ACTA SOCIETATIS
BOTANICORUM POLONIAE
Vol. XXVIII — Nr 4
1959

Studium porównawcze oddychania korzeni kukurydzy i pomidorów

Eine vergleichende Studie über die Atmung der Mais- und Tomatenwurzeln

S. GUMIŃSKI, L. BADURA, J. BUCZEK

WSTĘP

W trakcie badań nad wpływem stopnia utlenienia związków mineralnych na oddychanie korzeni zauważyliśmy, iż wykluczenie dostępu tlenu powoduje różną reakcję u trzech używanych do doświadczeń gatunków roślin. Podczas gdy korzenie pomidorów reagowały na brak tlenu bardzo silnym spadkiem intensywności oddychania, mierzonej ilością wydzielanego dwutlenku węgla, to kukurydza nie wykazała żadnej reakcji — korzenie jej oddychały w ciągu trzech dni równie intensywnie w wodzie natlenionej, jak też i pozbawionej tlenu. Oddychanie korzeni pszenicy uzależnione było od obecności tlenu podobnie, jak oddychanie korzeni pomidorów, chociaż reakcja była mniej wyraźna. Publikując omawiane badania w r. 1957 (Gumiński S. i współpracownicy) zapowiedzieliśmy przeprowadzenie doświadczeń, mających za zadanie wyjaśnienie różnic w oddychaniu korzeni pomidorów i kukurydzy. Badania takie zostały przeprowadzone i stanowią treść niniejszej pracy.

Przystępując do wyjaśnienia zjawiska intensywnego wydzielania CO_2 przez korzenie kukurydzy w warunkach beztlenowych wzięliśmy pod uwagę następujące możliwości: 1) przenikanie tlenu z nadziemnych części rośliny, 2) fermentację w korzeniach i 3) błąd doświadczalny spowodowany fermentacją mikroorganizmów (kultury nie były aseptyczne).

Możliwość trzecia wydawała się nam mało prawdopodobna z uwagi na to, iż wydzielanie dwutlenku w kulturach beztlenowych było prawie identyczne, jak w kulturach tlenowych. Jedynie dziwny zbieg okoliczności mógłby spowodować taką zgodność, gdyby dwutlenek węgla w jednym wypadku pochodził z oddychania korzeni, w drugim zaś z fermentacji

bakteryjnych. Wyniki badań porównawczych nad wpływem azotanów i soli amonowych, wykonanych przez J. Stabrowską w kulturach wodnych na różnych gatunkach roślin (1959), jeszcze bardziej ograniczyły możliwość trzecią. J. Stabrowska bowiem wykazała w kilkutygodniowych doświadczeniach wegetacyjnych, iż kukurydza istotnie jest znacznie odporniejsza na niedostatek tlenu w pożywce aniżeli pomidor. Pomimo to postanowiliśmy przebadać wszystkie trzy wyżej wymienione możliwości.

OGÓLNA METODYKA DOŚWIADCZEŃ

Rośliny kiełkowano w piasku, następnie przenoszono do 5-litrowych naczyń kamiennych, napełnionych pożywką mineralną, sporządzoną na wodzie wodociągowej. Skład pożywki był następujący: $(NH_4)_2HPO_4$ 0,124 g, $MgSO_4$ 0,284 g, KNO_3 0,568 g, $Ca(NO_3)_2$ 0,71 g, $FeCl_3$ 0,112 g, KJ 0,00284 g, $ZnSO_4$ 0,00056 g, H_3BO_3 0,00056 g, $MnSO_4$ 0,00056 g, Na_2MoO_4 0,00056 g na 1 l wody. W tych kulturach wodnych, ustawionych w szklarni, rośliny rosły przez dwa do trzech tygodni. Z tak uzyskanego materiału roślinnego wybierano do doświadczeń okazy o równej wielkości systemie korzeniowym. W tym celu mierzono objętość korzeni przez zanurzanie ich do wody w menzurkach. Wybrane okazy umieszczano po kilka sztuk razem w poszczególnych aparatach oddechowych Lundegardha. W każdym aparacie, podczas danego doświadczenia, umieszczano oczywiście identyczną ilość roślin; jednakże w różnych doświadczeniach ilość ta była różna — kierowaliśmy się przy tym wielkością systemu korzeniowego.

Korzenie roślin doświadczalnych oddychały w wodzie wodociągowej, bądź to świeżej, bądź wygotowanej, ewentualnie z dodatkiem wody utlenionej oraz penicyliny, co podawane będzie w szczegółowych opisach doświadczeń.

Dwutlenek węgla w wodzie oznaczany był przy pomocy wody barytowej, tlen za pomocą metody Winklera. Dokładniejszy opis zastosowania aparatów Lundegardha w naszych doświadczeniach znajdzie czytelnik w pracy S. Gumińskiego i współpracowników ogłoszonej w Acta Soc. Bot. Pol. w r. 1955. Dla oszczędności miejsca w czasopiśmie opisu tego tutaj powtarzać nie będziemy, zaznaczymy tylko, że wydzielanie dwutlenku węgla, względnie pobieranie tlenu przez korzenie obliczaliśmy z różnicy pomiędzy ilością tego gazu znalezioną w danym aparacie z roślinami a odpowiednią kontrolą, którą stanowił aparat wypełniony identycznym płynem (np. woda wodociągowa wygotowana, z penicyliną) i pozostawiony równocześnie w tych samych warunkach bez roślin.

Rośliny przebywały w aparatach Lundegardha przez okres 1 doby lub dłużej, zależnie od celu zamierzonego doświadczenia (czasokres poszcze-

gólnych doświadczeń podajemy w szczegółowych opisach). Aparaty ustawione były w pracowni, w której temperatura wahała się (zależnie od pory roku) od 16 do 24°C. Rośliny, o ile nie były specjalnie zaciemniane, wystawione były na działanie równomiernego, rozproszonego światła dziennego lub (wieczorem) elektrycznego.

W każdej kombinacji stosowaliśmy 5 powtórzeń.

Wyniki analiz przemiany gazowej korzeni opracowano statystycznie przy pomocy metody podbloków.

OPIS DOŚWIADCZEŃ

Siewki kukurydzy umieszczono w aparatach Lundegardha w wodzie wodociągowej. Nie usuwano przy tym resztek nasion. Warunki tlenowe zostały zróżnicowane w ten sposób, że w jednej serii aparatów użyto wody wodociągowej, świeżo wygotowanej, w drugiej zaś świeżej, wzbogaconej w zapas tlenu przez dodatek 0,8 ml 3% H_2O_2 na 1 l wody.

Celem przekonania się, czy oddychanie korzeni nie jest uzależnione od dyfuzji tlenu poprzez części nadziemne, odkryliśmy je u połowy roślin wąskimi cylindrami o ścianach nie przepuszczających gazu ani światła [1].

W ten sposób otrzymaliśmy 4 kombinacje:

1. Woda bez tlenu, liście szczelnie zakryte.
2. Woda natleniona, liście szczelnie zakryte.
3. Woda bez tlenu, liście odkryte.
4. Woda natleniona, liście odkryte.

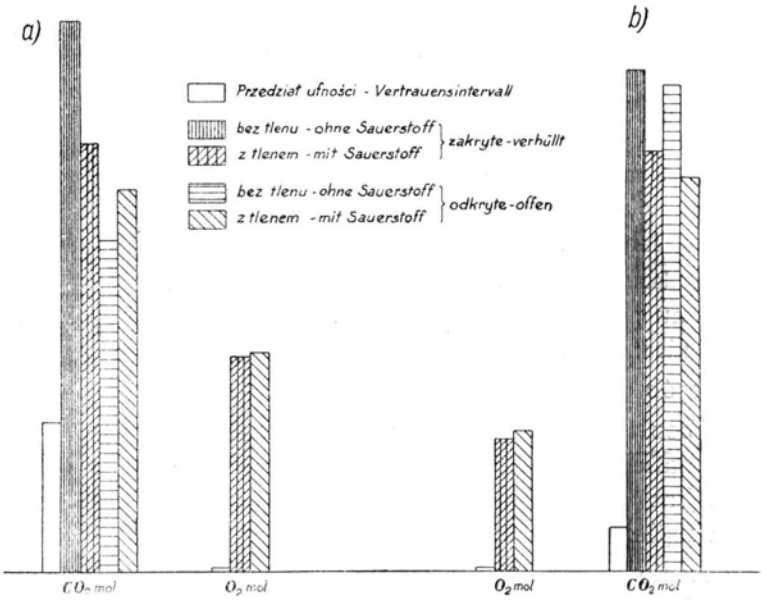
Doświadczenie trwało 48 godzin, po czym oznaczono ilość wydzielonego dwutlenku węgla i pochłoniętego tlenu. Wyniki ilustruje wykres. Są one obarczone dużym błędem doświadczalnym, wskazują jednak zgodnie z poprzednimi obserwacjami (1957), iż korzenie kukurydzy wydzielają dwutlenek węgla nie mniej intensywnie w warunkach beztlenowych niż w tlenowych. Uniemożliwienie, względnie bardzo silne ograniczenie dyfuzji tlenu poprzez liście nie wpłynęło zupełnie na przebieg zjawiska.

