

BARBARA WOJCIECHOWSKA

O TWARDOŚCI NASION

Wstęp

Do diagnostycznych cech nasion i drobnych owoców zalicza się twardość. Pojęcie twardości nie jest jednak jednoznaczne. Może bowiem chodzić o fazę dojrzewania i konsystencję nasion, o obniżenie zdolności kiełkowania wynikające, jak się sądzi, z nieprzenikliwości okryw dla wody i gazów, w trzecim natomiast przypadku o strukturalną odporność na ucisk i siły deformujące.

Zmiany w kierunku twardości fizjologicznej mogą być inicjowane już w pierwszych fazach przekształcania się zalążków w nasiona.

W złożonym procesie kształtowania się i dojrzewania nasienia wyróżnia się kilka faz. W rozwoju nasion, traw zwłaszcza zbóż, zasadnicze części składowe nasienia powstają już w stadium dojrzałości przedmlecznej. W fazie dojrzałości mlecznej zachodzi dalszy rozwój zarodka i gromadzenie substratów budulcowych i zapasowych. W następnej — woskowej, postępującej dehydratacji cytoplazmy towarzyszą zmiany ultrastruktury, represja genów, inaktywacja substancji wzrostowych oraz sukcesywne zmiany garnituru aktywnych enzymów.

Twardą konsystencję mają nasiona w pełni morfologicznie dojrzałe. Ich tkanki zapasowe, lub liścienie wypełnione są ziarnami skrobi, kryształami i krystaloidami białek oraz globulkami substancji tłuszczowych. Posiadają maksymalną ilość związków popielnych, natomiast wyraźnie obniżoną zawartość większości substancji wzrostowych. Wyposażone są w inhibitory, które często są zlokalizowane w okrywach nasiennych. Te ostatnie są ukształtowane w sposób typowy dla gatunku. W trakcie rozwoju część komórek ulega wtórnie resorpcji a inne strukturalnemu i fizjologicznemu zróżnicowaniu co kończy proces dojrzewania nasienia. U *Abutilon* (*Malvaceae*) trwa on 20 dni [38, 39].

Właściwości mechaniczne dojrzałych nasion, ich twardość, sprężystość i elastyczność w znacznej mierze zależą od chemizmu i struktury ścian komórek budujących okrywy nasienne. Istotną rolę odgrywa również ilość warstw komórek, w tym skleidealnych, oraz sposób ich przylegania do siebie jak również do jądra nasiennego.

Tak niektórzy zwykli nazywać zarodek i otaczające go tkanki zapasowe. Twardość i sprężystość jest ponadto pochodną kształtu i wymiarów diaspor. Także ich położenie względem kierunku siły uderzenia bądź długotrwałego ucisku decyduje o stopniu deformacji plastycznej i wytrzymałości na różnego rodzaju uszkodzenia. Ma to miejsce podczas zbioru, omłotów, suszenia, transportu i przechowywania [14, 25]. Powstałe uszkodzenia mogą być widoczne w postaci spekań lub przłamania co wyraźnie obniża wartość masy nasiennej. Mogą mieć charakter uszkodzeń niewidocznych, ale powodujących jełczenie nasion i zamieranie zarodków.

W ujęciu fizjologicznym z kolei nasionami twardymi nazywamy takie, które nie różniąc się ciężarem, wymiarami i cechami strukturalnymi zachowują się inaczej niż pozostałe, jeżeli umieścimy je w warunkach sprzyjających procesowi kiełkowania. Nie kiełkują one w czasie typowym dla gatunku lub odmiany mimo zachowania normalnych dla tego procesu warunków a więc odpowiedniej temperatury, wilgotności, napowietrzania i oświetlenia — ale również nie gniją.

Do typowych cech nasion twardych należy silne odwodnienie, odporność na wysokie ciśnienie hydrostatyczne i na działanie niskich temperatur, a przede wszystkim nie pęcznienie lub pęcznienie ze zwolnioną szybkością, niekiedy po dziesiątkach, a nawet setkach lat.

Tak właśnie rozumiane nasiona twarde (siemena twarde, hard seeds, semences dures, Hartschalige Samen), stanowiły treść interesującej publikacji, która ukazała się w Zeszytach Naukowych SGGW [10]. Z racji małego zasięgu periodyku i ważności zagadnień poruszanych przez Dalkiewicz-Baranowską [10] wydaje się słuszne przedstawienie niektórych danych z tego zakresu. Winny one zainteresować nie tylko praktyków, ale i teoretyków szeregu dyscyplin botanicznych.

Dalkiewicz-Baranowska [10] omówiła historię rozwoju badań nad twardością nasion, cytując Sempołowskiego (1874), Junowicza (1877), Nobbego (1881—1919), Hibnera (1902—1911), Esdorna (1928—1931), Bredemanna (1931—1938), Whitte (1934—1938), Popcowa (1928—1953) oraz Hyde (1954) i innych.

Podjęte w ubiegłym wieku szczegółowe badania dotychczas nie wniosły jednak odpowiedzi na pytanie, jakie czynniki decydują o wytwarzaniu nasion twardych i jaki jest ich metabolizm. Być może jednoznacznych wniosków nie ma w ogóle. A o pojawieniu się określonego procentu nasion twardych w partiach nasion różnych grup systematycznych decyduje szereg czynników współdziałających bądź następujących po sobie w sukcesywnej zależności.

