

O wpływie humianu na oddychanie pszenicy

The influence of humate on the respiration of wheat

MIROSLAWA ŠMÍDOVÁ

Dodatni wpływ próchnicy na wzrost i rozwój roślin jest wyjaśniany w literaturze naukowej w różny sposób. Najbardziej zainteresowała mnie hipoteza radzieckiej uczonej *Christiewy* (1953). Sądzi ona, że kwasy humusowe są związkami typu wielofenoli, które ulegają utlenieniu tlenem atmosferycznym przy pomocy roślinnych polifenolooksydaz. Stają się więc one oksygenazami, które pod działaniem roślinnej peroksydazy odszczepiają tlen w formie atomowej. Tlen atomowy zostaje następnie katalitycznie przeniesiony na substrat, a peroksydowa forma wielofenolu przechodzi w chinon. Ponieważ chinony mają silny potencjał oksydacyjny, mogą odbierać związkom organicznym wodór, natomiast same przechodzą pod wpływem katalizy enzymatycznej ponownie w wielofenole.

Christiewa przypuszcza zatem, że wpływ kwasów humusowych na rozwój roślin polega na wspomaganiu procesów oksydacyjnych przez dostarczanie tlenu, czyli na bezpośrednim udziale drobin kwasu humusowego w procesach oksydacyjnych roślin. Swej hipotezy nie poparła ona jednak dostateczną ilością doświadczeń. Stwierdziła tylko, że rośliny hodowane w bardzo niskich stężeniach Na-humianu (0,0001—0,01%) pobierają więcej tlenu korzeniami i liśćmi niż rośliny kontrolne. Również przy dodaniu Na-humianu do homogenatu korzeni jęczmienia zwiększa się pobieranie tlenu przez homogenat. Różnica w pobieraniu tlenu u korzeni jest jednak wyższa niż u liści. Wzrasta również aktywność peroksydazy. *Christiewa* a ponadto stwierdziła, że aktywność oddychania i peroksydazy zwiększa się, zwłaszcza po dodaniu Na-humianu do wody destylowanej, natomiast aktywność peroksydazy zmniejsza się przede wszystkim wtedy, gdy dodaje się Na-humianu do roztworu soli mineralnych. Na podstawie swych doświadczeń doszła do tych samych wniosków co inni badacze radzieccy: *Biber i Magaziner* (1951). *Christiewa* jednak nigdzie nie mówi o tym, czy izolowała roślinną polifenolooksydazę, która by utleniała Na-humian podobnie jak pyrogallol i inne pochodne fenolu i chinonu.

S t. G u m i ů s k i (1955) stwierdza, że humus ma największy wpływ na korzenie roślin, które żyją w specyficznych warunkach niedostatku tlenu (np. nie przewietrzane kultury wodne). Pod wpływem Na-humianu wzrasta współczynnik oddechowy (CO_2/O_2), przy czym intensywność oddychania nie spada. Sądzi on zatem, że Na-humian zastępuje częściowo tlen atmosferyczny przy oddychaniu korzeni. Dodatni wpływ humianu obserwuje się dopiero po pewnym czasie w środowisku, do którego dodano Na-humian. To opóźnienie w działaniu humianu tłumaczy G u m i ů s k i koniecznością pewnego okresu czasu dla adaptacji organizmu w zmienionych warunkach. Różnice współczynnika oddechowego u różnych roślin tłumaczy ich swoistą przemianą materii. Np. wysoki współczynnik oddechowy korzeni kukurydzy (1,54) wyjaśnia albo śródrobinowym oddychaniem i wytwarzaniem alkoholu, albo oksydacją wytworzonych kwasów organicznych. Niski współczynnik oddechowy u korzeni pomidorów (0,29) tłumaczy niepełnością biologicznej oksydacji i wtórną karboksylacją, czego następstwem jest stałe gromadzenie się w korzeniach kwasów organicznych. Nie potwierdza jednak swej hipotezy eksperymentalnymi danymi.

Badacze niemieccy F l a i g i S a a l b a c h (1955) obserwowali dodatni wpływ produktów rozkładu sztucznego kwasu humusowego na wzrost korzeni zbóż. W doświadczeniach swych stosowali tymohydrochinon. Zjawisko to tłumaczą zwiększeniem się intensywności oddychania. Znaną jest rzeczą, że sucha masa roślin zwiększa się głównie dzięki intensywniejszym podziałom komórek. Podział komórek wymaga energii, którą organizm czerpie z oddychania. Thymohydrochinon powoduje szybsze kiełkowanie ziaren i szybszy wzrost korzeni. Działa on jako system redox thymohydrochinon-thymochinon, odgrywając ważną rolę przy transporcie wodoru w terminalnym systemie oksydazowym. Zwiększona aktywność terminalnych oksydaz powoduje szybszą reoksydację kwasu pirogronowego i w ten sposób wzrost intensywności oddychania. Tą drogą uwalnia się większa ilość energii, która może być wykorzystana do intensywniejszego podziału komórek, co z kolei może prowadzić do zwiększenia się suchej masy korzeni. Na poparcie swej hipotezy F l a i g i S a a l b a c h przytaczają fakt zwiększonej aktywności dehydraz i zwiększoną aktywność oddychania korzeni roślin.

Są to tylko ciekawe hipotezy robocze, które trzeba dopiero potwierdzić doświadczalnie. W pracy swej postanowiłam zająć się przede wszystkim potwierdzeniem znaczenia powyższych hipotez dla pewnego gatunku roślin, używając humianu z bliżej określonego miejsca.

Na razie podaję tylko wstępne wyniki, ponieważ zagadnienie, które opracowuję, ma znaczną rozpiętość wymagającą długotrwałych doświadczeń.

METODA PRACY I UŻYTY MATERIAŁ

Doświadczenia przeprowadziłam na pszenicy ozimej odmiany Pyšelka pochodzącej ze zbioru z roku 1956 w Kromerizu. Humian uzyskiwałam z odpadowego węgla brunatnego — oksyhumolitu — z kopalni odkrywkowej „Osvobozeni” znajdującej się w północnych Czechach.