Aby przekonać się, czy wydzielanie dwutlenku węgla w warunkach beztlenowych tłumaczyć można oddychaniem (fermentacją mikroorganizmów), zmodyfikowano doświadczenie w ten sposób, że przed włożeniem siewek do aparatów (przed doświadczeniem) usuwano resztki nasion, które ewentualnie mogłyby gnić, a do aparatów dodawano wszędzie penicyliny w ilości 1,5 j.m. na 1 ml wody.

---

[1] Z początku używaliśmy cylindrów tekturowych o ścianach nasyconych kollodium. W dalszych doświadczeniach zastosowaliśmy cylindry szklane okrywane ciemnym papierem.

Jak widać z załączonego wykresu, dodanie penicyliny do wody, w której oddychały korzenie, nie zmieniło wyniku doświadczenia — stwierdzić można było jedynie zmniejszenie odchyleń w poszczególnych doświadczeniach, co znalazło swój wyraz na wykresie w zmniejszeniu błędu doświadczalnego. Ponadto zauważono, że o ile w doświadczeniu poprzednim woda w naczyniach mętniała i przy likwidacji ujawniała wyraźny zapach gnilny, o tyle przy zastosowaniu penicyliny pozostawała zupełnie czysta i nie ujawniała zapachu. Prób bakteriologicznych nie przeprowa-



Wykres 1a — Oddychanie korzeni kukurydzy w wodzie bez penicyliny (nasion nie amputowano); 1b — to samo, przy użyciu penicyliny i po amputacji resztek nasion. Objaśnienia w tekście

1a — Die Atmung der Maiswurzeln im Wasser ohne Penicillin (die Reste d. Samen wurden nicht amputiert); 1b — Das Selbe mit Anwendung von Penicillin und nach der Amputation der Samenreste. Erläuterungen im Text

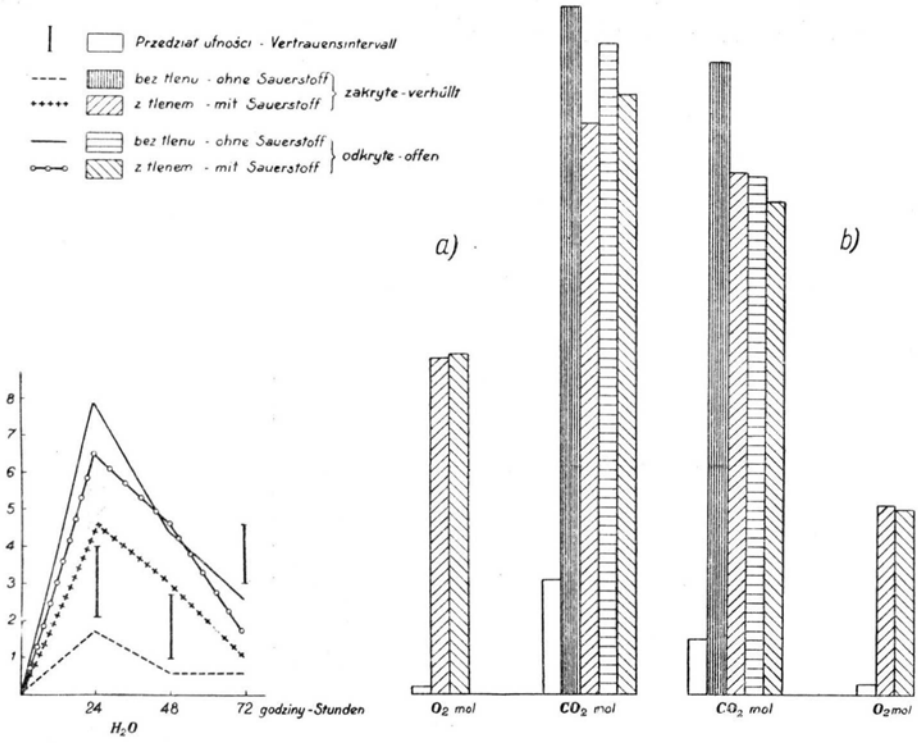
dzaliśmy i dlatego nie możemy stwierdzić w sposób ścisły jak penicylina wpłynęła na rozwój mikroorganizmów.

W dalszych doświadczeniach stale używaliśmy penicyliny — ponadto zaś przeprowadzaliśmy korzenie kukurydzy przed włożeniem ich do aparatów Lundegardha przez zanurzenie w 3% wodzie utlenionej celem przytłumienia rozwoju mikroorganizmów.

Korzystając z tego, że w aparatach Lundegardha można równocześnie z badaniem intensywności oddychania korzeni przeprowadzić pomiary

pobierania przez nie wody, nastawiliśmy odpowiednie doświadczenia z kukurydzą i pomidorami. Wyniki uwidocznione są na wykresach: 2 i 3. Odczytać z nich można co następuje:

1. Korzenie kukurydzy wydzielają dwutlenek węgla w warunkach beztlenowych nie mniej, a raczej bardziej intensywnie niż w tlenowych, natomiast korzenie pomidorów reagują na brak tlenu w wodzie bardzo wyraźnym obniżeniem procesu wydzielania dwutlenku węgla.



Wykres 2a — Oddychanie korzeni kukurydzy i pobieranie przez nie wody w doświadczeniu 72-godzinnym; 2b — Oddychanie korzeni kukurydzy w doświadczeniu 120-godzinnym

2a — Die Atmung der Maiswurzeln und die Wasseraufnahme im 72-stündigem Versuch; 2b — Die Atmung der Maiswurzeln im 120-stündigem Versuch

2. Ewentualną dyfuzją tlenu z liści do korzeni nie można tłumaczyć tych różnic, gdyż zjawisko przebiega identycznie u roślin zakrytych, jak i odkrytych.

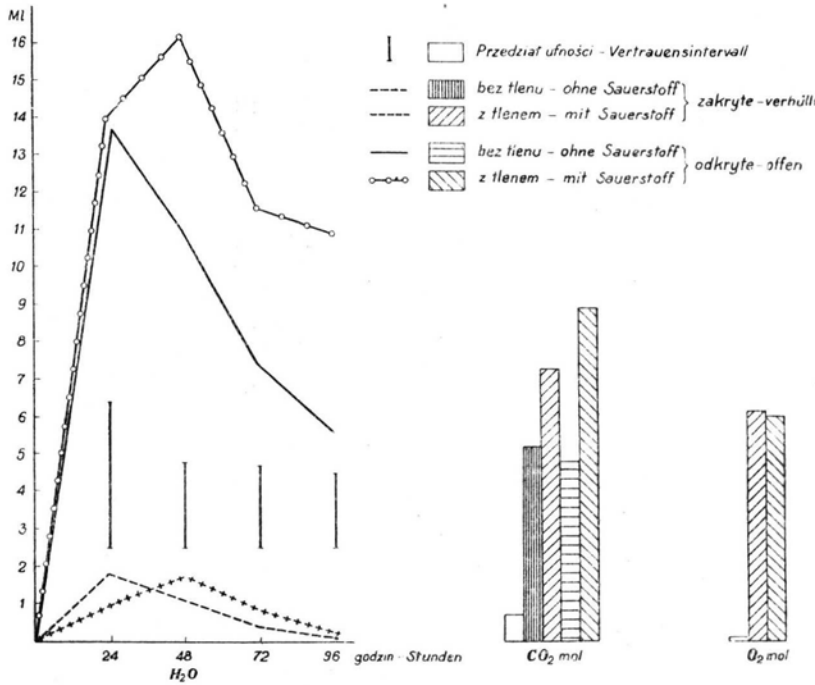
3. Pobieranie wody przez korzenie badanych roślin jest zależne od transpiracji oraz od tlenowego oddychania korzeni, przy czym czynnik transpiracji znacznie jaskrawiej wystąpił u pomidorów. Szczególniej inte-

resujące jest spostrzeżenie, że oddychanie betlenowe, tak silnie występujące u kukurydzy, zdaje się nie mieć znaczenia dla pobierania wody.

4. Współczynniki oddechowe obliczone dla warunków aerobowych wykazują wyraźny niedostatek tlenu, występujący zapewne przy końcu doświadczenia.

