Nasienie - jednostka rozsiewna /dispersal unit/ bądź siewna [3].

Kiełkowanie - zespół procesów inicjowanych w dojrzałym nasieniu przez swobodne uwodnienie w temp. powyżej minimum biologicznego, kończących się przebicciem korzonka zarodkowego przez otoczki nasienne.

Stres - stan napięcia, naprężenia bądź nie zrównoważenia w komórce, bądź organizmie roślinnym, powodowany przez czynniki stresogenne [7, 11].

Czynnik stresogeny - czynnik wywołujący stres.

Stres chłodnowodny - stres w nasieniu powodowany przez łączne działanie nadmiaru wody i niskiej temperatury. W literaturze anglosaskiej określa się go "stressem chłodzenia" /chilling stress/ z odniesieniem zarówno do kiełkujących nasion jak i roślin w fazach wzrostu wegetatywnego i generatywnego [11]. Znany jest również "stres wodny", powodowany przez pęcznienie nasion w wodzie o temp. pokojowej [7]; termin ten również odnosi się do całych roślin.

<sup>1</sup> Pracę tę przedstawiono na Sympozjum Biologii Nasion i Nasiennictwa /Puławy, 19-20.VI 1979/ pod tytułem: "Początkowa zawartość wody w nasionach roślin motylkowych determinuje stopień ich odporności na działanie niskich dodatnich temperatur.

Ponieważ stres chłodnowodny nie jest wywołany przez same sub-optymalne temperatury [5] i różni się od stresu wodnego, jest umotywowane wprowadzić do polskiej terminologii nasienniczej określenia "stres chłodnowodny" na określenie tego szczególnego stanu, jaki powodowany jest przez umieszczenie suchych nasion w chłodnej wodzie. Czynnikiem stresogennym jest więc nadmiar wody o temp. poniżej 15°C, a siedliskiem stresu - pęczniące nasienie bądź izolowany zarodek.

Istnienie stresu chłodnowodnego jest kwestionowane. Zdaniem Powella i Matthews'a [17] jest to stres wodny, powodowany przez rozrywanie membran cytoplazmatycznych wskutek gwałtownego wtargnięcia wody do komórek zarodka. Faktem jest jednak, iż uszkodzenia powstające podczas pęcznienia w niskich temperaturach są znacznie silniejsze niż przy pęcznieniu w temp. pokojowej [17] prawdopodobnie dlatego, iż w temperaturach poniżej 15°C następuje utwardzenie składnika lipidowego membran [22].

#### WSTĘP

Nasiona niektórych gatunków roślin po umieszczeniu w chłodnej wodzie przeżywają stres chłodnowodny, przejawiający się pękaniem liścieni, zahamowaniem kiełkowania, odpadaniem korzonka zarodkowego, opóźnieniem wzrostu, deformacjami morfologicznymi korzenia itp. Zjawisko to opisano dla nasion bawełny [2], fasoli półksiężycowatej [15], grochu [20], melona i papryki [4], soi [13] i in. [5]. Występowania objawów stresu nie stwierdzono, gdy nasiona w chwili umieszczenia ich w chłodnej wodzie były odpowiednio uwodnione [1, 8, 14, 16, 20]. Odpowiednie uwodnienie nasion soi można uzyskać przez ekspozycję w atmosferze nasyconej parą wodną /ekspozycja HRH/ [9]. Celem tej pracy było sprawdzenie, czy ekspozycja HRH może chronić nasiona innych gatunków roślin przed stresem chłodnowodnym.

#### MATERIAŁ I METODY

Obiektem analiz były nasiona bobu, grochu, łubinu, peluski i kukurydzy cukrowej, przechowywane w laboratorium przez 1-4 lata. Przed doświadczeniami nasiona eksponowano przez 5 dni w temp. 25°C w ekzykatorach z żelem krzemionkowym /ekspozycja LRH/ lub w azurowych koptach zawieszonych w ekzykatorach z wodą na dnie i zwitkiem bibuły filtracyjnej, zwiększającej powierzchnię parowania /ekspozycja HRH/. Pomiaru elektroprowadnictwa /EP/, kiełkowanie i wzrost przeprowadzano w temp. 10°C, jak opisano w sąsiedniej pracy [10]. Najważniejsze szczegóły stosowanych metod podano w przypisach do tabel.

## WYNIKI

Stosowane do badań nasiona zawierały 7,8-10,2% wody. Po 5-dniowej ekspozycji LRH i HRH wilgotność odpowiednio obniżała się do 6,6-9,3% lub podwyższała do 16,1-19,5% /tab. 1/.