Przygotowanie Na-humianu

Rozdrobniony i wysuszony na powietrzu oksyhumolit zadawałam 0,2N HCl i przepłukiwałam wodą destylowaną. Tak przygotowany materiał poddawałam ekstrakcji 0,2N NaOH, a ekstrakt wytrącałam stężonym HCl i odwirowałam. Ekstrakcję, wytrącanie i odwirowywanie powtarzałam dwukrotnie. Uzyskany preparat po drugim wirowaniu w formie pasty dekantowałam wodą destylowaną. Następnie ekstrahowałam etanolem w aparacie Soxhleta tak długo, aż ekstrakt stał się prawie bezbarwny. Użytkany w ten sposób Na-humian jest trudno rozpuszczalny w wodzie. Rozpuszczałam go więc w słabym roztworze NaOH i doprowadzałam pH za pomocą HCl do żądanej wartości. Roztwór zasadniczy miał stężenie 0,1% i pH 5,5, przy doświadczeniach był odpowiednio rozcieńczany.

Do kultur używałam oprócz wody destylowanej również pożywki, której skład chemiczny podany jest w tabeli 1.

TABELA 1
Skład chemiczny pożywki

Sól	mg/1	10 ⁻² %	mM
Ca/NO ₃ / ₂	0,8	8,0	4,87
KH ₂ PO ₄	0,2	2,0	1,47
KNO ₃	0,2	2,0	1,98
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,2	2,0	0,81
KCl	0,1	1,0	1,34
FeCl ₃	0,01	0,1	0,062

Ponieważ w tym roztworze, szczególnie zaś przy wyższych stężeniach, Na-humian ulegał wytrąceniu, używałam tylko wymienionego wyżej roztworu rozcieńczonego wodą destylowaną przy zachowaniu stosunku: pożywka — woda destylowana 1 : 3.

Pszenica kielkowała na szalkach Petriego w wodzie destylowanej albo w roztworze Na-humianu bez papieru filtracyjnego. Kiedy korzonki roślin osiągnęły długość 1,5 do 2,0 cm (mniej więcej na trzeci dzień), rozpocząłam hodowlę wodne. Do kultur używałam naczyń szklanych o pojemności 200 ml. Naczynia napełniałam pożywką, przewiązywałam sterylną gazą nasyconą

parafiną albo tkaniną styronową. Kielkujące rośliny posadziłam do 20 otworów tej pokrywki. Podczas doświadczenia brałam w określonych odstępach czasu próby i oznaczałam ciężar świeżej i suchej masy pędów i korzeni oraz zużycie tlenu przez korzenie z różnych wariantów doświadczenia.

Do izolacji systemów enzymowych, które wymagały znacznej ilości roślin, brałam roślinki hodowane na dużych szalkach Petriego ($\varnothing 20$ cm) w przeciągu 5 do 7 dni w wodzie destylowanej lub w Na-humianie.

O z n a c z a n i e z u ż y t e g o t l e n u

Zużycie tlenu (Q_{O_2}) oznaczałam metodą Warburga przy temperaturze 26°C . Używałam korzeni roślin dopiero co wykiełkowanych oraz korzeni roślin hodowanych w kulturach wodnych. Odcięte koniuszki korzeni o długości 1,0 do 1,5 cm zostawiałam w wodzie destylowanej na przeciąg 60 minut przed rozpoczęciem pomiarów. Do każdego naczynka aparatu Warburga dawałam końce korzeni z 5 roślin (około 25 korzonków). W głównym naczyniu znajdowało się 3 ml wody destylowanej lub pożywki. W ramieniu naczynka znajdował się 1 ml wody destylowanej albo pożywki bądź 1 ml roztworu Na-humianu w wodzie destylowanej lub w pożywce. Stężenie Na-humianu w bocznym ramieniu było tak dobrane, by po przelaniu płynu do naczynia głównego jego stężenie wynosiło 0,01%, a stężenie soli mineralnych nie ulegało zmianie. W naczynku centralnym znajdował się krążek bibuły filtracyjnej zwilżonej 30% roztworem NaOH.

Przy obliczaniu objętości gazu w naczyniu (Vg), objętość korzenia określałam przyjmując, że 1 g świeżej masy korzenia odpowiada 1 ml gazu. Wartości te z grubsza zgadzają się z danymi uzyskanymi przy stosowaniu cylindra miarowego. Na wykresach podane są wartości Q_{O_2} w μl_{O_2} na 1 g świeżej masy korzeni w ciągu 10 min.

Badalam również aktywność oksydaz. Do tego celu był używany albo homogenat korzeniowy przygotowany w szklanym homogenizatorze przy temp. 0°C , albo preparat acetonowy dwukrotnie wytrącony z tego homogenatu. Przy tych oznaczeniach w głównym naczyniu Warburga znajdowało się 3 ml roztworu, którego skład podaje bezpośrednio przy każdym konkretnym przykładzie. W naczynku centralnym było 0,2 ml 30% roztworu NaOH. W ramieniu znajdował się 1 ml inhibitora lub substratu.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

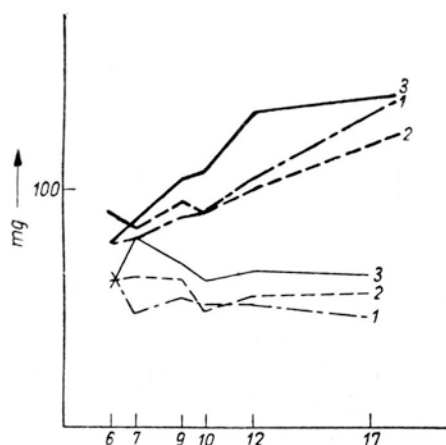
Doświadczenia w kulturach wodnych przeprowadzałam w dwóch rozległych seriach. W jednej z nich rośliny rosły w wodzie destylowanej, w drugiej w pożywce. Każda seria posiadała kontrolę i dwie różne kombinacje Na-humianu 0,001 i 0,01%. Ilość naczyń w każdym wariantcie odpowiadała

ilości zamierzonych pomiarów. Doświadczenia powtarzałam czterokrotnie uzyskując podobne wyniki.