5. W miarę upływu czasu u obu gatunków roślin obniża się intensywność pobierania wody.

Celem przeprowadzenia ściślejszego porównania pomiędzy przebiegiem oddychania korzeni i pobierania przez nie wody przeprowadzono z kolei



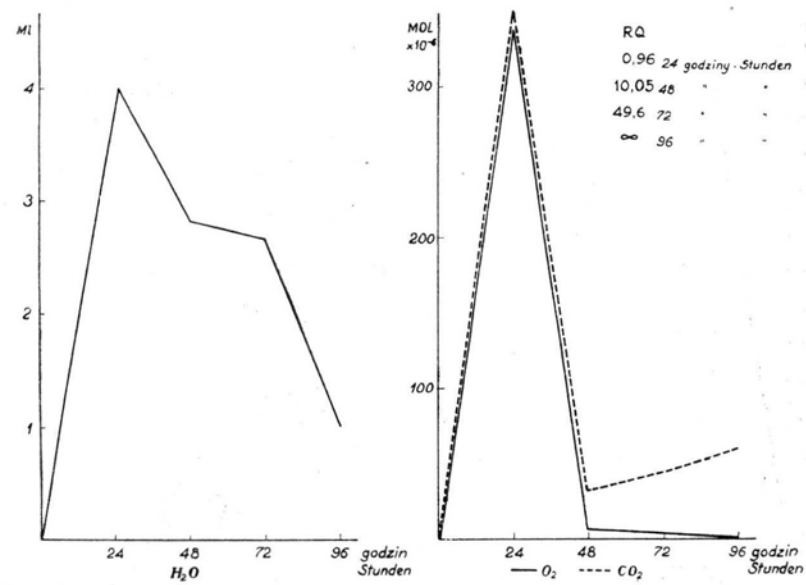
Wykres 3. Oddychanie korzeni pomidorów i pobieranie wody w doświadczeniu 96-godzinnym

Die Atmung der Tomatenwurzeln und die Wasseraufnahme im 96 Stunden dauerndem Versuch

doświadczenia w ten sposób, że nastawiono większą serię bez różnicowania warunków: w jednym doświadczeniu mieliśmy tylko bądź to pomidory, bądź kukurydzę w warunkach aerobowych, przy czym rośliny były odkryte. Co 24 godziny dokonywano odczytu poziomu wody (w bocznych ramionach aparatów) oraz przeprowadzano analizę gazów w pięciu aparatach. W pozostałych aparatach uzupełniano zapas wody w bocznych ramionach aparatów i pozostawiano je na dalsze 24 godziny; w ten sposób

badano rośliny kilkakrotnie. Wyniki dla obu gatunków roślin przedstawiają wykresy 4 i 5.

Wskazują one wyraźnie (pomimo pewnych zakłóceń spowodowanych przez transpirację), że pobieranie wody u obu gatunków uzależnione jest od stężenia tlenu. W miarę wyczerpywania się zapasu tlenu intensywność pobierania wody maleje. Równocześnie stwierdzić można różnice w przebiegu krzywej wydzielania dwutlenku węgla u pomidorów i kukurydzy. O ile u pomidorów wydzielanie CO_2 kończy się równocześnie z wyczerpaniem tlenu, to u kukurydzy jest inaczej: krzywa wydzielania dwutlenku węgla spada równolegle z krzywą pobierania tlenu jedynie w ciągu drugiej doby — następnie zaś zamiast spadać, lekko się podnosi. Ubocz-



Wykres 4. Porównanie oddychania korzeni kukurydzy z równoczesnym pobieraniem przez nie wody

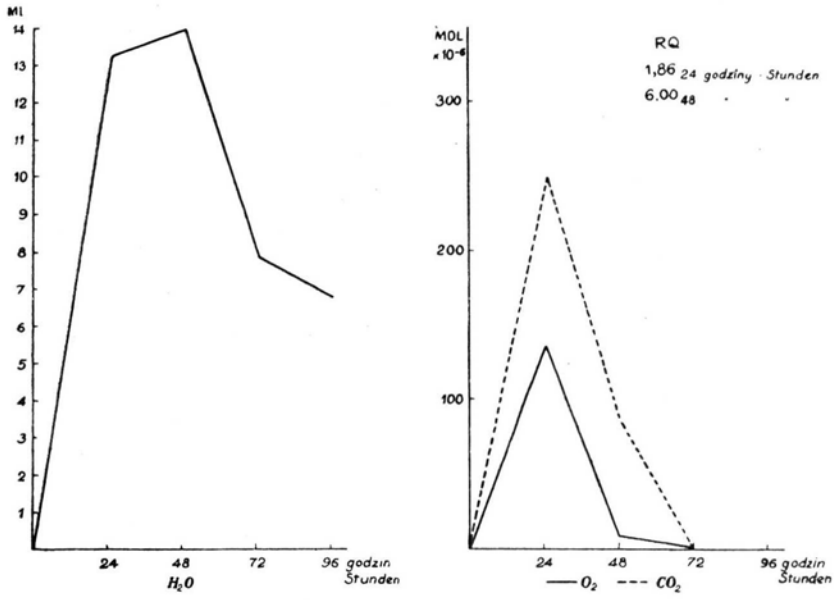
Der Vergleich der Maiswurzelnatmung mit der gleichzeitigen Wasseraufnahme

nie można stwierdzić, że niedostatek tlenu wystąpił w doświadczeniu z pomidorami wcześniej niż w doświadczeniu z kukurydzą: świadczy o tym porównanie współczynników oddechowych.

Chcąc bliżej poznać różnice w oddychaniu korzeni pomidorów i kukurydzy oraz zrozumieć powiązania pomiędzy oddychaniem i pobieraniem wody, postanowiliśmy przebadać te zjawiska przy pomocy inhibitorów oddechowych. Doświadczenia przeprowadziliśmy w ten sposób, iż

dodawaliśmy poszczególnych inhibitorów albo: 1) do pożywek, w których rośliny rosły przed włożeniem ich do aparatów oddechowych, albo 2) do pożywek, a następnie i do wody w aparatach oddechowych, lub wreszcie 3) jedynie do wody w aparatach oddechowych. Użyliśmy następujących inhibitorów: KCN, dwu-etylo-dwu-tio-karbaminianu sodowego („Dieca"), malonianu sodowego, zieleni malachitowej oraz 2-4-dwu-nitro-fenolu (DNP). Stężenia inhibitorów ustalono na podstawie danych W. O. Jamesa, zawartych w jego monografii poświęconej oddychaniu roślin oraz na podstawie własnych doświadczeń wstępnych.

Obliczeń przemiany gazowej dokonywano w ten sposób, iż od znalezionej wartości liczbowej, uzyskanej przez analizę wody w aparacie odde-

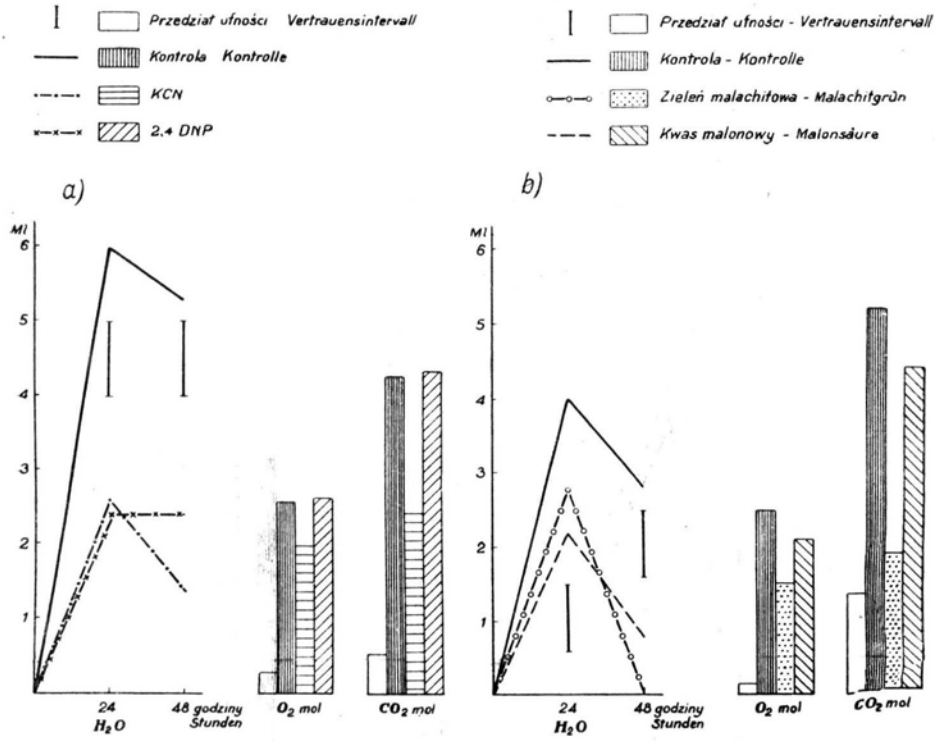


Wykres 5. Porównanie oddychania korzeni pomidorów z równoczesnym pobieraniem przez nie wody

Der Vergleich der Tomatenwurzelnatmung mit ihrer gleichzeitigen Wasseraufnahme

chowym na końcu doświadczenia, odejmowano odpowiednią wartość liczbową, uzyskaną przez analizę wody w naczyniu kontrolnym (bez roślin), zawierającym identyczny inhibitor. W ten sposób podobnie jak w doświadczeniach z próchnicą (1955) uwolniliśmy się od błędów analitycznych, polegających na reagowaniu inhibitorów bądź z tlenem czy dwutlenkiem węgla, bądź też z odczynnikami stosowanymi przy analizie. W niektórych wypadkach jednak reakcje te szły tak daleko, że nie można

było uchwycić różnic w stężeniu tlenu (np. reakcja „Dieca" z tlenem) — wówczas miarodajne pozostawały jedynie wyniki tych doświadczeń, w których używano inhibitorów tylko przed włożeniem roślin do aparatów oddechowych (korzenie roślin były przed tym opłukiwane).