Tabela 1

Zawartość wody w nasionach różnych gatunków roślin po 5-dniowej ekspozycji HRH i LRH w 25°C

Suchą masę nasion oznaczano po 48 h w 105°C

Gatunek	Wilgotność, procent suchej masy		
	t <sub>o</sub>	HRH	LRH
Lupinus luteus L.	8,5	19,2	7,0
Pisum arvense L.	10,2	19,5	9,3
Pisum sativum L. odm. Cud Ameryki	7,8	17,5	6,6
Vicia faba L. odm. Windsor	9,5	16,5	6,7
Zea mays L. odm. Golden Bantham	8,3	16,1	7,5
Zea mays L. odm. Złota karłowa	8,2	16,9	7,6

Tym zmianom wilgotności wyjściowej nasion z rodz. Papilionaceae towarzyszyła silna zmiana elektroprzewodnictwa wód nastoinowych, przy czym wzrost początkowej wilgotności powodował spadek EP. Zależność ta nie wystąpiła w przypadku ziarniaków kukurydzy /tab. 2/.

Tabela 2

Wpływ ekspozycji HRH i LRH na elektroprzewodnictwo /EP/ wód nastoinowych i kiełkowanie nasion w temp. 10°C

EP mierzono po 24 h moczenia nasion w wodzie 3-destylowanej /30 nasion w 150 ml/ schłodzonej do 10°C. Grupy po 40 nasion kiełkowano na bibule filtracyjnej zwilżonej 20 ml wody dest. przez 11 dni w temp. 10°C i ciągłym oświetleniu 4,6 W m<sup>-2</sup>. Różnice pomiędzy grupami HRH i LRH zaznaczono różnymi literami w ramach danego gatunku są istotne przy p = 0,05/test t - Studenta/.

Gatunek	EP, $\mu\text{S cm}^{-1}$		Procent kiełkowania	
	HRH	LRH	HRH	LRH
Lupinus luteus L.	290a	345b	95a	80b
Pisum arvense L.	315a	450b	94a	81b

cd. tabeli 2

Gatunek	EP, $\mu\text{S cm}^{-1}$		Procent kiełkowania	
	HRH	LRH	HRH	LRH
<i>Pisum sativum</i> L.	410a	590b	85a	70b
<i>Vicia faba</i> L.	1720a	2600b	90a	55b
<i>Zea mays</i> L. odm. Golden Bantham	150a	190b	53a	40b
<i>Zea mays</i> L. odm. Złota karłowa	95a	110b	33a	15b

Zwiększenie początkowej wilgotności powodowało wzrost odsetka nasion kiełkujących w 10°C /tabl. 2/. Nie szło za tym przyspieszenie wzrostu siewek kukurydzy /dane nie przedstawione/. Natomiast u wszystkich gatunków roślin motylkowych wstępna ekspozycja HRH korzystnie wpływała na wzrost siewek, zwłaszcza na wzrost korzenia /tab. 3, 4/, ponieważ zabieg ten łagodził ostrość objawów stresu chłodnowodnego. Siewki wyprowadzone z nasion eksponowanych LRH były w dużej mierze zdeformowane; kiełkowanie było słabe, niektóre nasiona po skiełkowaniu zamierały, co mogło być również spowodowane przez silny rozwój mikroflory. Natomiast po ekspozycji HRH liczba siewek żywotnych, tj. zdolnych do wzrostu w 10°C, zieleniejących, bez zniekształceń morfologicznych podwyższała się niekiedy ponad 2-krotnie w porównaniu z seriami LRH. Obniżał się również stopień porażenia siewek przez mikroorganizmy /dane nie przedstawione/.

Tabela 3

Wpływ ekspozycji HRH i LRH na wzrost siewek bobu, grochu i łubinu w 10°C

Warunki kiełkowania i wzrostu opisano w tabeli 2. Długość siewek mierzono po 11 dniach /łubin/ lub 18 dniach /bób i groch/. Siewka żywotna = siewka nie zdeformowana stresem chłodnowodnym.

Ekspozycja	Procent siewek żywotnych	Hypokotyl, mm	Korzeń, mm
<i>Lupinus luteus</i> L.			
HRH	90	26,9b	40,3b
LRH	46	17,2a	20,0a
<i>Pisum sativum</i> L.			
HRH	81b	4,5b	12,1b
LRH	18a	2,2a	9,3a
<i>Vicia faba</i> L.			
HRH	80b	28,6b	31,7b
LRH	55a	12,9a	22,1a

Tabela 4

Wpływ ekspozycji LRH i HRH na kiełkowanie nasion i wzrost siewek peluszki w 10°C

Doświadczenia przeprowadzono jak opisano w tabeli 2, w ciemności. Długość siewek mierzono po 12 dniach; 0 - nie eksponowana kontrola.