Przynależność systematyczna gatunków wytwarzających nasiona twarde, czas i miejsce ich rozwoju

Większość autorów uważa, że twardość nasion stanowi cechę gatunkową, a więc dziedziczną, jednak regulowaną przez szereg czynników siedliskowych. Niektóre rodziny charakteryzuje szczególna predyspozycja w kierunku tworzenia nasion twardych. Uprzywilejowaną pod tym względem okazała się rodzina motylkowatych

(*Fabaceae-Papilionaceae*), być może dlatego, że dotychczas została najwszechstronniej przebadana [37]. Mniej więcej stały procent nasion twardych stwierdzono u koniczyny, lucerny, wyki piaskowej, żółtego łubinu, nostrzyka białego i u groszku. Natomiast stosunkowo rzadko tego typu nasiona wytwarza groch, fasola oraz łubin biały i wąskolistny. Znaczny procent nasion twardych stwierdzono u przedstawicieli ślazowatych (*Malvaceae*) [39] oraz posłonkowatych (*Cistaceae*), wilczomleczowatych (*Euphorbiaceae*), powojowatych (*Convolvulaceae*), rdestowatych (*Polygonaceae*), komosowatych (*Chenopodiaceae*), lipowatych (*Tiliaceae*), liliowatych (*Liliaceae*) oraz u *Datura* sp., *Hyoscyamus niger* i *Solanum nigrum* (*Solanaceae*), *Ruta graveolens* (*Rutaceae*), *Erodium* sp. (*Geraniaceae*), *Lycopus* sp. i *Stachys annuus* (*Labiatae*) [11, 12, 14]. Nierównomiernie i w niewielkim procencie kielkują również nasiona *Lavandula vera* z rodziny wargowych [32] oraz *Hyoscyamus* sp. (dane niepublikowane, Wojciechowska). Według Tyszyńskiej (36) ilość nasion niekielkujących u *Melissa officinalis* może dochodzić do 98%. Diasporą u *Melissa* sp. jest drobny owoc o strukturze suchego pestkowca, posiadający silnie ześluzowaciałe komórki zewnętrznej ściany owocu [42].

Truszkowska [35] analizując zdolność kiełkowania nasion koniczyny czerwonej odmiany krajowej i pochodzenia zagranicznego wykryła różnice odmianowe w ilości nasion twardych, zdolności kiełkowania i zasiedlenia przez grzyby. Pojawienie się, wysokiego, dochodzącego do 11%, odsetka nasion twardych w próbach nasion produkcji krajowej przypisała głównie wpływowi czynników klimatycznych.

Według Crockera i Barton [9] rośliny różnych gatunków wytwarzają od 0,8—87% nasion twardych, a u nostrzyka białego nawet 98%. Nie są to jednak wartości stałe, ponieważ w poszczególnych latach, a nawet w jednym okresie wegetacji istnieją w tym zakresie znaczne różnice. Również i stopień twardości nasion zebranych z jednej rośliny jest różny. Bowiem czas dojrzewania nasion stanowi z reguły pochodną położenia kwiatów w kwiatostanach, a tych na roślinie. Mniej nasion twardych występuje wśród diaspor niedojrzałych, ale zdolnych już do kiełkowania [15].

Odpowiedzi na pytanie o czas i miejsce rozwoju nasion twardych dostarczyły głównie badania prowadzone na roślinach motylkowych. Zauważono, że tego typu nasiona powstają albo łącznie z normalnymi w jednym strąku, albo w oddzielnych owocach. Pelcich [30] w 135 strąkach wyki ozimej stwierdził przeszło 80% z nasionami normalnymi, 15% z normalnymi i twardymi oraz 3,7% strąków z nasionami tylko twardymi. Pospolity chwast naszych zbóż — *Lithospermum arvense* L. (*Boraginaceae*) wytwarza po 3—4 owocki ułożone spiralnie na dnie kwiatowym. Co 3 lub 4 orzeszek nie osypuje się po dojrzewaniu, jak się wydaje, często jest diasporą twardą.

Morfologia nasion z uwzględnieniem stymulatorów przedłużonego spoczynku

Dojrzałe nasienie posiada szereg cech strukturalnych, którym przypisuje się wartości diagnostyczne. Należą do nich kształt, wymiary, barwa i połysk, urzeźbienie powierzchni (skulptura) i ciężar.

Na jednolicie lub mozaikowo zabarwionej powierzchni nasienia widoczny jest znaczek (hilum) jako blizna po oderwanym sznureczku, a w przypadku rozwoju nasienia z załączka anatropowego lub kampylotropowego również dłuższy lub krótszy szew (raphe). Szew zaczyna się na znaczku, a kończy osadką (chalaza). Osadka może być nie wyeksponowana. Mniej lub bardziej ukryte jest również okienko (micropyle).

Charakterystycznymi tworamii na łupinie nasiennej są różnokształtne dodatkowe narośla o strukturze mięsistej, rozwijające się z tkanek sznureczka, szwu bądź osłonek. Według Cornera [8] całkowita lub częściowa osnówka (arillus) u *Cucurbitaceae*, *Rubiaceae* i *Apocynaceae* tworzy się z łożyska (placenta). Często osnówka rozwija się również z zewnętrznej, zmięśniałej warstwy łupiny — sarcotesty, czasem ze szwu lub z tkanek znajdujących się po stronie przeciwległej do szwu (antiraphae). Komórki szwu inicjują rozwój guza nasiennego (strophiolum) u fiołka i glistnika. Zlokalizowane obok okienka a kształtujące się w wyniku bujania tkanek osłonek tworzą się brodawki nasienne (carnucula). Takie wyrostki występują u wilczomleczy i u rącznika. Zbudowane z komórek cienkościennych, wypełnionych substancjami poszukiwanymi przez mrówki narośla noszą ogólną nazwę elajosomów. Regulują one, jak się przypuszcza, ilość wody wydalanej przez nasienie w czasie dojrzewania i być może pobieranej w czasie kiełkowania.

Jeżeli diasporą jest drobny suchy owoc, to wysychająca owocnia otacza tkanki łupiny nasiennej, bądź się z nimi zrasta.

Cechy struktury i chemizmu łupin nasiennych są coraz częściej badane dla celów systematyki. Wynikiem tych badań jest nie tylko poznanie topografii i szczegółów budowy komórek budujących poszczególne warstwy dojrzałych łupin. W wielu przypadkach badania te wnoszą informacje o sposobie unaczynienia okryw, ich budowie w okolicy znaczka, okienka, szwu i strony do szwu przeciwległej. Informują o przemianach zachodzących podczas dojrzewania i kiełkowania oraz o lokalizacji związków fizjologicznie czynnych i ilości wytwarzanych, a potem zachowanych warstw kutykularnych.