Wykres 6. Działanie inhibitorów na oddychanie korzeni kukurydzy oraz na pobieranie przez nie wody. Przed doświadczeniem zatruwano rośliny w pożywce w przeciągu 48 godzin. Do wody w aparatach oddechowych dodawano również trucizn. W aparatach pozostawały rośliny przez 48 godzin: a — KCN w pożywce M/100, w wodzie M/1000, „Dieca" w pożywce M/2500, w wodzie M/5000, 2,4-DNP w pożywce i w wodzie 8×10^{-5} M; b — Zieleń malachitowa w pożywce 2×10^{-5} M, w wodzie 10^{-5} M, kwas malonowy w pożywce i w wodzie 0,5 g/l

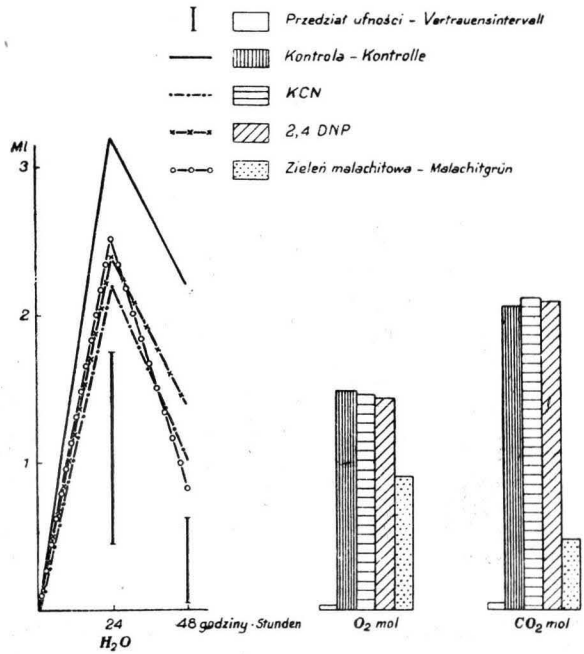
Die Wirkung der Inhibitoren auf die Atmung und die Wasseraufnahme der Maiswurzeln. Vor dem Versuche wurden die Wurzeln in der Nährlösung während 48 Studen vergiftet. Dem Wasser in den Atmungsapparaten wurden die Inhibitoren auch beigefügt. In den Atmungsapparaten verweilten die Pflanzen während 48 Stunden: a — KCN in der Nährlösung M/100, im Wasser M/1000, „Dieca" in der Nährlösung M/2500, im Wasser M/5000, 2,4-DNP in d. Nährlösung u. im Wasser 8×10^{-5} M; b — Malachitgrün in d. Nährlösung 2×10^{-5} M, im Wasser 10^{-5} M. Malonsäure in d. Nährlösung u. im Wasser 0,5 g/l

Poniżej podajemy wykresy przedstawiające wyniki poszczególnych doświadczeń. Przy każdym wykresie umieszczone są dane co do sposobu użycia inhibitorów, ich stężenia oraz długości trwania doświadczenia.

Oto krótka analiza uzyskanych wyników:

Zieleń malachitowa jako inhibitor dehydrogenaz, zawierających DPN lub TPN, hamowała zarówno wydzielanie CO_2, jak i pobieranie O_2 tak u pomidorów, jak i też i u kukurydzy. Zjawisko to występuje silniej lub słabiej, ale zgodnie zawsze we wszystkich doświadczeniach.

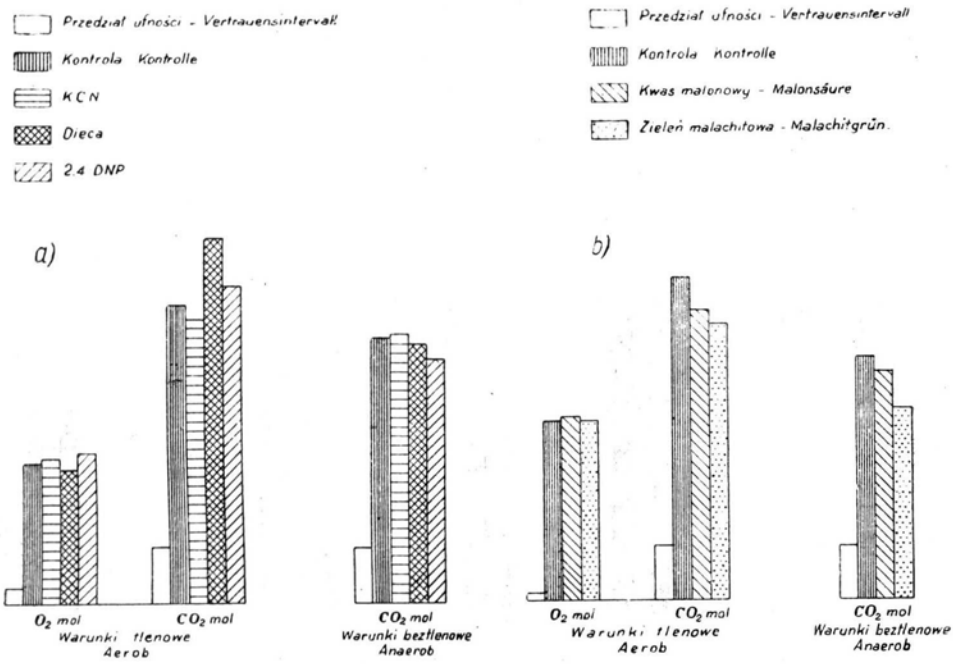
KCN inhibował pobieranie tlenu u pomidorów bardzo wyraźnie; u kukurydzy inhibicja występowała istotnie (przedział ufności) jedynie przy



Wykres 7. Powtórzenie poprzedniego doświadczenia
Wiederhohlung des vorigen Versuchs

dużym stężeniu oraz w doświadczeniu długotrwałym, w innych warunkach hamowania nie było. Interesującą różnicę można zauważyć w reakcji kukurydzy i pomidorów na działanie KCN w procesie wydzielania dwutlenku węgla. W doświadczeniu z pomidorami, przy którym ostrożnie stosowano KCN, tylko przed włożeniem roślin do aparatów oddechowych, można zauważyć, że hamowanie wydzielania CO_2 występuje jedynie w warunkach tlenowych, w beztlenowych zaś zanika. U kukurydzy KCN hamuje wydzielanie dwutlenku węgla tylko przy dużych stężeniach i to

zarówno w warunkach tlenowych, jak beztlenowych. Można zatem powiedzieć, że u pomidorów występuje swoiste hamowanie enzymów oddechowych, zawierających żelazo, względnie miedź, natomiast u kukurydzy tego swoistego działania nie znajdujemy, występuje jedynie ogólne za-



Wykres 8a, b — Kukurydza. Inhibitory dodawano tylko do pożywki — do wody w aparatach nie dodawano. W aparatach pozostawały rośliny przez 24 godziny. Poza tym, jak poprzednio