Jako przykład podaję doświadczenia rozpoczęte 15 czerwca 1957 roku. Pierwsze trzy pomiary intensywności oddychania przeprowadziłam na roślinach, które kiełkowały w szalkach Petriego w wodzie destylowanej i w wyżej podanych stężeniach Na-humianu. Na trzeci dzień po rozpoczęciu doświadczeń przenieśliśmy rośliny do hodowli wodnych. Dalsze pomiary przeprowadziłam już u roślin hodowanych w kulturach wodnych.

W y n i k i d o ś w i a d c z e ń

1. Jak widać z wykresu (ryc. 1), świeża masa korzeni jest wyższa w wariantach z Na-humianem, zwłaszcza przy stężeniu 0,01%. Podobne, ale mniej wyraźne różnice można stwierdzić u suchej masy korzeni (wykres na ryc. 2).

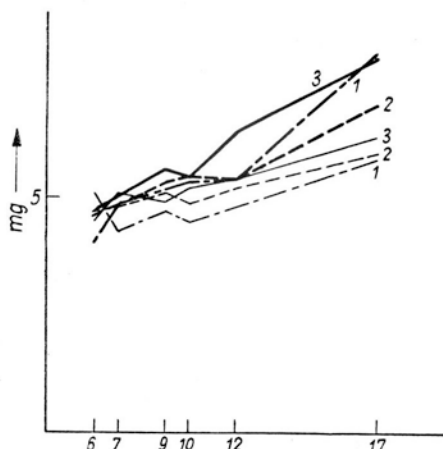


Ryc. 1. Średni ciężar świeżej masy korzeni w serii z wodą destylowaną i w serii z roztworem pożywki (w mg)

The average of fresh weight of roots of the both series (in mg)

Oś x — wiek rośliny w dniach; oś y — mg; grube linie — serie w pożywce; cienkie linie — serie z wodą destylowaną; 1 — stężenie Na-humianu; 0,000%; 2 — 0,001%; 3 — 0,01%

Axis x — age of plants in days; axis y — milligrams of fresh weight; the thick lines — the series in nutritive medium; the fine lines — the series in distilled water. The concentration of sodium humate: 1—0,000 per cent; 2—0,001 per cent; 3—0,01 per cent



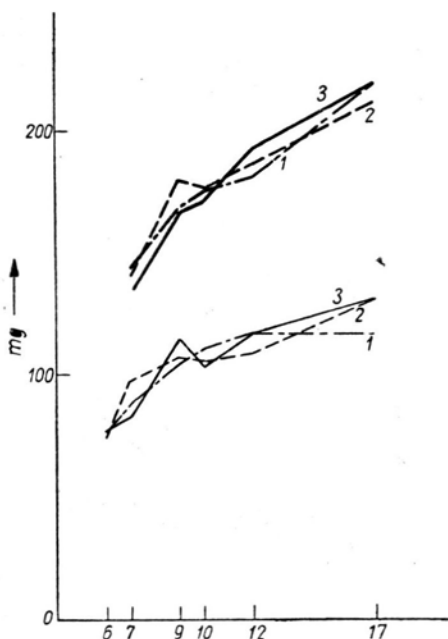
Ryc. 2. Średni ciężar suchej masy korzeni w serii z wodą destylowaną i w serii z roztworem pożywki (w mg)

The average of dry weight of plant roots of both series (in mg)

U liści natomiast (wykresy, ryc. 3 i 4) nie możemy stwierdzić tych zależności. Wartości różnych wariantów praktycznie nie różnią się od kontroli.

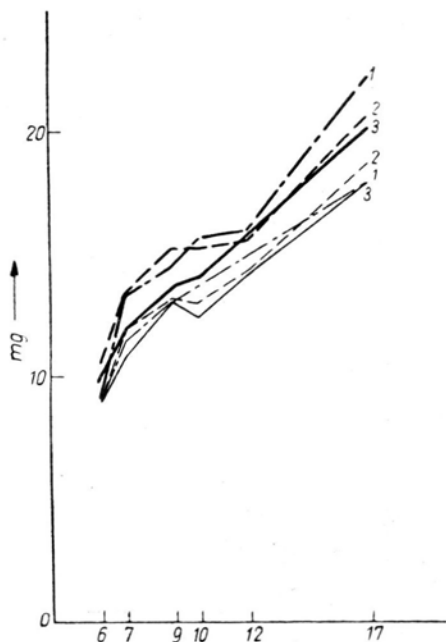
2. Różnice w ciężarze świeżej masy korzeni (ryc. 1) roślin hodowanych w wodzie destylowanej i w pożywce są zawsze większe niż różnice między kontrolą a którąkolwiek z użytych koncentracji Na-humianu.

3. Przyrost świeżej i suchej masy korzeni podczas hodowli jest wyższy u roślin w serii z roztworem pożywki niż w serii z wodą destylowaną. W serii z wodą destylowaną obserwowano nawet nieznaczny spadek świeżej masy korzeni, podczas gdy sucha masa korzeni zwiększyła się nieco. Okazuje się



Ryc. 3. Średni ciężar świeżej masy części nadziemnej roślin w serii z wodą destylowaną i w serii z roztworem pożywki (w mg). Oznaczenia jak na ryc. 1

The average of fresh weight of upper parts of plants of both series (in mg). The description is the same as in the fig. 1