Strukturalnie i fizjologicznie dojrzałe nasiona składają się zazwyczaj z zarodka (embryo), tkanek zapasowych czyli bielma (endospermium) i rzadziej obielma (perispermium), oraz ze wspomnianej już wyżej łupiny nasiennej (testa seminis). Łupina nasienna może powstawać z jednej lub z dwóch osłonek załączka. Z zewnętrznej osłonki powstaje testa, a z wewnętrznej tegmen. Wśród roślin dwuliściennych znane są tylko 4 rodziny posiadające załączki bezosłonkowe (Davis, 1966 cyt. [6]).

W tworzeniu wewnętrznych warstw łupiny nasiennej może również uczestniczyć ośrodek i bielmo [26].

W większości roślin wykształcających łupiny nasienne składające się z testa i tegmen na ich odśrodkowych i dośrodkowych powierzchniach tworzą się nabłonki. Obecność tych warstw kutykularnych często ułatwia poznanie drogi rozwoju łupiny nasiennej. Rośliny posiadające załączki z pojedynczym integumentem wytwarzają odpowiednio mniej warstw nabłonkowych, aczkolwiek wtedy często w skład łupiny może wchodzić również zewnętrzna część ośrodka z własnym pokładem kutykularnym. Według Netolitzky'ego [26], jeżeli łupina nasienna powstaje po zrośnięciu się dwóch osłonek załączka, to dwuwarstwowa kutykula międzyosłonkowa może

niekiedy zanikać. Jeżeli weźmiemy pod uwagę, że tkanka odżywcza powstająca z bielma, też jest pokryta różnej grubości nabłonkiem — staje się oczywiste, że te współśrodkowo układające się warstwy, zbudowane z substancji o charakterze tłuszczowym, w istotny sposób regulują wymianę gazową oraz przemieszczanie się związków lipo- i hydrofilnych.

Jednak przyczynę powstrzymywania się nasion od kiełkowania wielu autorów upatruje w silnym wykształceniu warstwy sklereidalnej tworzącej palisadę [18, 29]. Dorywalski i inni [11], Dalkiewicz-Baranowska [10], Grzesiuk [14, 15], Lityński [25] i wielu innych zgodni są co do tego, że stymulatorami przedłużonego spoczynku są bliżej nieznanne czynniki, być może natury fizyko-chemicznej zlokalizowane właśnie w tej warstwie komórek. Sklereidom przypisuje się rolę regulatora przepływu wody i dyfuzji gazów do- i z zewnątrz nasienia. W tym aspekcie należy brać pod uwagę nie tylko kształt i sposób ustawienia sklereid, ale przede wszystkim widoczne nawet pod słabym powiększeniem uwarstwienie ścian komórkowych, wskazujące na ich apozycyjny i złożony charakter ponadto obecność w nich pigmentów i kryształów soli. W łupinach nasiennych palisada sklereid ma różną topografię. Uwzględniając tę warstwę Corner [8] obok nasion egzo-, mezo- i endotestowych wyróżnia egzo- i endotegmiczne.

Zgodnie z ogólnie akceptowanym poglądem wszystkie nasiona twarde wykształcają na sklereidach linię świetlną. Linia świetlna albo L-linia (*Linea lucida*) widoczna jest na przekrojach poprzecznych przez łupinę nasienną jako słabiej lub odmiennie barwiąca się smuzka. Smuzka ta pojawia się w równej odległości od zewnętrznej stycznej ściany komórek, niezależnie od ich wysokości. Zauważona u *Papilionaceae* występuje również w innych rodzinach. Chemizm tej części ściany komórkowej w zasadzie nie jest poznany. W jednym przypadku L-linia jest zdrewniała, w innym jest to miejsce o zmienionym układzie miceli celulozy lub jest to strefa przejściowa między celulozowo-zlignifikowaną dolną częścią ścian promienistych a śluzowaciejącą bądź pęczniejącą strefą górną (Wojciechowska, niepublikowane). Hamly (1935) cyt. [23] linię świetlną interpretuje jako efekt specyficznego odkładania się celulozy i kutyny. Inni ponadto są zdania, że w tym miejscu bardzo wcześnie pojawiają się okrężnie przebiegające listwy [23]. Ponieważ skład chemiczny łupin nasiennych jest bardzo skomplikowany, stąd prawdopodobnie poszczególne gatunki różnią się również i budową tejże linii świetlnej, a więc ilością i helikalnością miceli celulozy, obecnością substancji hemicelulozowych bądź innych związków inkrustujących i powlekających.

Bertsch [5] podaje szereg przykładów występowania linii świetlnej w rodzinie *Fabaceae* (*Vicia faba*, *V. sativa*, *Lathyrus sativus*, *Lens culinaris*, *Coronilla varia* i *C. scorpioides*). O ile u *Pisum sativum* i *Lathyrus sativus* widoczna jest tylko jedna linia świetlna, usytuowana tuż pod górną ścianą styczną, to już w 1926 roku Netolitzky wspominał o 2 lub nawet 3 liniach świetlnych, niekiedy przesuniętych ku podstawom komórek. W okolicy chalazy linia świetlna stopniowo się obniża, w końcu sklereidy zanikają. Często w łupinach wykształcają się wielowarstwowe pokłady sklereid izodiametrycznych lub wydłużonych, układających się helikoidalnie lub równolegle względem osi nasienia. Na takich sklereidach lini L brak. Ilość warstw

sklereid zmienia się szczególnie w okolicy znaczka szwu bądź w narożach diaspory. Kiedy diasporą jest drobny owoc, to warstwy sklereidalne często wykształcają się w owocni. Mogą być usytuowane w jej głębi, jak ma to miejsce w suchych pestkowcach na przykład u szeregu przedstawicieli *Labiatae* albo lokalizować się przypowierzchniowo, a więc typowo dla orzeszków [2, 42, 22].

Sklereidy wykształcają się przede wszystkim w okrywach nasion makrobiotycznych, zachowujących zdolność kiełkowania od 15 do przeszło stu lat, o najwyższym % nasion twardych. Większość naszych drzew owocowych tworzy nasiona mezobiotyczne, żywotne w ciągu kilku lat i wymagające specjalnych warunków przechowywania.