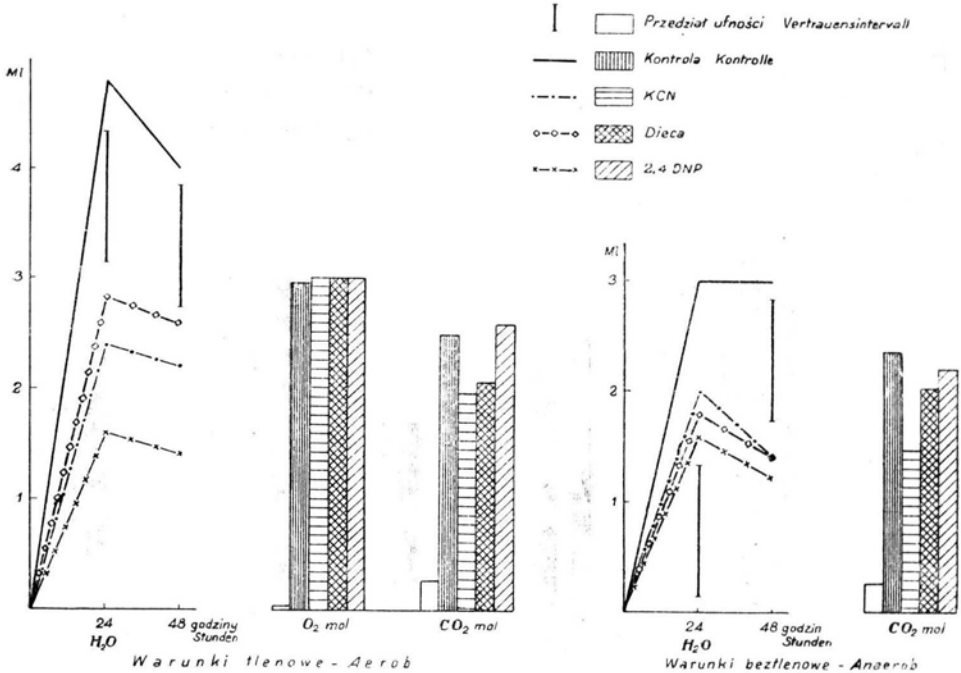
Mais. Die Inhibitoren wurden nur der Nährlösung zugefügt — nicht aber dem Wasser in den Atmungsapparaten. Die Pflanzen verweilten in den Apparaten während 24 Stunden. Sonst wie vorher

trucie przy wysokich stężeniach. Zatrucia tego nie możemy odnosić swoiście do hamowania enzymów oddechowych, gdyż enzymy te nie mogą być czynne w nieobecności tlenu.

„Dieca" wywoływał u pomidorów słabą, ale statystycznie udowodnioną inhibicję pobierania tlenu (wykres 12a), natomiast nie stwierdzono swoistego zahamowania wydzielania dwutlenku węgla; zmniejszenie wydzielania CO_2 występowało tylko po długotrwałym truciu, wówczas efekt ten występuje zarówno w warunkach tlenowych, jak i beztlenowych,

a więc jest dla „Dieca" nieswoisty (wykres 11). U kukurydzy nie stwierdzono zahamowania tlenu pod wpływem „Dieca", a wydzielanie CO_2 hamowane było nieswoiście w warunkach beztlenowych (wykres 9).

Kwas malonowy powodował zahamowanie pobierania tlenu silniej u pomidorów (wykres 12), słabiej u kukurydzy (wykresy 6 i 8). Natomiast zahamowanie wydzielania CO_2 stwierdzono jedynie u pomidorów.



Wykres 9. Kukurydza. Tak jak poprzednio z tym, że rośliny pozostawały w aparatach oddechowych przez 48 godzin

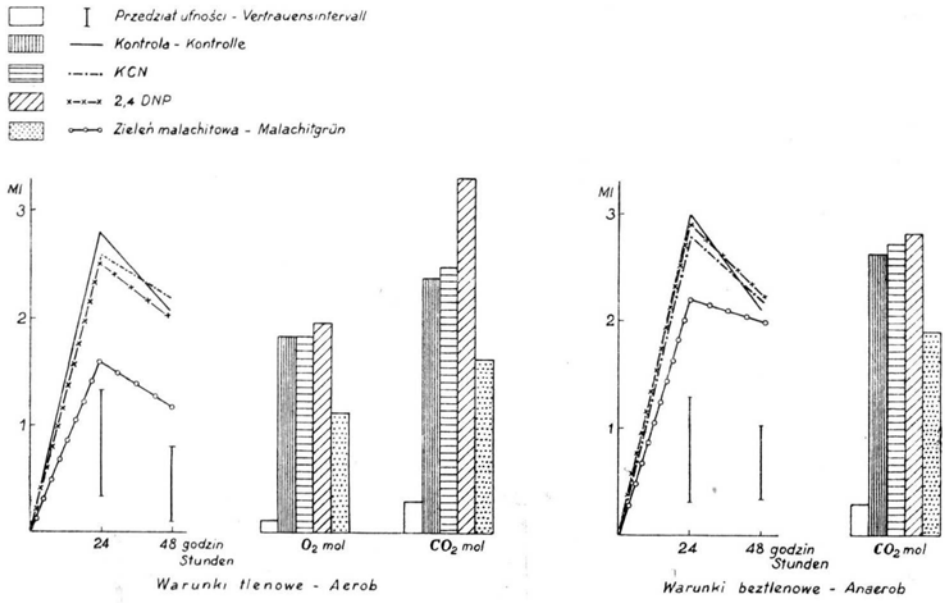
Mais. Wie vorher, nur die Pflanzen verweilten in den Atmungsapparaten während 48 Stunden

DNP nie powodował zahamowania pobierania tlenu i lekko stymulował wydzielanie CO_2 u obu gatunków roślin, natomiast hamował pobieranie wody.

DYSKUSJA WYNIKÓW

Na pytanie zasadnicze, które postawiliśmy sobie na początku pracy, mianowicie na czym polega zjawisko niezmniejszonej intensywności wydzielania dwutlenku węgla przez korzenie kukurydzy po odcięciu dostępu tlenu, można, po przeprowadzeniu opisanych doświadczeń, dać odpo-

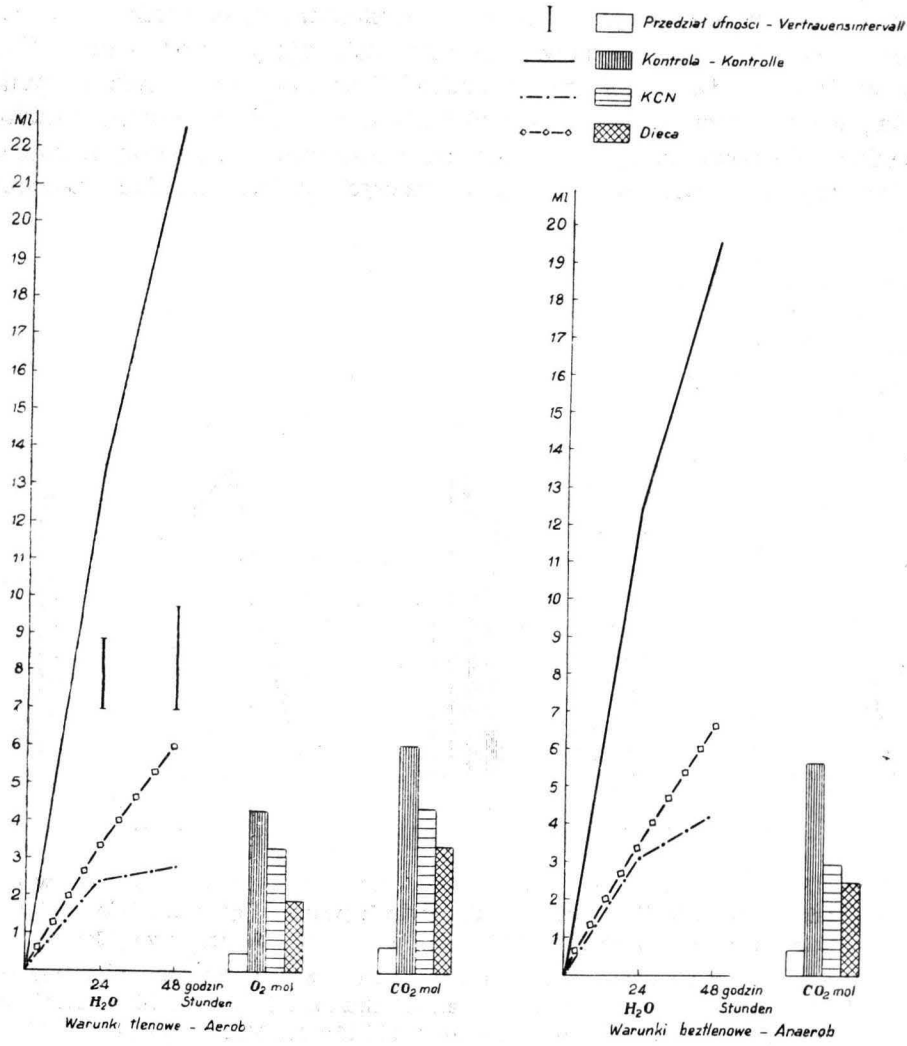
wiedź, iż powodowane jest ono przez beztlenowe oddychanie (fermentację) korzeni. Zdanie to wypowiadamy na następujących podstawach: Gdyby wydzielany dwutlenek węgla pochodził w zasadzie od mikroorganizmów, wówczas intensywność wydzielania tego gazu w różnych doświadczeniach nie powinna być współmierna z oddychaniem tlenowym korzeni kukurydzy, a przynajmniej w powtarzanych doświadczeniach powinny



Wykres 10. Kukurydza. Inhibitory dodawano jedynie bezpośrednio do wody w aparatach oddechowych. Rośliny pozostawały w nich przez 48 godzin. Stężenia inhibitorów: KCN—M/5000, 2,4-DNP 5×10^{-5}, zieleń malachitowa 10^{-5}