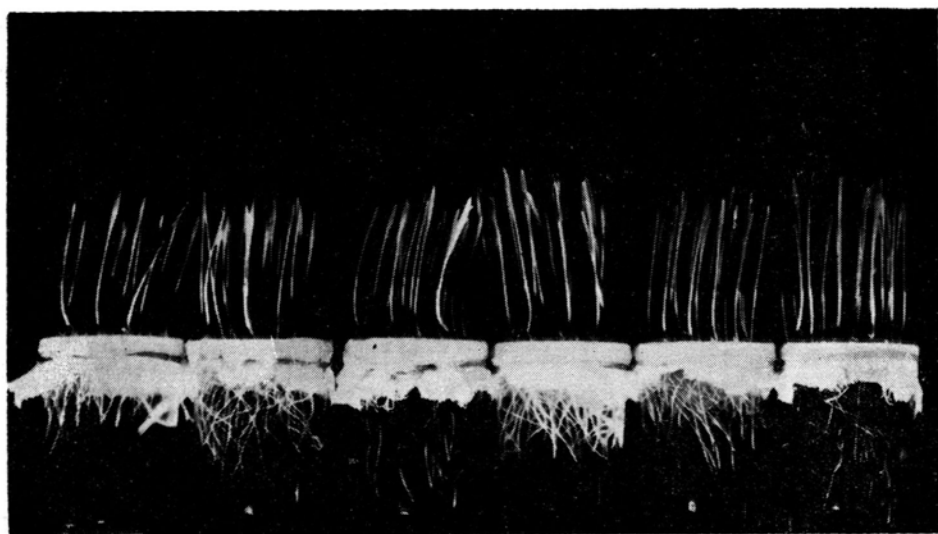


Ryc. 4. Średni ciężar suchej masy części nadziemnej roślin w serii z wodą destylowaną i w serii z roztworem pożywki (w mg). Oznaczenia jak na ryc. 1

The average of dry weight of upper parts of plants of both series (in mg). The description is the same as in the fig. 1

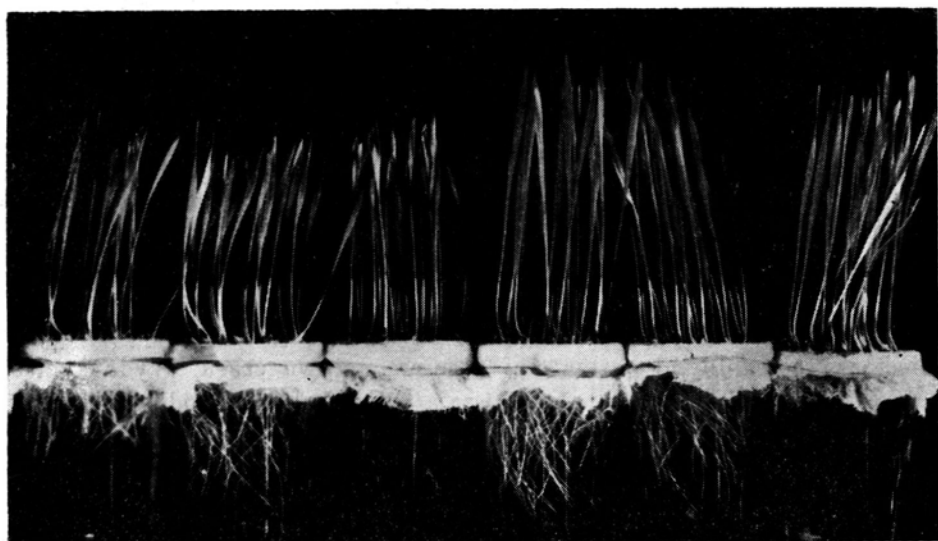
więc, że u młodych roślin pszenicy podczas 17-dniowej hodowli o wiele większy wpływ na zmianę ciężaru wywierają sole mineralne niż różne stężenia Na-humianu.

4. Również długość części nadziemnych roślin pszenicy jest bardziej uzależniona od obecności soli mineralnych niż od stężenia Na-humianu (ryciny 5, 6, 7). Korzenie zachowują się natomiast nieco inaczej. Można tutaj stwierdzić wyraźną zależność od Na-humianu, zwłaszcza w serii z wodą destylowaną. W serii z pożywką różnice są raczej problematyczne i występują tylko na początku hodowli.



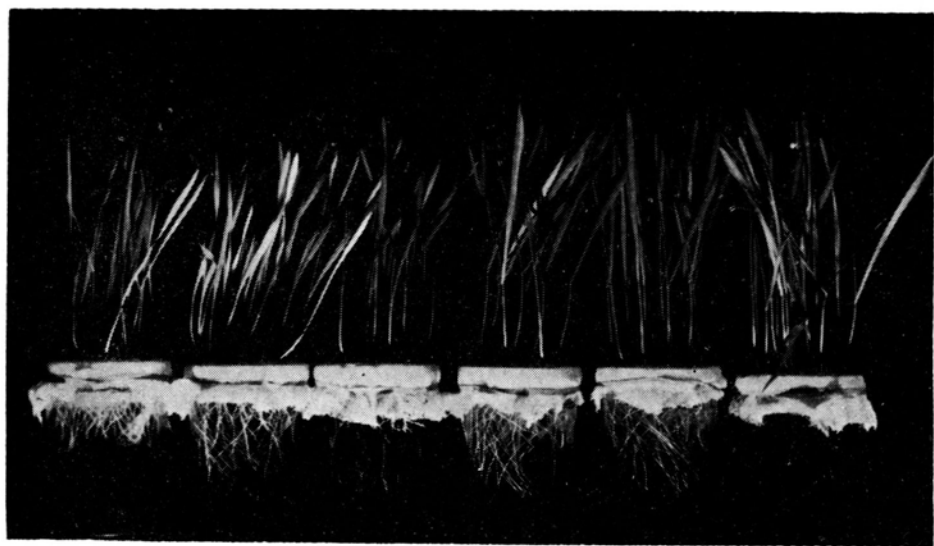
Ryc. 5. Pszenica w serii z wodą destylowaną i w serii z roztworem pożywki w 6 dniu hodowli

The plants of wheat in both series in age of 6 days



Ryc. 6. Pszenica w serii z wodą destylowaną i w serii z roztworem pożywki w 12 dniu hodowli

The plants of wheat in both series in age of 12 days



Ryc. 7. Pszenica w serii z wodą destylowaną i w serii z roztworem pożywki w 17 dniu hodowli