Warunkiem zachowania długowieczności tych nasion jest jednak właściwa pora wydobycia ich z owoców [3]. Szereg autorów wyróżnia 3 lub 4 grupy nasion o okrywach nieprzepuszczalnych, trudno przepuszczalnych, półprzepuszczalnych i stosunkowo mniej liczne nasiona całkowicie przepuszczalne.

Przepuszczalność w znacznym stopniu ograniczają substancje inkrustujące i adkrustujące (kutyna i woski, lignina i suberyna). W ścianach komórek lupin nasiennych lignina występuje częściej niż się to na ogół sądzi, nie tylko w sklereidach, ale również i w ścianach komórki skórki. Na przykład w nasionach *Atropa* sp. o sklereidach prawie pozbawionych ligniny, wykształcają się suberynowe wyściółki od strony światła komórek. Natomiast u *Capsicum* korkowe lamele występują w komórkach skórki wewnętrznej lupiny nasiennej [43].

Szczególnie rozbudowane są pokłady zewnętrznego nabłonka, różniące się nie tylko grubością i twardością, ale również składem wosków i sposobem ich rozmieszczenia w bezpostaciowej kutynie.

Tę samą rolę należy przypisać różnorodnym substancjom śluzowym, zlokalizowanym powierzchniowo, czasem w głębi diaspor. O ich fizjologicznej roli wspomina Kinzel (cyt. [17]) oraz Wojciechowska [40, 41, 42]. Substancje śluzowe co prawda szybko chłoną wodę i pęcznieją, jednak po wyschnięciu tworzą szklistą, twardą i nieprzenikliwą otoczkę. Natomiast Aniskin i Saprykina [1] cytują wypowiedzi Kium, który uważa, że przyczyną twardnienia nasion jest postępujące wysychanie związków pektynowych w warstwie palisadowej i związana z tym utrata zdolności pęcznienia. Według Kandelera [20] ograniczenie zdolności pęcznienia i mała przepuszczalność dla wody i substancji w niej rozpuszczonych wynika z nagromadzenia substancji lipidowych na powierzchni cytoplazmy. Zmiany w składzie chemicznym plazmalemy prowadzą do izolacji poszczególnych protoplastów. W wyniku ograniczenia dostępu tlenu dochodzi do syntezy tłuszczu i kwasów tłuszczowych. Na twardość nasion wpływają ponadto inne czynniki endogenne jak również specyficzne własności koloidalne cytoplazmy [28].

O twardości nasion dowiadujemy się dopiero podczas ich kiełkowania. Analiza mikroskopowa nie dostarcza bowiem danych umożliwiających wcześniejsze wykrycie tej cechy. Wielu autorów wręcz uważa, że nasiona normalne i twarde nie wykazują różnic strukturalnych. Po wykonaniu preparatów seryjnych wykryto jednak pewne różnice w budowie okolicy znaczka [18, 31]. Ciągła warstwa komórek sklereidalnych jest w tym miejscu przerwana. Łukę wypełniają komórki miękkiszowe i hydrocyty.

W zamykającym miększu tworzy się szczelina, której brak w nasionach twardych. Tak zbudowany znaczek ma działać jak zastawka regulowana zmianami wilgotności powietrza. Mechanizm tego działania Kandeler [20] tłumaczy silniejszym pęcznieniem warstw wewnętrznych łupiny nasiennej. Przedstawione dane dotyczą nasion *Papilionaceae*. U *Euphorbia* i *Ricinus* woda przenika wyłącznie przez guz nasienny. Prawdopodobnie nie dotyczy to nasion *Reseda*, u których w okolicy guza nasienno występują zmiany w układzie sklereid [44]. Nieprzenikliwe dla gazów łupiny *Cucurbitaceae* otwierają się w wyniku rozwoju specjalnego wyrostka „stopki”, która wywiera na nie ciśnienie wzrostowe i umożliwia wydobycie się kielka.

Nasiona twarde wytwarzają jednak również te gatunki, u których brak sklereid w okrywach nasiennych. Z reguły nasiona takie szybko kiełkują, ale również prędko tracą żywotność. Zgodnie z Cinger [7] należy je zaliczyć do pierwszej z dwóch linii rozwojowych. W drugiej linii rozwojowej powstają nasiona o okrywach twardych i trudno przepuszczalnych. Gwarantuje to dłuższy okres żywotności, ale utrudnia kiełkowanie. Jest też powodem nierównomierności wschodów i tworzenia licznych nasion twardych.

Czynniki sprzyjające powstawaniu nasion twardych

Czynniki wpływające na powstawanie nasion twardych można podzielić na środowiskowe i wewnętrzne, nie wykluczając interakcji między nimi.

W grupie pierwszej istotne znaczenie przypisuje się warunkom klimatycznym i glebowym, a więc temperaturze, wilgotności, dostępowi tlenu i światła.

To, że nasiona różnią się sposobem reagowania na światło, znane już jest od dawna. Na czerwone promienie widma reagują nasiona fotoblastycznie dodatnie, przy czym mechanizm oparty jest na przekształcaniu się fitochromu z formy P_{650} na formę P_{730} . Wpływ światła niebieskiego wydaje się bardziej skomplikowany i zależy od czasu ekspozycji. Światło niebieskie działa również na nasiona fotoblastycznie ujemne. Z badań Kulpy [22] nad światłolubnymi i trudnokiełkującymi orzeszkami *Adonis vernalis* wynika, że nieprzenikliwą dla światła jest okrywa owocowa zawierająca inhibitory, prawdopodobnie glikozydy nasercowe i amoniak. Hamujący wpływ światła można częściowo znieść działaniem tlenu. Kandeler [20] jako przykład podaje kiełkujące w ciemności nasiona *Phacelia*, u których światło zdaje się wywoływać nieprzepuszczalność dla tlenu. W istocie okrywy nasienne w wielu przypadkach ograniczają wymianę gazową. Dotyczy to nagromadzania CO_2 lub hamowania dostępu tlenu do zarodków. Według Grzesiuka i Kulki [15] przepuszczalne dla wody okrywy nasienne *Cucurbita pepo* są nieprzepuszczalne dla tlenu. W podobny sposób działają fenolowe inhibitory wzrostu.