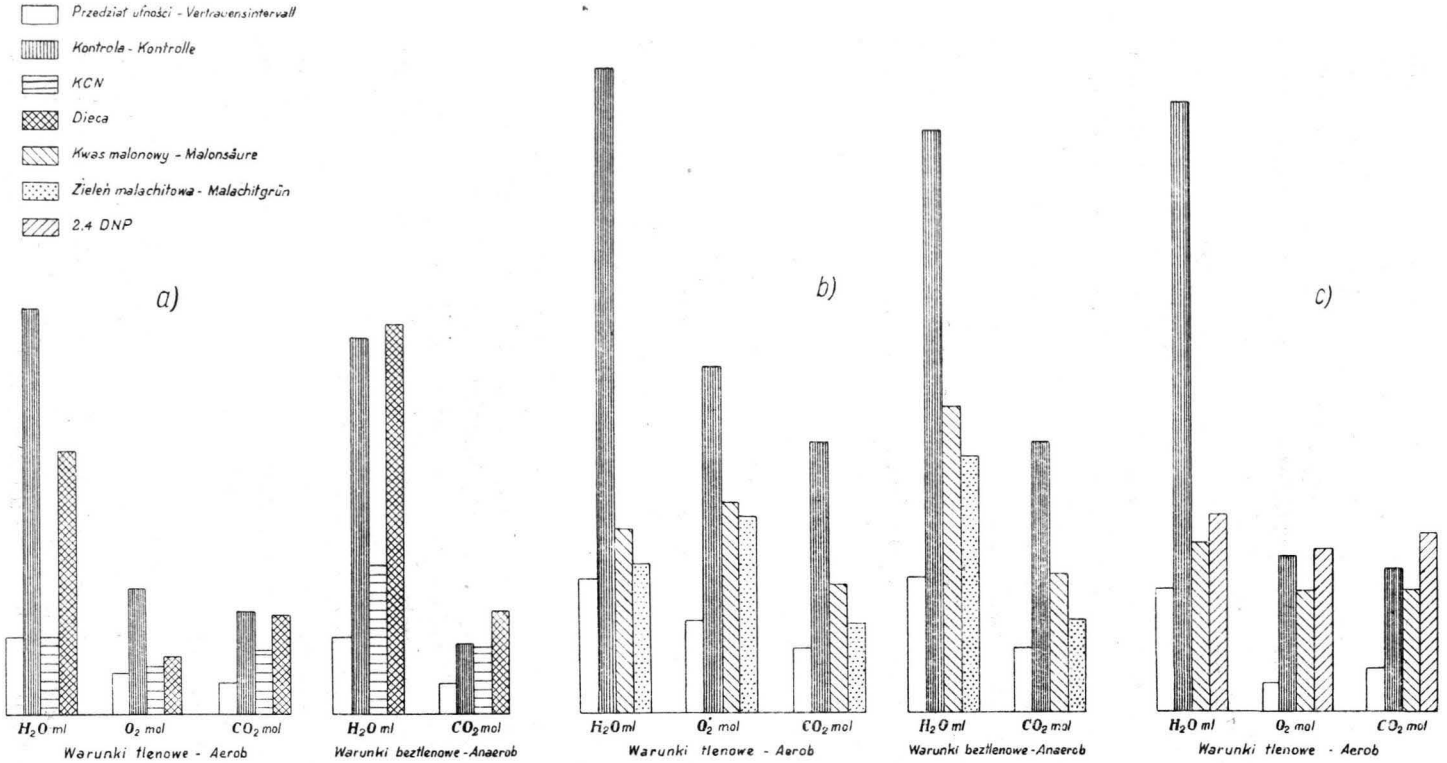
Mais. Die Inhibitoren wurden nur dem Wasser in den Atmungsapparaten zugefügt. Die Pflanzen verblieben in den Apparaten 48 Stunden lang. Die Konzentrationen der Inhibitoren: KCN—M/5000, 2,4-DNP 5×10^{-5} M, Malachitgrün 10^{-5} M

wystąpić wielkie różnice przy porównywaniu oddychania tlenowego i beztlenowego. Różnice te nie wystąpiły — przeciwnie, oddychanie beztlenowe było stale współmierne z tlenowym: intensywność wydzielania dwutlenku węgla była podobna. Zastosowanie penicyliny nie przyniosło tu żadnych zmian, poza zmniejszeniem błędu średniego. Można wprawdzie powiedzieć, że penicylina nie przytłumia wszystkich mikroorganizmów, ale nie można twierdzić, że nie powoduje istotnych zmian w rozwoju całości świata mikroorganizmów. Zastosowanie jej nie spowodowało, jak widać z opisanych doświadczeń, żadnych zmian w stosunku intensywności wydzielania dwutlenku węgla w warunkach tlenowych i beztlenowych.



Wykres 11. Pomidory. Inhibitory dodawano do pożywki przed doświadczeniem na 48 godzin. Do wody w aparatach oddechowych dodawano je również. Rośliny pozostawały w aparatach przez 48 godzin. KCN zarówno w pożywce, jak i w wodzie M/1000, „Dieca" w pożywce M/2500, w wodzie M/5000

Tomaten. Die Inhibitoren wurden der Nährlösung sowie dem Wasser in den Atmungsapparaten zugefügt. Die Pflanzem verweilten in der Nährlösung sowie in den Atmungsapparaten während 48 Studen. KCN gleichgültig in der Nährlösung und im Wasser M/1000, „Dieca" in der Nährlösung M/2500, im Wasser M/5000



Wykres 12a, b, c. Pomidory. Przed doświadczeniem zatruwano rośliny w pożywce w ciągu 48 godzin. Do aparatów nie dodawano trucizn. Rośliny przebywały w aparatach przez 24 godziny. Stężenia KCN, „Dieca" jak poprzednio, kwasu malonowego (malonianu sodowego) i zieleni malachitowej jak w doświadczeniach z kukurydzą, DNP 8×10^{-5} M w pożywce (6 godzin)

Tomaten. Vor dem Versuche wurden die Pflanzen in der Nährlösung während 48 Stunden vergiftet. Dem Wasser in den Atmungsapparaten wurden die Inhibitoren nicht zugefügt. Die Pflanzen verweilten in den Atmungsapparaten 24 Stunden lang Die Konzentrationen von KCN, „Dieca" wie vorher, des Natriummalonats und des Malachitgrün wie in den Versuchen mit Mais, DNP 8×10^{-5} M in. d. Nährlösung (6 Stunden)

Zmniejszenie błędu średniego, po zastosowaniu penicyliny, tłumaczymy sobie zlikwidowaniem indywidualnych wyskoków w poszczególnych doświadczeniach, występujących przez działanie bakterii gnilnych. Sądzimy też, że przeprowadzanie korzeni kukurydzy przez kąpiel w wodzie utlenionej przed włożeniem ich do aparatów oddechowych poważnie ograniczyło możliwość rozwoju mikroorganizmów na tych korzeniach.

Również fakt stałego obniżania się intensywności wydzielania dwutlenku węgla przez korzenie pomidorów, po odcięciu dopływu tlenu, przemawia przeciw tłumaczeniu wydzielania CO_2 w doświadczeniach z kukurydzą w ten sposób, że gaz ten byłby produkowany przez bakterie. Dlaczego bowiem zjawisko to nie miałoby występować nigdy u pomidorów? Trzeba by chyba przyjąć istnienie specjalnych substancji hamujących w korzeniach pomidorów. Ale nawet gdyby przyjąć takie hipoteczne założenie, wówczas niezrozumiały pozostałby fakt, stwierdzony przez Stabrowską (1959), wyraźnie większej odporności siewek kukurydzy na niewietrzenie pożywki aniżeli siewek pomidorów. Fakt ten natomiast staje się zrozumiały, jeżeli przyjmiemy, iż korzenie kukurydzy mają dużą zdolność do oddychania beztlenowego.

Możliwość zasilania korzeni tlenem, dyfundującym z nadziemnych części rośliny, mająca pewne teoretyczne uzasadnienie w anatomii, odpada w wyniku zastosowania gazoszczelnych i nie przepuszczających światła osłon dla liści kukurydzy. Intensywność wydzielania dwutlenku węgla przez korzenie kukurydzy w warunkach beztlenowych utrzymywała się nadal, pomimo wykluczenia dyfuzji gazów przez górne części roślin. Występowało wtedy bardzo silnie zjawisko gutacji.

Badanie równoległe wydzielania dwutlenku węgla i pochłaniania tlenu przez korzenie wykazało, iż u kukurydzy, podobnie jak u pomidorów, wydzielanie to spada wraz ze spadkiem pochłaniania tlenu. Po wyczerpaniu zapasu tlenu wydzielanie CO_2 u pomidorów całkowicie ustaje, u kukurydzy przeciwnie — z powrotem narasta (wykres 4). Z punktu widzenia biochemicznego zjawisko obserwowane w kukurydzy tłumaczymy w sposób stereotypowy: w obecności tlenu przebiega tylko utlenienie tlenowe i jego intensywność zależy od stężenia tlenu, po wyczerpaniu zapasu tlenu dochodzą do głosu akceptory wodoru właściwe dla procesów fermentacyjnych. U kukurydzy ta droga jest otwarta, u pomidorów nie istnieje, względnie możliwości są bardzo małe.