Ekspozycja	Czas do skiełkowania 75% nasion, dni	Hypokotyl, mm	Korzeń, mm
HRH	4,1a	12,5b	26,7c
LRH	6,7c	7,2a	14,4a
0	4,7b	10,9b	18,5b

### DYSKUSJA

Izolowane zarodki fasoli, grochu i soi są tym podatniejsze na stres chłodnowodny, im mniej zawierają wilgoci [5]. Doświadczenia opisane w tej pracy wykazują, iż inne gatunki z rodz. Papilionaceae są również wrażliwe na ten rodzaj stresu. Podana w tabeli 1 wilgotność nasion kontrolnych jest zgodna z wymogami przechowalnictwa [12]. Podniesienie wyjściowej wilgotności do 16-20% suchej masy prowadzi bądź to do zaniku bądź do złagodzenia objawów stresu chłodnowodnego.

Jaki może być molekularny mechanizm ochronnego działania ekspozycji HRH? Ponieważ podwyższenie początkowej wilgotności nasion powoduje spadek EP wód nastoinowych, należy wnioskować, iż istotną rolę odgrywa stan membran cytoplazmatycznych. W suchych nasionach membrany cytoplazmatyczne pozbawione są cechy selektywnej przepuszczalności, ponieważ ich składnik fosfolipidowy występuje w konfiguracji heksagonalnej [18, 19]. W czasie pierwszych minut pęcznienia w temp. pokojowej następuje reorganizacja strukturalna membran z "porowatej" na "lamelarną", charakteryzującą się cechą wybiórczej przepuszczalności dla jonów i substancji drobnocząsteczkowych; przebudowa ta sygnalizowana jest przez spadek wydzielania elektrolitów do roztworu zewnętrznego [1, 18]. Analizy elektronomikroskopowe wykazują, iż już po 20 min pęcznienia membrany komórek liścieni soi z nieciągłych i zdeintegrowanych stają się lamelarne, jednorodne [21]. Niskie temperatury bądź to uniemożliwiają tę reorganizację, bądź powodują przebudowę wadliwą - prawdopodobnie wskutek zmiany stanu fizykochemicznego fosfolipidów membran [22], co prowadzi do wystąpienia objawów stresu chłodnowodnego [1]. W następnej fazie kiełkowania niekorzystnie zaczyna działać niska temperatura jako taka, hamując inicjację wzrostu wydłużeniowego korzenia [6].

Opisana reorganizacja strukturalna membran cytoplazmatycznych zachodzi już z chwilą osiągnięcia pewnej krytycznej wilgotności przez nasiona. Ta minimalna wilgotność osi zarodkowych - zapobiegająca wystąpieniu uszkodzeń powodowanych pęcznieniem w chłodnej wodzie - została wyznaczona na ok. 20, 30 i 35% dla fasoli [14], grochu [20] i soi [1]. Analogiczna wartość dla nienaruszonych nasion soi wynosi 13-14 [8] bądź 20% [9]. Osie zarodkowe intensywniej chłoną wodę z atmosfery przy ekspozycji HRH niż całe nasiona /dane nie przedstawione/. Należy wnioskować, iż podczas ekspozycji HRH wilgotność nasion osiąga wielkość krytyczną, co umożliwia reorganizację strukturalną membran już podczas ekspozycji. Wydaje się, iż krytyczna wilgotność dla całych nasion wynosi 16-20% /zależnie od gatunku/. W nasionach z taką wilgotnością ostry stres chłodnowodny nie pojawia się, ponieważ membrany cytoplazmatyczne w dużej mierze odzyskały zintegrowany stan lamelarny jeszcze przed umieszczeniem w chłodnej wodzie. Dzięki zmniejszonemu wydzielaniu aminokwasów i cukrów podczas pęcznienia [10] nasiona po ekspozycji HRH są mniej podatne na atak mikroflory, co również nie pozostaje bez dodatniego wpływu na żywotność siewek.

Wydaje się, iż metoda ekspozycji HRH z pomiarem EP wód nastoinowych powinna zainteresować praktyków. Nasiona eksponować można pod namiotem z folii, nad naczyniem z wodą, w temp. powyżej 15°C. Ten prosty zabieg, chroniąc nasiona przed potencjalnym stresem chłodnowodnym przy wysiewach wczesną wiosną, może sprzyjać zwiększeniu plonów roślin motylkowych. Ekspozycja - nawet przedłużona do 10 dni [9] - jest nieszkodliwa dla nasion.