W odniesieniu do gleby godnymi odnotowania są wykryte korelacje między jej zasobnością w wapń a stosunkowo znacznym procentem nasion twardych w plonie. Brak boru ujawnia się szczególnie ostro w czasie suszy, powodując zwiększenie procentu tego typu nasion. W specyficznych warunkach dochodzi do nieprawidłowości

wego gromadzenia niektórych pierwiastków. Stąd wśród czynników wywołujących twardość nasion wymienia się brak niektórych składników popielnych.

Zgodnie z powszechnie znanym poglądem warunki siedliskowe sprzyjające tworzeniu nasion drobnych prowadzą równocześnie do zwiększenia ilości nasion twardych. Obserwujemy to w czasie suszy. Z topografii nasion na roślinie wynika, że w określonym przedziale czasu wchodzą one w różne fazy rozwojowe. Kiedy jedne z nich są już dojrzałe, inne rozpoczynają rozwój. Przedłużający się okres suszy może wpłynąć na wstrzymanie lub częściowe zahamowanie dopływu substancji transportowanych z macierzystego sporofitu, szczególnie wtedy, kiedy unaczynienie okryw jest niewłaściwe. System przewodzący sznureczka kończy się z reguły na chalazie. U *Rubiaceae*, *Papilionaceae*, *Asteraceae* [14] oraz u *Datura* sp. [43, 8] i u *Cucurbitaceae*, *Convolvulaceae* itd. [17] elementy przewodzące przenikają w parenchymę integumentu zewnętrznego. Czasem lepiej są rozwinięte struktury ksylemu (*Fagaceae*, *Betulaceae* i *Vitaceae*) lub floemu.

Twardość nasion może również wynikać z niewłaściwego rozwoju tkanki chlazalnej. Chalazę budują różne typy komórek. Wśród nich znajdują się zakończenia wiązek przewodzących sznureczka przechodzące czasem w cienkościenne i wydłużone komórki o funkcjach troficznych. Znajdują się tam komórki grubościenne, z lignifikowane lub skorkowaciałe oraz pigmenty, silne stymulatory spoczynku, zlokalizowane w świetle komórki. Wszystkie typy komórek tworzą hipostazę. Jej przedwczesne wykształcenie może spowodować ograniczenie prądu substancji kierowanych ku nasieniu.

Spoczynek nasion twardych może być również wywołany strukturalną bądź fizjologiczną niedojrzałością zarodka lub jego nieukończonym wzrostem. Opóźnienie rozwoju zarodka w stosunku do pozostałych tkanek jest znane u storczyków, zawilca, kaczeńca itd. Stwierdzono, że nie wyrosnięte zarodki jesionu podczas stratyfikacji w 15—25°C, co nie narusza ich spoczynku, uwarunkowanego przyczynami natury fizjologicznej, znacznie się powiększają. Zjawisko jest typowe dla nasion wymagających odpowiednich warunków dla ustąpienia stanu spoczynku. Spoczynek w tym przypadku ustępuje stopniowo po speczęnieniu i w warunkach obniżonej temperatury, a u pewnych gatunków podczas suchego przetrzymywania (np. niektóre zboża — jęczmień ozimy).

Długotrwały spoczynek nasion nie powoduje obumierania tkanek tak w przypadku twardości nabytej we wczesnych stadiach rozwojowych jak i twardości wtórnej. Względny spoczynek wtórny wchodzi bowiem te nasiona, które po speczęnieniu zostały przykryte zbyt grubym pokładem gleby, co wpłynęło na zmianę stężenia gazów i temperatury [25]. Spoczynek wtórny może być indukowany pojawieniem się lub uaktywnieniem inhibitorów, zablokowaniem szlaku metabolicznego albo jednoczesnym uspieniem zarodka i zmianami w przepuszczalności okryw nasiennej [16].

Pojęcie spoczynku jest szerokie, definicje są różnie precyzowane i nie zawsze dichotomiczne. Słuszne jest zatem zwrócenie uwagi na przedstawienie tych zagadnień przez Grzesiuka [14], Grzesiuka i Łuczyńską [16] i Lityńskiego [25].

W naszych warunkach klimatycznych również sprzęt, młocka i sposób przecho-

wywania to znaczy temperatura powietrza, wyjściowa wilgotność nasion i wilgotność powietrza w pojemnikach lub magazynach decyduje o ilości nasion twardych w plonie [24]. Barton [3] stwierdziła, że nasiona jednego gatunku lub odmiany będą się różniły okresem przelegiwania, jeżeli przechowywać je w różnych warunkach. Esdorn [13] cytowany przez Aniskin [1] uważa nawet, że nasiona twarde powstają tylko w wyniku niewłaściwego przechowywania. Z badań przeprowadzonych na łubinie żółtym wynika, że nasiona miękkie po kilku tygodniach przetrzymywania w temperaturze 18°C przekształciły się w znacznym procencie w nasiona twarde. Wielu autorów jest zdania, że ilość nasion twardych zwiększa się przy obniżonej wilgotności nie tylko samych nasion, ale i powietrza. Natomiast przy wysokiej temperaturze utrwalającej twardość, wilgotność nie odgrywa roli. Twardość jest częściowo odwracalna. Wskazują na to wyniki uzyskane przez Lityńskiego i Chudobę [24] nad zmniejszaniem się ilości nasion twardych lucerny siewnej pod wpływem zwiększonej wilgotności.

Sposoby niwelowania twardości nasion

Zabiegi podejmowane celem przyspieszenia kiełkowania nasion jak stratyfikacja, skaryfikacja, impakcja, wielorakie dosuszanie i hormonizacja mają na celu likwidację niegłębokiego spoczynku fizjologicznego. Zabiegami tymi obejmujemy znajdujące się w plonie nasiona twarde wpływając na podwyższenie liczby nasion kiełkujących. Stratyfikacji poddajemy głównie nasiona drzew przetrzymywane w okresie zimy zmieszane z wilgotnym piaskiem bądź piaskiem z torfem w temperaturze od 0 do kilku stopni C, przy czym umożliwiać należy wymianę gazową, a wilgotność podłoża powinna wynosić około 60% pełnej pojemności wodnej.