Zjawisko zależności pobierania wody przez korzenie od ich oddychania występuje w naszych doświadczeniach zupełnie wyraźnie. Odnośne wykresy (2—5) wskazują, że pobieranie wody przez badane rośliny zależne jest od transpiracji oraz od oddychania korzeni, przy czym komponenta transpiracyjna wystąpiła silniej u pomidorów aniżeli u kukurydzy. Cha-

rakterystyczne jest, że na pobieranie wody zdaje się mieć wpływ jedynie oddychanie tlenowe i to tak u pomidorów, jak też i u kukurydzy (wykresy 2—5). Zjawisko to można tłumaczyć tym, iż jedynie tlenowe oddychanie jest w stanie wyzwolić odpowiednią dla parcia korzeniowego energię, beztlenowe jest zbyt mało ekonomiczne. Efekt Pasteura jakkolwiek zaznaczony w niektórych doświadczeniach z kukurydzą (wykresy 2 i 3), jest tu niewątpliwie za słaby. Z doświadczeń, w których zastosowano DNP, wynika, iż uwolniona przy oddychaniu energia nie może być bezpośrednio zużywana do pompowania wody przez korzenie: musi ona być uprzednio zmagazynowana w wysokoenergetycznych wiązaniach kwasu fosforowego. Jeżeli przez działanie DNP wyłącza się fosforylację, wówczas, pomimo intensywnego oddychania, pobieranie wody zostaje zahamowane (wykresy 6, 9, 10, 11).

Wyniki doświadczeń z inhibitorami interpretujemy w następujący sposób:

Swoista inhibicja oddychania wywoływana przez cyjanek u pomidorów i brak tej inhibicji u kukurydzy świadczy o tym, że u pomidorów oddychanie tlenowe odbywa się za pomocą enzymów zawierających w grupie czynnej metale, natomiast u kukurydzy może ono przebiegać przy pomocy oksydaz niemetalicznych.

Bardzo słabe hamowanie pobierania tlenu, wywołane działaniem „Dieca", u pomidorów, przy równoczesnym braku hamowania wydzielania dwutlenku węgla wskazuje, że oksydazy miedziowe wprawdzie istnieją w korzeniach tego gatunku, ale nie odgrywają w oddychaniu — w naszych warunkach doświadczalnych — żadnej ważniejszej roli. U kukurydzy albo ich nie ma w ogóle, albo w naszych warunkach były bez znaczenia.

Wyniki z kwasem malonowym świadczą o tym, że u pomidorów oddychanie przebiega w ten sposób, iż jednym z etapów tego procesu jest utlenienie kwasu bursztynowego (prawdopodobnie w toku cyklu Krebsa). U kukurydzy silnie zaznaczone jest oddychanie beztlenowe i na skutek tego zahamowania wydzielania CO_2 przez malonian nie udało się nam zauważyć. Jednakże przy oddychaniu tlenowym korzeni tego gatunku kwas bursztynowy prawdopodobnie odgrywa również rolę (wykres 6).

Zieleń malachitowa okazała się najsilniejszym inhibitorem oddechowym w naszych doświadczeniach i to zarówno w stosunku do pomidorów, jak też i do kukurydzy. Jest to zupełnie zrozumiałe, jeśli się zważy, że związek ten inhibuje dehydrogenazy, zawierające DPN względnie TPN, a więc uniemożliwia tak oddychanie tlenowe jak i beztlenowe.

Inhibitor fosforylacji DNP oczywiście nie hamował, lecz przeciwnie, lekko stymulował oddychanie, co jest rzeczą powszechnie znaną; związek

ten używany był przez nas celem wniknięcia w problem powiązania pomiędzy oddychaniem i pobieraniem wody. Okazało się, iż DNP nie hamując oddychania wyraźnie osłabia pobieranie wody przez korzenie. Świadczy to o tym, że uwalniana przy oddychaniu energia przekazywana jest dla procesu pobierania wody poprzez pośrednie ogniwo reakcji fosforylacyjnych. Doświadczenia nasze z inhibitorami były niestety zbyt krótkotrwałe, aby na ich podstawie można było dobrze prześledzić pobieranie wody, jednakże wpływ zahamowania intensywności oddychania na pobieranie wody przez korzenie wystąpił dosyć wyraźnie. Na ogół można powiedzieć, że u pomidorów wszystkie inhibitory hamowały pobieranie wody — u kukurydzy zjawisko to wystąpiło słabiej, przy czym najsilniej działała zieleń malachitowa, następnie KCN (w warunkach tlenowych) oraz DNP.

WNIOSKI

1. Korzenie kukurydzy odznaczają się o wiele silniej wyrażoną zdolnością do oddychania beztlenowego (fermentacji), aniżeli korzenie pomidorów.

2. Przy oddychaniu tlenowym korzeni pomidorów utlenienie wodoru odbywa się za pomocą oksydaz metalicznych, przede wszystkim zawierających żelazo (zapewne układ cytochromowy); natomiast u kukurydzy prawdopodobnie biorą w tym udział oksydazy nie metaliczne.

3. Pobieranie wody przez korzenie (parcie korzeniowe) czerpie energię z procesu oddychania tlenowego u obu gatunków roślin; oddychanie beztlenowe zdaje się nie odgrywać w tym żadnej roli.

4. Przekazywanie energii uwalnianej przy oddychaniu dla procesu pobierania wody odbywa się poprzez procesy fosforylacji.

Uniwersytet Wrocławski
Zakład Fizjologii Roślin

(Wpłynęło dn. 15.9.1959 r.)

ZUSAMMENFASSUNG

Während unserer früheren Versuche (1957) über die Wirkung mancher Nährsalze auf die Atmung der Wurzeln haben wir bemerkt, dass die Maiswurzeln ganz anders auf den Sauerstoffmangel reagieren als die Tomatenwurzeln. Die Tomatenwurzeln verringerten nämlich bei Sauerstoffmangel die Kohlensäureausscheidung sehr stark — die Maiswurzeln verhielten sich dagegen so, als ob für sie der Sauerstoff überhaupt belanglos wäre.

Es waren drei Möglichkeiten dieses verschiedenen Verhaltens von Mais und Tomaten zu erwägen:

1. Bessere Diffusion des Sauerstoffs durch die oberen Pflanzenteilen bei Mais als bei den Tomaten.

2. Die von den Mikroorganismen durchgeführte Gärung, die eine falsche Betimmung des Wurzelgaswechsels verursachte.

3. Anaerobe Atmung der Maiswurzeln.

Die Versuche haben wir folgendermassen durchgeführt: Keimlinge von Mais-, bzw. von Tomatenpflanzen wurden zwei bis drei Wochen in Wasserkulturen auf Minerallösungen gezogen und danach in die, von Lundegardh im Jahre 1935 beschriebenen, Atmungsapparate gebracht. In diesen Apparaten erfolgte die Untersuchung des Gaswechsels in der Weise, dass man den Sauerstoffverbrauch mit der Winklerschen Methode und die Kohlensäureausscheidung mittels Barytwasser bestimmte. Der gewählten Apparatur und Methode wegen, musste auf jede Sauerstoffzufuhr verzichtet werden. Die Apparate blieben gasdicht mit Kakaobutter verstopft. Um den Transpirationsverlust zu decken konnte das Wasser durch eine Kapillarröhre zufliessen. Der Durchmesser der Kapillarröhre war so klein, dass man in der Praxis den Gaswechsel nach aussen ausschliessen konnte.

Die Wasseraufnahme wurde direkt von einer kalibrierten Röhre abgelesen.

Die Differenzierung in der Sauerstoffversorgung der Versuchspflanzen erzielte man dadurch, das die entsprechenden Apparate entweder mit frischem Leitungswasser mit Zugabe von 0,8 ml 3% Wasserstoffsuperoxyd pro 1 l Wasser, oder mit gekochtem Wasser gefüllt wurden.

Um sich zu überzeugen, ob die Diffusion des Sauerstoffs durch die oberen Pflanzenteile einen Einfluss auf die Atmung der Wurzeln ausübe, legte man die Hälfte der Pflanzen in ein gasdichtes, dunkles Rohr und verglich den Gaswechsel der Wurzeln der verhüllten mit dem freien Pflanzen.

Der erste, 48 Stunden dauernde Versuch mit Mais zeigte keine wesentlichen Unterschiede in der Ausscheidung der Kohlensäure. Die Menge der augsgeschiedenen Kohlensäure wurde weder von der Verhüllung der Sprossen noch von dem Vorhandensein von Sauerstoff im Wasser beeinflusst. Es muss aber erwähnt werden, dass der statistisch berechnete Versuchsfehler sich als sehr hoch erwies (Fig. 1a).