The plants of wheat in both series in age of 17 days

1 — woda destylowana; 2 — 0,000% roztwór Na-humianu w wodzie destylowanej; 3 — 0,01% roztwór Na-humianu w wodzie destylowanej; 4 — roztwór pożywki; 5 — 0,001% roztwór Na-humianu w roztworze pożywki; 6 — 0,01% roztwór Na-humianu w roztworze pożywki
 1 — distilled water; 2 — solution of sodium humate in distilled water of concentration 0,001 per cent; 3 — solution of sodium humate in distilled water in concentration 0,01 per cent; 4 — solution of sodium humate in nutritive solution in concentration 0,01 per cent

Z u ż y c i e t l e n u

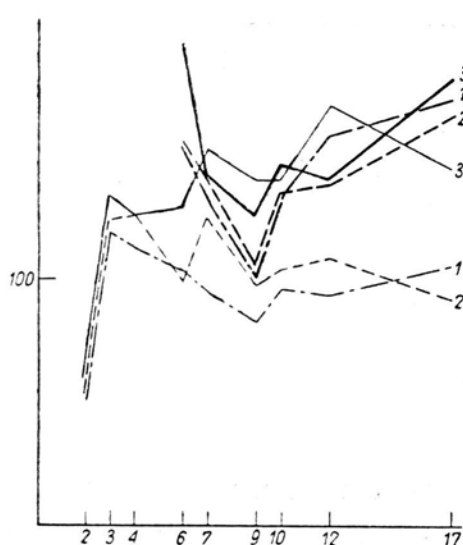
1. Z wykresu na ryc. 8 wynika, że zużycie tlenu przez korzenie roślin z wodą destylowaną jest większe tam, gdzie był dodany Na-humian. W serii z pożywką różnica nie jest tak wyraźna.

2. W pierwszych dniach po wykiełkowaniu zaznaczają się tylko nieznaczne różnice między poszczególnymi wariantami. W tej serii doświadczeń, w której do dalszej hodowli użyto wody destylowanej, zwiększają się różnice między poszczególnymi wariantami w miarę upływu czasu. Wydaje mi się jednak, że te różnice znowu zmniejszają się pod koniec hodowli (u roślin 17-dniowych).

3. Ciekawie przedstawia się zużycie tlenu przez korzenie roślin w obu seriach. Jak wynika z wykresu na rycinie 9 (gdzie za 100% przyjęto pobieranie tlenu przez rośliny hodowane w wodzie destylowanej bez humianu sodowego) nie występują tutaj wyraźne różnice w pobieraniu tlenu między roślinami hodowanymi w wodzie destylowanej a roślinami hodowanymi w roztworze 0,01% Na-humianu w wodzie destylowanej oraz między kom-

binacją w wodzie destylowanej a wszystkimi innymi wariantami w pożywce, zwłaszcza od dwunastego dnia hodowli.

4. Intensywność oddychania korzeni w obu seriach można porównać i w inny sposób. Pierwsze trzy pomiary, jak już powiedziałam, zostały przeprowadzone na roślinach, które kiełkowały na szalkach Petriego w wodzie



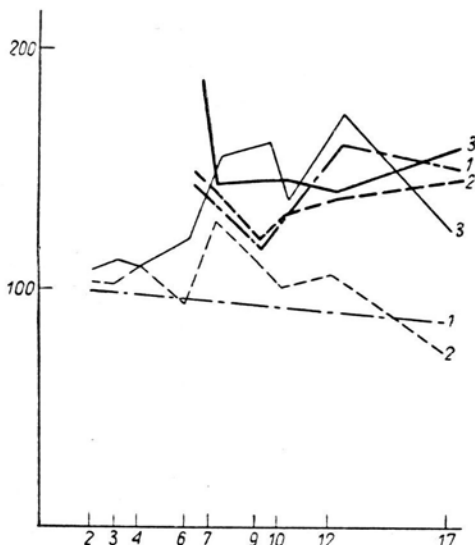
Ryc. 8. Średnie pobieranie tlenu w μlO_2 (10 min) 1 g ciężaru świeżej masy korzeni roślin w serii z wodą destylowaną i w serii z roztworem pożywki

The average of oxygen consumption in μlO_2 (10 min) 1 g of fresh weight of plant roots of both series

Oś x — wiek roślin w dniach; oś y — μlO_2 (10 min) 1 g ciężaru świeżej masy korzeni.

Oznaczenie krzywych jak na ryc. 1

Axis x — the age of plants in days; axis y — μlO_2 (10 min) 1 g fresh weight of roots. Description as in the fig. 1



Ryc. 9. Intensywność oddychania korzeni w serii z wodą destylowaną i w serii z roztworem pożywki (w % kontroli)

The rate of respiration of roots of both series (expressed in per cent of control)

Oś x — wiek rośliny w dniach; oś y — %, 100% Q_{O_2} w μlO_2 (10 min) 1 g ciężaru świeżej masy korzeni z wodą destylowaną bez Na-humianu.

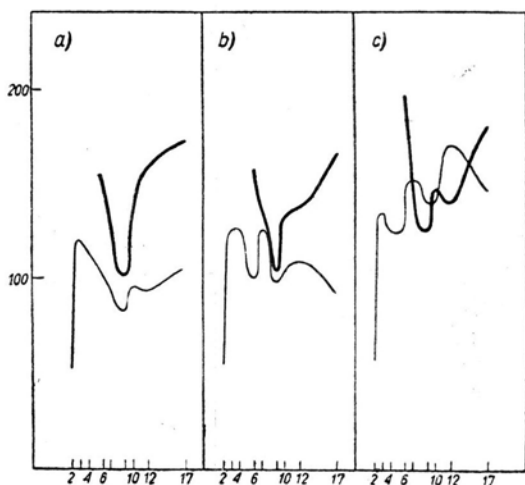
Oznaczenia krzywych jak na ryc. 1

Axis x — the age of plants in days; axis y — per cent of control. As 100 per cent was taken Q_{O_2} in μlO_2 (10 min) 1 g fresh weight of roots of plants, cultivated in destiled water without sodium humate. Description as in the fig. 1

destylowanej i w humianie sodowym w różnych stężeniach. Potem dopiero były przesadzone do wody destylowanej bądź do pożywki z odpowiednią koncentracją Na-humianu. Z wykresu (ryc. 10) wynika, że w serii z wodą destylowaną, po przesadzeniu roślin do hodowli wodnych, nie stwierdza się większych zmian w intensywności oddychania. Natomiast po przesadzeniu roślin do pożywki zwiększa się intensywność oddychania, zwłaszcza tam, gdzie było większe stężenie Na-humianu. Można to stwierdzić już na trzeci

dzień po założeniu kultur wodnych. Po tym czasie zachodzi zmniejszenie intensywności oddychania, ale pod koniec hodowli obserwuje się ponowny jego wzrost.