Stratyfikacja składa się z 3 faz: pęcznienia, fizjologicznej aktywacji zarodka i reakcji na niską temperaturę. W okresie stratyfikacji dochodzi do obniżenia poziomu ABA i inhibitorów o charakterze antygibereliny, natomiast do zwiększenia ilości cytokinin i giberelin.

W praktyce sadowniczej znane jest zjawisko przelegiwania nasion stratyfikowanych. Suszka [34] przyczynę tego stanu rzeczy tłumaczy zbyt krótkim działaniem obniżonej temperatury. Ten sam autor [33] stwierdził, że u szeregu gatunków rodzaju *Prunus* L., stratyfikacja ciepło-chłodna, przy krótkim okresie działania podwyższonej temperatury, a następnie dłuższym okresie chłodnym daje lepsze wyniki niż stratyfikacja chłodna.

Często stosowanymi zabiegami umożliwiającymi pobudzenie nasion do skielkowania jest mechaniczna obróbka przez nacinanie, obcieranie lub zdejmowanie twardej okrywy. Zabiegi tego typu są żmudne i niejednokrotnie prowadzą do uszkodzenia zarodków, a następnie gnicia nasion.

O ile w jednych przypadkach wystarczające efekty daje impakcja (rzucanie nasion na gładką powierzchnię powodujące pęknięcie okrywy) to w innych niezbędne jest zdjęcie mięsistego integumentu i poprzeczne lub podłużne nacinanie łupin [45]. Na szerszą skalę skaryfikację przeprowadza się przy pomocy specjalnych maszyn,

które lekko uszkadzając okrywy zabezpieczają równoczesność wschodów. Bärtels [4] poleca około 30 minutowe mieszanie nasion wymieszanych ze stłuczką szklaną (o średnicy 0,5-1 cm) w bębnach.

Według Kulpy [22] i Watsona [37] naruszenie okryw nasiennych nie zawsze jednak prowadzi do zniwelowania twardości. Stwierdzono również, że nasiona wymagające skaryfikacji można pobudzić do kiełkowania działaniem wysokich stężeń tlenu.

Działanie temperatury jest zróżnicowane. O ile w jednych przypadkach korzystne jest stosowanie temperatury przemiennej lub obniżonej, to w innych dodatnie efekty uzyskuje się po chłodzeniu nasion przy 5-10°C przez kilka pierwszych dni kiełkowania. Po przemrożeniu nasiona twarde tracą nieprzepuszczalność. Natomiast ziarniaki zbóż wymagają podsuszenia w temperaturze, która może dochodzić do 40°C, w ciągu 5-7 dni. Według Popcowa [31], twardość nasion niweluje się nagrzewaniem w 28-29°C przez okres od 10 minut do kilku godzin, ale jak wiadomo, przemrożenie daje podobne wyniki.

Niekiedy konieczne jest stosowanie przemiennej temperatury w połączeniu z uszkodzeniem łupiny nasiennej. Wskazuje to na podwójny mechanizm utrzymywania spoczynku. Potwierdzeniem mogą być doświadczenia przeprowadzone na *Asclepias fruticosa*, wskazujące, że tylko pierwszy czynnik można było zastąpić gibereliną [22].

Działanie temperatury można połączyć z moczeniem diaspor. Dla kłębów buraka według norm niemieckich przewiduje się moczenie w ciągu 5 minut w temperaturze równej 30°C. Proces ten ma na celu obok uwodnienia zewnętrznych warstw łupin nasiennych lub owocowych, wymycie inhibitorów.

Do przezwycięzania hamowania kiełkowania nasion z nieprzepuszczalną dla wody łupiną nasienną używa się również gorącej wody. Stosuje się wielogodzinne kąpiele nasion „zawieszonych” w gotującej wodzie i pozostawia w niej na wiele godzin po ostudzeniu. W innych przypadkach wystarcza sparzenie gotującą wodą. Szczegółowe dane metodyczne w odniesieniu do nasion *Robinia pseudoacacia* i innych rodzajów w tym z rodziny motylkowych podaje Bärtels [4]. Popcow [31] i Esdorn [13] uważają, że szczególnie korzystnie działa para wodna przywracając nasionom twardym zdolność kiełkowania. Kiełkowanie diaspor *Adonis vernalis* można przyspieszyć stosując przemienne moczenie i podsuszanie w ciągu kilku dni w temperaturze pokojowej. Uzyskuje się lepsze wyniki niż po stratyfikacji w obniżonej temperaturze [22]. Kulpa [22] uważa również, że jako podłoża zamiast bibuły należy używać węgla, który pochłania inhibitory wyplukiwane z okrywy owocowej.

Do chemicznych sposobów uszkadzania okryw należy traktowanie nasion stężonymi kwasami (najczęściej siarkowym) lub zasadami, przy różnie długim czasie ekspozycji. Popcow [31] poleca stężony kwas siarkowy, temperaturę 16—18°C, a czas działania 5—30 minut jako szczególnie przydatne do usuwania twardości nasion. Zabiegowi temu poddaje się nasiona niektórych gatunków z rodziny motylkowych, szczególnie roślin drzewiastych. Bärtels [4] uważa nawet, że kąpiel nasion w stężonym kwasie siarkowym może trwać znacznie dłużej, nawet do dwóch godzin.

Następnie jednak należy nasiona dokładnie wypłukać, a po wysuszeniu zaraz wysiać lub poddać stratyfikacji. Gorsze rezultaty osiąga się po użyciu innych kwasów lub zasad [31].

Hormonizacja polega na działaniu egzogennymi substancjami wzrostowymi — IAA, auksyną, gibereliną i kininą [27, 15]. Z badań przeprowadzonych przez Rumińską i inn. [32] nad wpływem kwasu giberelinowego na kiełkowanie i pierwsze stadia rozwojowe siewek lawendy wąskolistnej wynika kilka interesujących wniosków. Uzyskano mianowicie wyraźne przyspieszenie kiełkowania nasion moczonych w ciągu 24 godzin w roztworze GA_3 (przy różnym stężeniu związku). Zauważono jednak wyższą wrażliwość siewek na zgorzel rozsady.

