Próba stymulacji buraka cukrowego przy zastosowaniu żelazicyjanku

Stimulatory effect of ferricyanide on sugar beet

I. REIFER I S. BURACZEWSKI

W 1952 r. w Zakładzie Biochemii SGGW rozpoczęły się próby nad stymulacją roślin za pomocą żelazicyjanku potasowego. Jego właściwości oksydacyjno-redukcyjne i możliwości oddziaływania na aktywność niektórych enzymów były przyczyną zwrócenia uwagi na ten związek.

Jak wykazano (Rumeni 1954), kompleksowe jony żelaza wpływają na potencjał oksydacyjno-redukcyjny w roślinie. Żelazicyjanek aktywuje procesy proteolizy i peptolizy (Maschman i Helmert 1935). W układach *in vitro* może spełniać rolę akceptora elektronów zamiast cytochromu c (Grane i Beinert 1956, Devlin i Lehninger 1956) i podobnie zachowuje się w fotosyntezie w znanej reakcji Hilla (Good 1955, Schwartz 1955, Krogman i Jagendorf 1957). Poznane jest również jego działanie hamujące tyrozinazę ziemniaka (Kawasaki Osaum 1938) i katalazę (Roca i Ondana 1951).

Wstępne badania prowadzone przez Zakład Biochemii SGGW dały obiecujące wyniki wyrażające się wzrostem plonów pomidorów stymulowanych żelazicyjankiem (Reifer 1953). Dalsze badania polowe i wazowne prowadzone przy współpracy z Zakładami SGGW i innymi placówkami naukowymi nie dały jednoznacznych rezultatów (dane nie publikowane). Prace nad bieluniem (Reifer, Rumińska, Kączkowski 1955, 1956) wykazywały w ciągu 2 lat wpływ żelazicyjanku wyrażający się wzrostem plonu liści i zawartości alkaloidów w liściach i nasionach. Trzeci rok doświadczeń różnic takich nie wykazał z wyjątkiem jednego zbioru młodych liści (dane nie ogłoszone). Badania nad rącznikiem (Brzeski 1956) wykazały wpływ żelazicyjanku na zwiększenie się zawartości oleju o charakterze nienasyconym w nasionach, a także ujemny wpływ

na energię początkowego okresu kiełkowania nasion w warunkach polowych.

Burak cukrowy był przedmiotem wielu prac dotyczących jego stymulacji różnymi związkami chemicznymi. Uzyskiwano w nich wyniki zarówno świadczące o dodatnim wpływie stymulatorów na energię kiełkowania nasion i na zawartość cukrów i plony korzeni (Własiuk 1932, 1933, Iliev 1958), jak i nie stwierdzające jakiegokolwiek wpływu (Plaut 1925, Pietierburgskij 1928).

Według badań Popowa (Popow 1923, Iliev 1955) bodziec stymulujący jest przekazywany pokoleniom komórek wegetatywnych. Roślina wyhodowana z nasienia poddanego działaniu stymulatora ma zachować jego wpływ w ciągu całego swego okresu wegetacyjnego.

Prawie wszystkie prace nad działaniem stymulatorów ograniczały się do badania wpływu na wzrost i rozwój roślin i tylko w nielicznych przypadkach dotyczyły ewentualnych zmian ilościowych składników chemicznych w roślinie.

W niniejszej pracy przeprowadzono badania nad wpływem moczenia nasion w roztworach żelazicyjanku na ich energię i siłę kiełkowania, procesy oddychania nasion i roślin, wartość potencjału oksydacyjno-redukcyjnego oraz zawartość niektórych składników w roślinie w okresie wegetacji i po zbiorach.

MATERIAŁ I METODY

W badaniach użyto buraków marki AJ1, AJ2 i AJ3. Nasiona moczone w wodnych roztworach żelazicyjanku o stężeniach od 0,05‰ do 0,5‰ w temp. 15—18°. Czas moczenia wynosił od 6 do 96 godzin, przy czym podczas moczenia ponad 24 godziny stosowano w każdej dobie 8-godzinną przerwę w moczeniu w celu napowietrzenia nasion. Roztwór żelazicyjanku w czasie moczenia uzupełniano tak, ażeby nasiona były stale w nim zanurzone. Nasiona przeznaczone do wysiewu były po namoczeniu suszone w warstwie grubości około 3 cm na powietrzu w ciągu około 48 godz. przy częstym ich przegarnianiu. W nasionach moczonych w ciągu 96 godzin kiełki widoczne były w pojedynczych kłębках.