#### LITERATURA

1. Bramlage W. J., Leopold A. C. and Parrish D. J.: *Plant Physiol.* 1978, 61, 525-529.
2. Christiansen M. N.: *Plant Physiol.* 1963, 38, 520-522.
3. Grzesiuk S.: *Fizjologia nasion*. PWRiL, Warszawa 1967, s. 35.
4. Harrington J. F. and Kihara G. M.: *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 1960, 75, 485-489.
5. Hegarty T. W.: *Plant, Cell and Environm.* 1978, 1, 101-119.
6. - and Ross H. A.: *Ann. Bot.* 1978, 42, 1223-1226.
7. Heydecker W.: W Khan A. A. /red./ *The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination*. North-Holland Publ. Co., Amsterdam, New York and Oxford 1977, 237-282.
8. Hobbs P. R. and Obendorf R. L.: *Crop Sci.* 1972, 12, 664-667.
9. Knypl J. S. and Janas K. M.: *Biol. Plant.* 21 /w druku/.
10. - *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* /w druku/.
11. Levitt J.: *Responses of Plants to Environmental Stresses*. Academic Press, New York and London 1972.



12. Lityński M.: Biologiczne podstawy nasiennictwa. PWRiL, Warszawa 1977, 176-210.
13. Obendorf R. L. and Hobbs P. R.: Crop Sci. 1970, 10, 563-566.
14. Pollock B. M.: Plant Physiol. 1969, 44, 907-911.
15. Pollock B. M. and Toole V. K.: Plant Physiol. 1966, 41, 221-229.
16. Pollock B. M., Ross E. E. and Manalo R.: J. Amer. Soc. Hort. Sci. 1969, 94, 577-584.
17. Powell A. A. and Matthews S.: J. exp. Bot. 1978, 29, 1215-1229.
18. Simon E.W.: New Phytol. 1974, 73, 377-420.
19. Simon E. W. and Raja Harun R. M.: J. exp. Bot. 1972, 23, 1076-1085.
20. Simon E. W. and Wiebe H. H.: New Phytol. 1975, 74, 407-411.
21. Webster B. D. and Leopold A. C.: Amer. J. Bot. 1977, 64, 1286-1293.
22. Wolfe J.: Plant, Cell and Environm. 1978, 1, 241-247.

Я.С.Кныль

ПОВЫШЕНИЕ ВЛАЖНОСТИ СЕМЯН С ЦЕЛЬЮ ОСЛАБЛЕНИЯ  
СИМПТОМОВ ХОЛОДНОВОДНОГО СТРЕССА ВО ВРЕМЯ ПРОРАСТАНИЯ

Р е з ю м е

Повышали влажность семян с начальных 8-10% <sup>до 16-20%</sup> по методу их 5-суточного держания в атмосфере насыщенной водяным паром / $\mu$ RH/ в температуре 25°C. Это привело к замедлению выделения электролитов в связи с набуханием семян, а также к снижению восприимчивости беба, гереха льпина и пелюшки к холодноводному стрессу. В температуре 10°C ускорялись прорастание семян и рост сеянцев /иногда больше чем двухкратно/, повышался процент жизнеспособных сеянцев, снижалась степень поражения сеянцев микрофлорой. Можно предполагать, что уже во время применения экспозиции HRH происходит преобразование структуры цитоплазматических мембран от порозной в сухих до „ламеллярной" в увлажненных семенах. Семена кукурузы слабо реагировали на увлажнение по методу HRH

J. S. Knypl

ENHANCED SEED HUMIDITY REDUCES THE SYMPTOMS OF CHILLING  
STRESS IN GERMINATING LEGUME SEEDS

## Summary

Five-day exposure in water saturated atmosphere /HRH/ at 25°C enhanced the seed humidity to 16-20% dry wt in comparison with 8-10% in original air dry seeds. This increment of initial water content reduced conductivity of seed leachates and prevented the appearance of the chilling stress in *Vicia faba* L., *Pisum arvense* L., *Pisum sativum* L. and *Lupinus luteus* L. Germination at 10°C was accelerated, growth of the seedlings doubled and the percentage of viable seedlings markedly enhanced. HRH exposure had relatively little effect on the low-temperature tolerance of *Zea mays* L.

It is suggested that in a course of HRH exposure the cellular membranes undergo a structural re-arrangement from the "porous" and "leaky" state in dry seeds to the lamellar and semi-permeable state in the humidified seeds. Once semipermeability of the cellular membranes had been regained, the seeds become non-sensitive to the chilling stress upon imbibition in cold water.