Przy laboratoryjnym kiełkowaniu nasion należy zwrócić uwagę na odpowiedni rozrzut diaspor w naczyniach celem eliminacji wpływu inhibitorów wypłukiwanych do podłoża. Nawet przy zachowaniu poprawnych warunków kiełkowania, część nasion nie kiełkuje. Można wtedy sprawdzić żywotność zarodków metodami biochemicznymi. Do najczęściej stosowanych należy metoda tetrazolinowa Lakona i indygokarminowa wg Nielubowa. Nasiona o zarodkach żywych można uznać za twarde. Opisy postępowania z nasionami roślin motylkowych, krzyżowych, baldaszkowych, lnu, konopii, zbożowych i wielu innych podają Dorywalski i wsp. [12] oraz Jankiewicz [19].

Po zbadaniu zdolności kiełkowania nasion w świadectwie oceny podaje się również ilość nasion twardych. Istniejące Normy Międzynarodowe określają dopuszczalną ilość tych nasion w próbkach. Do nasion kiełkujących zaliczono u lucerny wszystkie nasiona twarde, u koniczyny czerwonej połowę, a u innych motylkowatych jedną trzecią tych nasion [12].

Urzędowe normy polskie w odniesieniu do diaspor marchwi podaje Korohoda i in. [21]. Normy te podlegały rewizji. W Polsce nie wprowadzono ostatnio istotnych zmian w tym zakresie.

Biologiczne i uylitarne znaczenie nasion twardych

Złożona jest również odpowiedź na pytanie czy zdolność do wytwarzania nasion twardych należy ocenić pozytywnie czy też negatywnie. Z biologicznego punktu widzenia jest to cecha wybitnie pozytywna. Poprzez zachowanie żywotności nasion przez różnie długie okresy spoczynku zostaje zabezpieczona długowieczność gatunku na raz objętym przez rośliny stanowisku. Tłumaczy to na przykład masowe pojawianie się gatunków nie występujących w runie leśnym, po ścięciu drzewostanu, wykarczowaniu i przeoraniu gleby. Dotyczy to także dziko rosnących roślin ruderalnych, pokrywających pobocza dróg, skarpy i nasypy kolejowe, jak również chwastów pól uprawnych, o nie zawsze ujemnym znaczeniu dla plonu roślin użytkowych. Twarde nasiona występują bowiem liczniej u roślin dzikich, dają wyższe plony. Aspekt gospodarczy jest natomiast złożony. Jest ujemny w przypadku upraw jednorocznych. Szczególnie wtedy, kiedy ilość nasion twardych nie mieści się w gra-

nicach obowiązujących norm i powoduje nierównomierność wschodów, wyplonienia, trudności w ustalaniu daty sprzętu roślin, zachwaszczeniu itd. W uprawach dwu- i wieloletnich jak ma to miejsce na łąkach, pastwiskach obecność nasion o opóźnionym kiełkowaniu, które następuje na wiosnę 2 lub 3 roku powoduje równomierne zadarnienie terenu.

Kolekcjonerom umożliwia badanie żywotności nasion przechowywanych w muzeach przez różny okres czasu, jak miało to miejsce w przypadku nasion *Cassia multijuga* lub *Mimosa glomerata*, które wykiełkowały po przeszło 150 i 200 letnim spoczynku (Becquerel cyt. [14]).

Twardość nasion pojawiła się u roślin jako cecha przystosowawcza. Biologiczne zróżnicowanie nasion wywołują czynniki genetyczne i właściwości fizjologiczne w bardzo wysokim stopniu określane przez czynniki zewnętrzne. Te ostatnie wpływają na stopień wykształcenia zarodka, prawidłowy i wyprzedzający go rozwój bielma oraz na strukturę i biofizyczne właściwości łupin nasiennych.

Jeżeli mechanizm twardości nie jest uwarunkowany silnym i szybkim ale odwracalnym wysychaniem okryw, to zależy od fizykochemicznych właściwości protoplastów oraz od obecności inhibitorów wzrostu. Często powstrzymywanie się nasion od kiełkowania jest utrzymywane przez kilka mechanizmów równocześnie. Stosowane obecnie środki mechaniczne i chemiczne usuwające twardość okryw są ryzykowne i nie zawsze opłacalne.

LITERATURA

- [1] Aniskin W. J., Saprykina E. G., 1962. O wodopronikajemosti siemian kormowych bobow i liupina. Selekcja i Siemienowodstwo 4:18—22.
- [2] Artiuszenko Z. T., Konowałow I. N., 1951. Morfologija płodow tipa orech i oreszek. Trudy Bot. Inst. im. Komarowa, Ser. 7, Morfologia i anatomija rastienij II. Moskwa—Leningrad, Akad. Nauk SSSR, 2:170—192.
- [3] Barton L. V., 1961. Seed preservation and longevity. London (tłum. ros. 1964, Moskwa).
- [4] Bärtels A., 1978. Gehölzvermehrung Ver. Eugen Ulmer. Stuttgart.
- [5] Bertsch K., 1941. Früchte und Samen. Ein Bestimmungsbuch zur Pflanzenkunde der vorfeschichichtlichen Zeit, Stuttgart.
- [6] Bouman F., Calis J. I. M., 1977. Integumentary Shifting — A Third Way to Unitegmy. Ber. Deutsch Bot. Ges. Bd. 90:15—28.
- [7] Cinger N. W., 1958. Siemia, jego rozwitije i fizjologiczeskije swojstwa. Moskwa.
- [8] Corner E. J. H., 1976. The Seeds of Dicotyledons, Vol. 1, 2 Cambridge Univer. Press. Cambridge New York, Melbourne.
- [9] Crocker W., Barton L. V., 1953. Physiology of seeds. Waltham.
- [10] Dalkiewicz-Baranowska H., 1962. Nasiona twarde. Zeszyty Naukowe SGGW. Rolnictwo. 5:3—29.
- [11] Dorywalski J., Prejbisz F., Świącicki W., Wójcicki M., 1964. Czyszczenie nasion. PWRiL. Warszawa.
- [12] Dorywalski J., Wojciechowicz M., Bartz., 1964. Metodyka oceny nasion. Wydanie IV, PWRiL, Warszawa.
- [13] Esdorn J., 1930. Untersuchungen über die Hartschaligkeit der gelben Lupine., Wiss. Arch. für Landw., Bd 4, 4.