5. Równocześnie z oznaczaniem pobierania tlenu przez korzenie roślin w obu seriach badałam bezpośredni wpływ humianu sodowego na roztwór



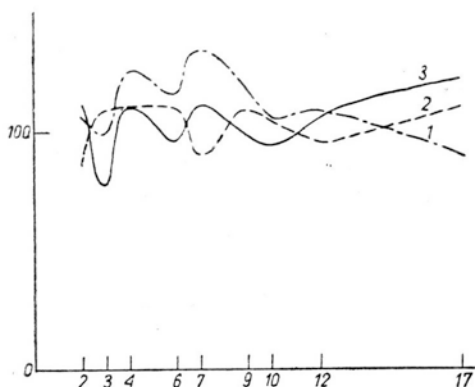
Ryc. 10. Średnie pobierania tlenu w μlO_2 (10 min) 1 g ciężaru świeżej masy korzeni w serii z wodą destylowaną i w serii z roztworem pożywki

The average of oxygen consumption in μlO_2 (10 min) 1 g of fresh weigh of plant roots of both series

Grube linie — serie z roztworem pożywki; cienkie linie — serie z wodą destylowaną; a — stężenie Na-humianu 0,000%, b — stężenie Na-humianu 0,001%; c — stężenie Na-humianu 0,01%; oś x — wiek roślin w dniach; oś y — μlO_2 (10 min) 1 g ciężaru świeżej masy korzeni

The thick lines — series in nutritive medium; fine lines — series in distilled water; a — concentration of sodium humate 0,000 per cent; b — concentration of sodium humate 0,001 per cent; c — concentration of sodium humate 0,01 per cent; axis x — age of plants in days; axis y — μlO_2 (10 min) 1 g fresh weight of roots

zasadniczy. Przelewany Na-humian do końcowego stężenia 0,1% zwiększał intensywność oddychania tylko u korzeni roślin hodowanych w czystej wodzie destylowanej, i to tylko w pierwszych dniach doświadczenia. Jak wynika z wykresu na ryc. 11, u innych kombinacji tej serii nie doszło do wyraźnych zmian. Wydaje się jednak, że pod koniec doświadczenia, po dodaniu Na-humianu, dochodzi do słabego podwyższenia intensywności oddychania, jeżeli intensywność oddychania w wodzie destylowanej przyjmujemy za 100%. W serii z pożywką (ryc. 12) obserwuje się nieznaczne różnice w pobieraniu tlenu, i to zarówno przed, jak i po dodaniu humianu sodowego do czystej pożywki. Wychylenia te są jednak mało wyraźne (100% — intensywność oddychania w pożywce bez humianu).

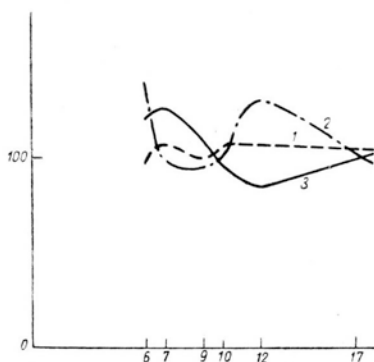


Ryc. 11. Intensywność oddychania korzeni roślin w serii z wodą destylowaną bezpośrednio po dodaniu 0,01% roztworu

Na-humianu do wody destylowanej
The rate of respiration of plant roots of series in the destiled water immediately after adding of sodium humate dissolved in destiled water in the finally concentration 0,01 per cent

Oś x — wiek rośliny w dniach; oś y — %;
100% — intensywność oddychania po dodaniu wody destylowanej

Axis x — the age of plants in days; axis y — per cent of control; As 100 per cent was taken the rate of respiration after adding destiled water



Ryc. 12. Intensywność oddychania korzeni roślin w serii z roztworem pożywki bezpośrednio po dolaniu 0,01% roztworu Na-humianu do pożywki. 100% = intensywność oddychania po dolaniu roztworu do pożywki. Oznaczenia jak na ryc. 8.

The rate of respiration of plant roots of series in the nutritive medium immediately after adding of sodium humate dissolved in nutritive medium in the finally concentration 0,01 per cent. The description as in the fig. 8

Enzymatyczne systemy oddechowe

Po stwierdzeniu, że humian sodowy powoduje bardziej intensywne oddychanie korzeni, zainteresowałam się bliżej zagadnieniem, jakie systemy enzymatyczne są specjalnie czułe na humian.

1. Badałam wpływ Na-humianu na utlenianie polifenolooksydazy, używając do tego celu preparatu acetonowego w 0,15M fosforanie o właściwościach buforowych. Nie stwierdzono żadnej aktywności w przypadku gdy użyto Na-humianu (stężenie 0,01%) jako utleniającego substratu, przy aktywowaniu preparatu polifenolooksydazy pirogalołem 21,5 μ l O₂/10 min.

2. Do badań udziału polifenolooksydazy przy całkowitym pobieraniu tlenu przez homogenat z korzonka pszenicy, używałam inhibitora, mianowicie dwuetylodwutiokarbaminianu w stężeniu $2,5 \times 10^{-3}$ M. Okazało się, że po dodaniu inhibitora oddychanie wzrasta, i to przy oddychaniu endogennym o 30%, a w obecności askorbinianu sodowego aż o 110%. Ten sam dwuetylodwutiokarbaminian użyty w doświadczeniu z preparowaną polifenolooksydazą wywołał 66% inhibicję.