Im nächsten Versuch wurden die Überreste der Maiskörner von den Pflanzen abgeschnitten und dem Wasser, in welchem die Wurzeln atmen sollten, wurde ein Zusatz von 1½ Einheiten von Penicillin pro 1 ml Wasser beigegeben. Ausserdem wurden die Wurzeln vor dem Versuch in 3% Wasserstoffsuperoxydlösung eingetaucht. Diese Massnahmen sollten dazu dienen, die etwaige Mikroorganismengärung zu unterdrücken. Ein so durchgeführter Versuch ergab einen deutlich niedrigeren Versuchsfehler, — doch blieb die Kohlensäureproduktion der Maiswurzeln bei Mangel an Sauerstoff eher grösser ,als bei seiner Anwesenheit. Die Verhüllung und Abdichtung der grünen Teile der Pflanzen übte keinen Einfluss auf die CO_2 — Ausscheidung ihrer Wurzeln aus (Fig. 1b).

Als nächstes wurden vergleichende, länger dauernde Versuche mit Mais und Tomaten durchgeführt, wobei man stets Penicillin verwendete.

Die beigefügten Diagramme (Fig. 2 u. 3) illustrieren die Resultate dieser Versuche. Sie zeigen, dass die Maiswurzeln bei mehrstündigem Sauerstoffmangel nich weniger, sondern eher mehr Kohlensäure ausscheiden, als beim Vorhandensein von Sauerstoff. Die Verhüllung und Abdichtung der oberen Teile der Pflanzen übte darauf keinen Einfluss aus.

Bezüglich des Wasserverbrauchs wurde festgestellt, dass in den verhüllten Apparaten das Vorhandensein von Sauerstoff einen starken Einfluss ausübte. Demgemäss zeigten die Pflanzen in den verhüllten Apparaten, deren Wurzeln in besseren Sauerstoffbedingungen gehalten wurden, eine verblüffende Guttation im Gegensatz zu jenen, die ohne Sauerstoff verblieben.

Identische Versuche mit Tomaten zeigten, dass die Wurzeln dieser Gattung im sauerstoffreichen Wasser viel mehr CO_2 ausscheiden, als im sauerstoffarmen. Dieses Verhältnis blieb unverändert, unabhängig davon ob die Blätter verhüllt wurden oder frei blieben.

Der Einfluss der Sauerstoffkonzentration auf die Wasseraufnahme war auch bei den Tomaten festzustellen. Hier aber, im Gegensatz zum Mais, erwies sich der Einfluss des Sauerstoffs nur bei den transpirierenden Pflanzen stark; bei den verdeckten Tomatenpflanzen blieb die Wasseraufnahme im allgemeinen klein und der Einfluss des Sauerstoffs konnte deshalb nicht konstatiert werden.

Um sich davon zu überzeugen wie die Sauerstoffaufnahme und die Kohlensäureausscheidung sich sukzessive an einzelnen Tagen verhalten, führte man spezielle Versuche aus. Die verzeichneten Kurven zeigen nun folgendes:

1. Mais. Die Kohlensäureproduktion ist während der ersten 24 Stunden dem Sauerstoffverbrauch gleich ($RQ=1$). Am zweiten Tage sinkt die Sauerstoffaufnahme fast bis auf Null, die CO_2 Ausscheidung sinkt auch sehr stark, bleibt aber relativ hoch ($RQ=10$). In den zwei folgenden Tagen hört die Sauerstoffaufnahme völlig auf, aber die CO_2 Ausscheidung wird nicht vermindert, im Gegenteil kann man eine Intensivierung dess Prozesses beobachten ($RQ=\infty$).

2. Tomaten. In den ersten 24 Stunden erweist sich die CO_2-Produktion fast doppelt so gross, als die Sauerstoffaufnahme ($RQ=1.86$). Am nächsten Tage sinken beide Kurven stark ($RQ=6$) und am dritten Tage erreichen sie gleichfalls den Nullpunkt. Der Ablauf der Wasseraufnahmekurven zeigt endeutig die Abhängigkeit dieses Prozesses von der Atmungsintensität.

Um etwas ganauer den Atmungsmechanismus und seinen Einfluss auf die Wasseraufnahme kennen zu lernen, gebrauchte man einige Atmungsinhibitoren.

Die Inhibitoren wurden entweder einen Tag vor dem Versuch der Nährlösung und dann auch dem Wasser der Atmungsapparate beigegeben, oder nur dem Wasser in den Apparaten, oder aber nur der Nährlösung vor dem Versuch zugefügt. In Vorversuchen bestimmte man die geeigneten Konzentrationen der Inhibitoren. Die von uns benutzten Konzentrationen passen im allgemeinen in den Rahmen der von James, in sei-

nem Buche über die Pflanzenatmung (1953), angegebenen Daten. Nur bei Mais musste die zehnfache Konzentration von KCN gebraucht werden.

Die erhaltenen Ergebnisse (Fig. 6 bis 12) sollen mit grosser Vorsicht bewertet werden, da sie mit vielen Fehlern belastet sind. Vor allem muss man beachten, dass manche gebrauchten Chemikalien direkt mit Sauerstoff reagieren (Dieca), dann falschen sie die chemische Analyse, schliesslich beeinflussen sie die Durchlässigkeit des Plasmas und verstopfen vielleicht die Wasserbahnen in den Pflanzen (Malachitgrün). Wenn man aber vor allem diese Versuche beachtet, in welchen die Inhibitoren nur der Nährlösung beigegeben waren, bevor die Pflanzen in die Atmungsapparate eingesetzt wurden, darf man aus den Diagramen manche Resultate ablesen.

Durch die Wirkung von Malachitgrün wird die Atmungsintesität der beiden Pflanzengattungen stark herabgesetzt.

Die Malonsäure übte nur einen schwachen Einfluss auf die Atmung der Maiswurzeln aus; die Tomatenwurzeln erwiesen sich empfindlicher gegen diesen Inhibitor.

KCN scheint die Atmung der Tomatenwurzeln spezifisch zu hemmen, also in kleinen Konzentrationen und nur in aeroben Bedingungen, nicht aber in anaeroben (Fig. 12a). Bei Mais dagegen hemmen die Atmung nur sehr hohe Konzentrationen und dann auch in anaeroben Bedingungen — also unspezifisch.

Ähnlich stehen die Verhältnisse mit „Dieca" — doch aber scheint nur sehr hohe Konzentrationen und dann auch in anaeroben Bedingunzu sein.

Was die Wirkung der Atmungsinhibitoren auf die Wasseraufnahme anbetrifft, so kann man sehen, dass alle diese Reagenzien, welche die Atmung herabsetzen, hemmen auch stark die Wasseraufnahme.

Sehr charakteristisch erwiesen sich die Resultate der Wirkung des DNP. Obwohl dieses Reagens auf die Atmung beider Pflanzenarten gar keinen Einfluss hat, kann man doch sehen, dass die Wasseraufnahme sowohl der Tomaten, wie auch des Mais stark herabgesetzt wird. Wir wollen davon den Schluss ziehen, das oxydative Phoshorylierungen für die Wasseraufnahme von Bedeutung sind.

Alle Ergebnisse der beschriebenen Versuche zusammenfassend, glauben wir folgende Schlüsse ziehen zu dürfen:

1. Die Maiswurzeln haben eine viel stärker ausgeprägte Fähigkeit zur anaeroben Atmung, als die Tomatenwurzeln.

2. Bei der aeroben Atmung der Tomatenwurzeln wird der Wasserstoff vermittels der metallischen Oxydasen oxydiert (vor allem die Cytochrom-oxydase) — bei Mais dagegen nahmen daran wahrscheinlich auch die nicht-metallische Oxydasen teil.

3. Die Wasseraufnahme beider Pflanzenarten ist stark von der Atmungsintensität der Wurzeln abhängig. Bei der Wasseraufnahme macht sich vor allem die aerobe Atmung geltend, die anaerobe spielt keine wesentliche Rolle.

4. Die Wirkung der Atmung in der Wasseraufnahme beruht auf der Produktion der energiereichen Phosphate.

Breslauer Universität
Institut der Physiologie der Pflanzen

LITERATURA

Gumiński S., Czerwiński W., Unger S., Bacowa A., 1955, Acta Soc. Bot. Pol. 24: 723—731.
Gumiński S., Czerwiński W., Unger S., Skrabka H., 1957, Acta Soc. Bot. Pol. 26: 631—645.
James W. O., 1953, Plant Respiration. 282 p.p., Oxford. At the Clarendon Press.
Lundegardh H. u. Burström H., 1935, Bioch. Ztschr., 277: 223—249.
Stabrowska J., 1959, Acta Soc. Botan. Pol., w druku.