Doświadczenia polowe prowadzone były w Rolniczych Zakładach Doświadczalnych SGGW oraz WSR w Poznaniu. Poletka zakładano na polu produkcyjnym w miejscach przypadających w płodozmianie pod okopowe. Brak odpowiednio przygotowanego pola doświadczalnego starano się zastąpić najwłaściwszym wyborem miejsca kierując się obserwacjami przedpionów i innymi wskazówkami w celu uniknięcia większych błędów doświadczalnych. Doświadczenia zakładano w 6 powtórzeniach, umieszcza-

jąc poszczególne kombinacje w blokach losowo. Powierzchnia poletek do zbioru wynosiła 40—45 m². Gęstość siewu: 7—8 sztuk roślin na 1 m². Miejsca pustych po wypadnięciu roślin w okresie wegetacji nie uzupełniano. Wskutek tego ilość zbieranych korzeni była mniejsza o około 10%. Poletka o większej ilości braków były odrzucane lub zbierane częściowo. Do analiz pobierano proporcjonalnie według wielkości 50 szt. korzeni z poletka.

Wpływ moczenia w roztworach żelazicyjanku na energię i siłę kiełkowania oznaczano w nasionach o wielkości 3—5 mm biorąc w 4 powtórzeniach po 100 szt. nasion w próbce wyrównanej wagowo. Kiełkowanie przeprowadzano na piasku w krystalizatorach o zawartości 15% wilgoci w temperaturze zmiennej 18° i 30° w ciemni.

Cukry oznaczano metodą Fujita Akiji i Danzo Iwatake (1931). Próbkę do analizy cukrów w burakach były pobrane z mieszaniny po rozdrobnieniu na tarce promienistych wycinków wzdłuż osi korzenia buraka. Z 50 szt. korzeni pobierano 2 równoległe naważki po 25 g, utrwalano je przez zagotowanie i do oznaczenia przechowywano w lodówce z dodatkiem chloroformu.

Glutaminę i asparaginę oznaczano metodą Puchera, Vickery i Leavenwortha w modyfikacji Reifera i Tarnowskiej (1952). Azot oznaczano metodą Kjeldahla w modyfikacji Reifera i Tarnowskiej (1950).

Oddychanie nasion i liści oznaczano w aparacie Warburga. Pomiary pobierania tlenu przez nasiona przeprowadzano na próbkach 1 g (masa powietrznie suchych nasion), zawierających kłębki o wielkości 3—5 mm w wyrównanej ilości. Wydzielany dwutlenek węgla usuwano z naczynka przy pomocy 20% KOH, dawanego do środkowego zbiorniczka naczynka Warburga. Po ukończeniu pomiaru nasiona wyjmowano z naczynek i zalewano ponownie żelazicyjankiem lub wodą do następnych kolejnych oznaczeń.

Potencjał oksydacyjno-redukcyjny oznaczano w homogenatach liści buraków w atmosferze azotu. Naważkę zielonych liści z trzykrotną ilością wody umieszczano w zbiorniku homogenizatora i azot przepuszczano w ciągu 5 min. Następnie przy stałym jego dopływie homogenizowano liście w ciągu 1 min., i przenoszono homogenizat do naczynia zamkniętego z elektrodami podłączonymi do pehametru nie przerywając dopływu azotu. Pierwszy pomiar potencjału dokonywano w 3 min. od rozpoczęcia homogenizacji.

Glutation oznaczano metodą glioksalazową według Clifta i Cooka, ulepszoną przez Stettera (1951). Glutation utleniony oznaczano po uprzedniej redukcji na katodzie rtęciowej.

WYNIKI

Energia i siła kiełkowania nasion traktowanych żelazicyjankiem. Nasiona moczone przez 4 doby w roztworach 0,1% i 0,3% żelazicyjanku oraz w wodzie. Do oznaczenia brano nasiona bezpośrednio po ich moczeniu oraz po uprzednim wysuszeniu. Wyniki podane są w tabeli 1.

Tabela 1

Energia i siła kiełkowania nasion buraka AJ2 traktowanych przez 4 doby w roztworach żelazicyjanku

Sposób traktowania nasion		Okres kiełkowania dni	% kłębów skielkowanych średnio*	Liczba kłębów średnio*
Nie suszone po moczeniu	Moczone: w wodzie	7	65	108
		14	66	110
	w 0,1% żelazicyjanku	7	59	107
		14	60	108
	w 0,3% żelazicyjanku	7	59	107
		14	61	111
Wysuszone po moczeniu	Niemoczone	7	66	122
		14	67	124
	Moczone: w wodzie	7	69	124
		14	69	125
	w 0,3% żelazicyjanku	7	67	120
		14	67	122

* Średnia z 4 powtórzeń.