Można by zatem sądzić, zgodnie z Michlinem i Pszenową (1955), że chodzi tu o konkurencyjne systemy; mianowicie cytochromooksydaza — polifenolooksydaza. W wypadku inhibowania polifenolooksydazy lub kwasu askorbinowego dwuetylodwutiokarbaminianem zwiększa się udział cytochromooksydazy. Słuszność tego poglądu zdaje się potwierdzać szybki wzrost aktywności cytochromooksydazy w obecności kwasu askorbinowego, który jest również dobrym substratem dla tego systemu oksydazowego.

3. Udział cytochromooksydazy stwierdzałam przy użyciu NaN_3 w stężeniu 10^{-3}M , a dehydrogenazę kwasu bursztynowego malonianem o stężeniu $5 \times 10^{-2}\text{M}$ w obecności bursztynianu sodu o stężeniu $1,25 \times 10^{-2}\text{M}$.

Przy użyciu malonianu o pH 4,5 obserwowano zahamowanie oddychania homogenatów z korzonków roślin o około 50%, i to zarówno w 0,01% Na-humianie, jak i w wodzie destylowanej. Równocześnie jednak obserwowano w próbach prowadzonych równolegle, gdzie jako inhibitora używano NaN_3 (pH 6,0), pewne zahamowanie oddychania (około 8%). Według Keilina (1936) w tych warunkach NaN_3 powinien inhibować cytochromooksydazę przynajmniej w 95% — kwas bursztynowy bywa z reguły utleniany systemem cytochromowym. Należy jednak pamiętać, że w wypadku inhibowania systemu cytochromowego za pomocą NaN_3 wzrasta aktywność polifenolooksydazy, która ma być w tych warunkach hamowana w 60%.

Nie udało mi się dotychczas stwierdzić różnicy między kombinacją w czystej wodzie destylowanej a w roztworze Na-humianu w wodzie destylowanej.

DYSKUSJA

Do doświadczeń wybrałam pszenicę ozimą, ponieważ, jak podaje Christie, należy ona do grupy roślin, które dobrze reagują na dodawanie humusu. Również w wyborze surowca, z którego sporządzałam Na-humian, starałam się znaleźć taki materiał, który był już wypróbowywany. Takim materiałem jest właśnie oksyhumolit, którego dodatni wpływ na wzrost roślin stwierdziło wielu pracowników naszego fakultetu (Prát, Častký, Melichar 1957; Lhotský 1955 i inni).

Wyniki moich doświadczeń są zgodne z wynikami innych autorów, którzy stwierdzili dodatni wpływ Na-humianu, zwłaszcza na wzrost młodych korzeni (Prát, Častký, Melichar, Tichý, Hilitzer, Flaig i inni). Jeżeli jednak chodzi o suchą masę korzeni, moje wyniki nie zgadzają się z doświadczeniami innych autorów (Tichý), którzy nie stwierdzili w swych doświadczeniach zwiększania się suchej masy korzeni pod wpływem działania humusu. Wyniki moje są zgodne natomiast

z wynikami Flaig i Saalbacha (1955), którzy działając tymo-
hydrochinonem (rozkładowy produkt sztucznego kwasu huminowego) stwier-
dzili zwiększenie się suchej masy korzeni. Zgodnie z tymi autorami można
przypuszczać, że zwiększanie się suchej masy może być następstwem przy-
spieszonego dzielenia się komórek w korzeniu (a więc polega nie tylko na
wydłużaniu się komórek, jak można by sądzić na podstawie zwiększania się
tylko świeżej masy. Intensywniejszy podział komórek pod wpływem próch-
nicy stwierdzili również Wolnicka i Niklewski (1937).

Dla intensywniejszego podziału komórek potrzeba większej ilości energii,
którą rośliny uzyskują przez oddychanie. Wyniki moich doświadczeń,
które zgadzają się zresztą z wynikami innych autorów (Biber i Ma-
gaziner 1951, Christiewa 1953, 1955, Gumiński 1955,
Flaig i Saalbach 1955 i inni) wykazują, że Na-humian może zwięks-
zać intensywność oddychania.

Dochodzimy więc do pytania, dlaczego Na-humian zwiększa aktywność
procesów oksydacyjnych, przede wszystkim w kulturach z wodą destylo-
waną. Zależność tę zgodnie z moimi doświadczeniami stwierdziła również
Christiewa (1953). Jest tutaj możliwych kilka interpretacji.

a. Humian sodowy może działać w wodzie destylowanej jako pożywka;
w pożywce z soli mineralnych jego znaczenie odżywcze znika.

b. W pożywce z solami mineralnymi Na-humian zostaje częściowo wy-
trącony i dlatego rośliny nie mogą zeń korzystać.

c. W roztworach soli mineralnych Na-humian może mieć wpływ tylko
w pierwszych dniach życia rośliny, mianowicie do tego okresu rozwoju
rośliny, kiedy rozwinię się dostatecznie przemiana materii. Być może, że
chodzi tu o okres, w którym ustali się równowaga między fotosyntezą a wy-
korzystaniem soli mineralnych.

Wyniki doświadczeń z dolewaniem Na-humianu do naczyń z oddychają-
cymi korzeniami wykazały, że po dodaniu Na-humianu zwiększa się inten-
sywność oddychania roślin hodowanych w wodzie destylowanej. Doświad-
czenia te miały być potwierdzeniem badań Christiewy. W ekspery-
mentach tych nie dochodzi do adaptacji procesów oksydacyjnych względem
Na-humianu podczas hodowli roślin w jego roztworze, jak o tym mówi
Gumiński (1955).