- [14] Grzesiuk St., 1967. Fizjologia nasion. PWRiL, Warszawa.
- [15] Grzesiuk St., Kulka K., 1981. Fizjologia i biochemia nasion PWRiL, Warszawa.
- [16] Grzesiuk St., Łuczyńska J., 1971. Przemiany fizjologiczno-biochemiczne w nasionach podczas spoczynku i przechowywania. Z. Probl. Post. N. Roln. 113:69—96.
- [17] Hegi G., 1975. *Illustrierte Flora von Mittel — Europa*. Bd. 5. Teil IV Labiatae. Verlag P. Parey, Berlin u. Hamburg.
- [18] Hyde E. O. C., 1954. The function of the Hilum in some *Papilionaceae* in relation of the seed and the permeability of the testa. *Ann. Bot.* 70:241—256.
- [19] Jankiewicz L. S. (red.), 1979. Fizjologia roślin sadowniczych. PWN, Warszawa.
- [20] Kandeler R., 1977. Fizjologia rozwoju roślin. PWN, Warszawa.
- [21] Korohoda J., Szwed-Urbaś K., Krekora J., 1971. Problem wartości siewnej nasion marchwi (*Daucus carota* L.) *Zesz. Probl. Post. N. Roln. Zagadnienia biologii nasion i nasiennictwa* 113: 229—252.
- [22] Kulpa Wł., 1960. Biologia kiełkowania młka wiosennego (*Adonis vernalis* L.) *Roczn. Nauk Roln.* 81 — a — 2:337—382.
- [23] Küster E., 1951. *Die Pflanzenzelle*, Jena.
- [24] Lityński M., Chudoba Z., 1960. Wpływ warunków przechowywania na występowanie nasion twarдых u niektórych gatunków roślin motylkowych. *Hołdowla Rośl., Aklimat. i Nasien.* 4, 2:167—198.
- [25] Lityński M., 1977. Biologiczne podstawy nasiennictwa. PWN, Warszawa.
- [26] Netolitzky F., 1926. *Anatomie der Angiospermen — Samen*, 10. *Handbuch der Pflanzenanatomie*, Berlin.
- [27] Nikołajewa M. G., 1962. Rol giblerellina w naruszeniu pokoja sian. *Bot. Żurnał*, t. 47 (12) 1823—1835.
- [28] Nikołajewa M. G., 1968. On the hormonal nature of the regulation of deep dormancy in seeds. (In: *Proc. Intern. Symp. on Seed Physiology of Woody Plants*, Kórnik, 39—45.
- [29] Ostromęcki K., 1956. Obserwacje nad twardością nasion niektórych motylkowych. *Biul. IHAR*, 13:148—151.
- [30] Pelcich A., 1962. O twiordosiemiennosti ozimój mochnatoj wiki. *Agrobiologija* 6:932—934.
- [31] Popcow A. W., 1953. Twierdyje siemiena. *Trudy Gławn. Bot. Sada*. tom 3:58—105.
- [32] Rumińska A., Suchorska K., Węglarz Z., 1976. Wpływ gibereliny na kiełkowanie nasion lawendy wąskolistnej — *Lavandula vera* L. *Herba Pol.* 2:132—137.
- [33] Suszka B., 1966. Warunki termiczne ciepło-chłodnej stratyfikacji nasion uprawnych odmian śliw. *Arboretum Kórnickie*, XI. 1966:241—258.
- [34] Suszka B., 1967. Studia nad spoczynkiem i kiełkowaniem nasion różnych gatunków z rodzaju *Prunus* L. *Arboretum Kórnickie* XII, 221—282.
- [35] Truszkowska W., Piekarska J., Pietruszka B., 1971. Obserwacje wartości siewnej niektórych odmian koniczyny czerwonej. *Z. Probl. Post. N. Roln.* 113: 329—341.
- [36] Tyszyńska D., 1962. Nasiennictwo zielarskie. *Wyd. Przem. Lekk. i Spoż.*, Warszawa.
- [37] Watson D. P., 1948. Structure of the testa and its relation in the *Papilionaceae* tribes *Trifoliae* and *Letae*. *Ann. Bot.* t. 12:385—409.
- [38] Winter D., 1960. The development of the seed of *Abutilon* Theophrasti I. Ovule and embryo. *Amer. Journ. of Bot.* Vol. 47:8—14.
- [39] Winter D., 1960. The development of the seed of *Abutilon* Theophrasti II. Seed coat. *Amer. Journ. of Bot.* Vol. 47:157—162.
- [40] Wojciechowska B., 1958. Systematyka, morfologia i anatomia owoców i nasion rodz. *Salvia*. *Monogr. Botan.* XII: 89—120.
- [41] Wojciechowska B., 1961. Morfologiczne i anatomiczne cechy owoców środkowoeuropejskich gatunków niektórych rodzajów z podrodziny *Stachydoideae* z rodziny *Labiatae*. *Monogr. Botan.* XII:89—120.
- [42] Wojciechowska B., 1966. Morfologia i anatomia owoców i nasion z rodziny *Labiatae*, ze szczególnym uwzględnieniem gatunków leczniczych. *Monogr. Botan.* XXI:3—244.

- [43] Wojciechowska B., 1972. Studia systematyczne nad nasionami rodziny *Solanaceae* Pers. Monogr. Botan. XXXVI:117—197.
- [44] Wojciechowska B., Hoła B., Studia systematyczne nad nasionami *Reseda* sp. (w druku).
- [45] Wróblówna W., 1955. Obserwacje nad kiełkowaniem nasion i wzrostem siewek *Stangeria paradoxa* Th. Moore. Acta. Soc. Bot. Polon. XXIV. 3:698—704.

Doc. dr hab. Barbara Wojciechowska
Uniwersytet Śląski, Katedra Anatomii i Cytologii Roślin
ul. Jagiellońska 28, 40-032 Katowice