Jak wynika z dotychczasowych doświadczeń z preparowaną polifenolo-
oksydazą i homogenatem z korzeni, wydaje się, że korzenie pszenicy nie mogą
wykorzystać bezpośrednio Na-humianu jako substratu do oddychania, jak
to wydaje się Christiewie (1953).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Z przeprowadzonych doświadczeń można wyciągnąć następujące wnioski.

1. Na-humian ma niewątpliwie znaczenie dla wzrostu korzenia na długość.

2. Sucha masa roślin hodowanych w pożywce z Na-humianem jest większa niż roślin hodowanych bez humianu sodowego. Różnica przejawia się o wiele wyraźniej w serii z wodą destylowaną niż w serii z pożywką.

3. Na-humian ma wpływ na intensywność oddychania korzonków pszenicy tylko w tym wypadku, kiedy użyto go w środowisku bez soli mineralnych, głównie w stężeniu 0,01%.

4. Tylko u roślin hodowanych w wodzie destylowanej zwiększa się intensywność oddychania korzeni bezpośrednio po dodaniu Na-humianu. Podobnie zwiększyła się również intensywność oddychania korzeni po przeniesieniu z wody destylowanej do pożywki. Z tego też powodu nie można twierdzić, że na zwiększenie oddychania ma wpływ tylko Na-humian.

5. Nie wyjaśniłam dotychczas mechanizmu bezpośredniego wpływu Na-humianu na enzymatyczne systemy oddychania.

SUMMARY

In my work I have determined the effect of sodium-humate, prepared from oxyhumolithe, after adding to destiled water or nutritive medium, on growth and respiration of wheat plant roots, cultivated in designated medium. Here are the conclusions of my attempts:

1. Sodium-humate promotes longitudinal growth of roots.

2. Dry weight of plants, which were cultivated in nutritive medium with sodium-humate is higher, then in pure medium. This difference is more evident in the variant with destiled water.

3. Sodium-humate appears to be stimulating factor for respiration of wheat roots only if it was added to destiled water as nutritive medium, especially in higher concentration (0.01%).

4. The respiration of roots increases immediately after adding of sodium-humate only in that case, if the wheat plants were before cultivated in destiled water. Similary was, however, increased the intensity of respiration of roots of plants which were transferred from destiled water into the nutritive medium. Therefore in this case it is not possible to speak about activation of respiration as an effect of only sodium-humate.

5. The mechanism of the direct action of sodium-humate on the enzymatic respiration-systems was not solved by the author.

LITERATURA

1. Biber V. A., Magaziner K. M., 1951, O wlijanij guminowych i fulwowych kislót na dychanije izolirowannyh rastitelnyh tkaniej, DAN SSSR 76 (4): 609—616.
2. Christiewa L. A., Manojlowa P. I., 1950. Priroda neposredstwenного wozdejstwija guminowej kisloty na rost i razwitiye rastenij, Dokł. WASCHNİL 11: 10—16.
3. Christiewa L. A., 1951, Rola guminowej kisloty w pitanii rastenij i guminyje udobrenija. Trudy poczw in-ta im. Dokuczajewa 38: 108—184.
4. Christiewa L. A., 1953, Ob uczasti guminowych kislót i drugih organiczeskich wieszczestw w pitanii wyższych rastenij. Poczwowiedienije 10: 46—59.
5. Christiewa L. A., 1955. Uczastije guminowych kislót i drugih organiczeskich wieszczestw w pitanii wyższych rstenij i agronomiczaskoje znaczenije etogo wida pitania. Izw. AN SSSR ser. biol. 4: 58—83.
6. Flaig W., Saalbach E., 1955, Zur Kenntnis der Huminsäuren. X. Mitteilung. Über den Einfluss des Thymohydrochinons als Modellschubstanz von Vortufen bzw. Abbauprodukten von Huminsäuren auf das Wurzelwachstum von Sommerweizen, Ztschr. für Pflanzenernährung, Düngung, Bodenkunde 71 (1163) 3: 200—215.
7. Gumiński S., 1950, Badania nad warunkami i mechanizmem działania związków próchnicznych na organizm roślinny, Acta Soc. Bot. Pol. 20 (2): 589—620.
8. Gumiński S., Gumińska Z., 1953, Dalsze badania nad mechanizmem działania próchnicy na organizm roślinny, Acta Soc. Bot. Pol. 22(1): 45—63.
9. Gumiński S., Gumińska Z., 1953, Chemiczne podstawy podobnego działania fizjologicznego próchnicy oraz wyciągów z liści niektórych gatunków roślin, Acta Soc. Bot. Pol. 22 (4): 771—785.
10. Gumiński S., Czerwiński W., Unger E., Bacowa A., 1955, Badania nad oddychaniem korzeni. Cz. I., Acta Soc. Bot. Pol. 24 (4): 723—731.
11. Hilitzer A., 1932, Über den Einfluss der Humusstoffe auf das Wurzelwachstum, Beihefte zum Botanischen Centralblatt 49 (1): 467—495.
12. Keilin D., 1936, The action of sodium azide on cellular respiration and on some catalytic oxidation reactions, Proc. Roy. Soc. 121 B: 165—173.
13. Lhotský S., 1955, Studie biologicke aktivity zemitého hnědého uhlí, tak zvaného kapucínu, na kulturach ras, Universitas Carolina (Biologica) 1 (2): 155—213.
14. Michlin D. M., Pszenowa K. W., 1955, O wzaimodiejstwiu oksydzalnych sistiem, DAN SSSR 101 (2): 313—316.
15. Niklewski B., Wolnicka J., 1937, On the morphological phenomena of roots chemotropically excited, Bull. de l'Acad. Pol. de Sc. et des Lettres B I 6—7; 147—157.
16. Niklewski B., 1944, Próchnica a roślina, Lublin.
17. Prát S., Catský J., Melichar O., 1957, Vliv humusových latek (oxyhumolitu) na rostliny, Acta Soc. Bot. Pol. 26 (2): 325—347.
18. Tichý V., 1956, Vliv kvalitativního složení humusu na růst a metabolismus mladých rostlin jarní psénice, Kandidátská disertace MU, Brno.