Jak wynika z danych, żelazicyjanek nie wpływał na energię i siłę kiełkowania nasion.

Oddychanie nasion. Pobieranie tlenu przez nasiona buraków AJ1 i AJ2 moczonych w wodzie i w roztworach żelazicyjanku oznaczano w ciągu pierwszych czterech dni kiełkowania. Pomiary wykonywano w 3 powtórzeniach, co 24 godz. Wyniki podane na rys. 1 i 2 przedstawiają średnią wartość z 5 serii pomiarów dla każdej odmiany.

Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała istotność różnic — z prawdopodobieństwem błędu 0,01 — w pobieraniu tlenu przez nasiona między odmianami, kombinacjami, czasem oznaczenia, a także i różnicę we współdziałaniach *odmiany* $\times$ *kombinacje* i *odmiany* $\times$ *czas*. Współdziałanie *kombinacje* $\times$ *czas* wykazuje różnicę dopiero przy prawdopodobieństwie błędu 0,05. Przedział ufności wynosi dla odmian 6 μ l, dla kombinacji 7 μ l, dla czasu 8 μ l O₂.

Roztwór 0,3‰ żelazicyjanku obniża bardzo wyraźnie, w stosunku do nasion kontrolnych moczonych w wodzie, pobieranie tlenu przez nasiona AJ2 w przeciągu całego okresu badań. Roztwór 0,1‰ spowodował obniżenie pobierania tlenu dopiero po trzecim i czwartym dniu moczenia. Nasiona buraków AJ1 moczone w 0,3‰ żelazicyjanku pobierały mniej tlenu od kontrolnych, z wyjątkiem nasion po drugim dniu moczenia. Stężenie 0,1‰ obniżało pobieranie tlenu dopiero po czwartym dniu moczenia.

Oddychanie kiełków i liści buraków. Oznaczono pobieranie tlenu przez kiełki uzyskane z nasion buraków moczonych w wodzie

Ryc. 1. Pobieranie tlenu przez kielbki buraka AJ1 (średnie z 5 analiz)

Ryc. 2. Pobieranie tlenu przez kielbki buraka AJ2 (średnie z 5 analiz)

Nasiona moczone: ————— w wodzie, ———— 0,1‰ żelazicyjanku, — · — · — w 0,3‰ żelazicyjanku

oraz w roztworach żelazicyjanku w ciągu 4 dób. Do oznaczeń pobierano po 0,5 g kiełków lub liści w trzech powtórzeniach. Wyniki pomiarów przedstawione są w tabeli 2.

Analiza zmienności nie wykazała istotności różnic (z prawdopodobieństwem błędu 0,05) między kombinacjami, a wykazała tylko istotną zmienność materiału.

Współczynnik oddychania — CO_2/O_2 , oznaczony dla kiełków buraków AJ2, również nie wykazuje istotnych różnic między kombinacjami. Wyniki tych oznaczeń podane są w tabeli 3.

W celu poznania bezpośredniego wpływu żelazicyjanku na oddychanie tkanki, przeprowadzono pomiary współczynnika oddychania liści buraka w środowisku wodnym i w środowisku 0,1‰ żelazicyjanku. Wyniki podane w tabeli 4 nie wykazują różnic w oddychaniu między tymi kombinacjami.

Również inhibicja oddychania w obecności cyjanku i azydku oraz malonianu (tabela 5) nie powodowała różnic w pobieraniu tlenu przez rośliny z nasion moczonych w wodzie i w roztworach żelazicyjanku.

Tabela 2

Pobieranie tlenu przez kielki i liście buraków (w $\mu\text{l O}_2/30 \text{ min.}$ przez 500 mg świeżej masy)

Odmiana	Wiek roślin dni	Nasiona moczone 4 doby		
		w wodzie	w 0,1 ‰ żelazicyjanku	w 0,3 ‰ żelazicyjanku
AJ 1	8	95	91	106
	12	80	77	80
	15	74	73	91
	15	67	79	82
	15	55	55	66
	22	80	80	76
AJ 2	9	61	75	72
	16	49	—	48
	21	124	123	122
	21	111	111	111
AJ 3	2 miesiące	95	88	93
		69	62	68
		93	93	96
		73	68	75

Potencjał oksydacyjno-redukcyjny. Potencjał oznaczano w homogenatach liści buraków AJ2 z roślin 25, 50 i 120-dniowych. Wyniki pomiarów przedstawione na ryc. 3—5 wykazują zmienność potencjału zależną od wieku roślin, nie zaś od traktowania nasion.

Tabela 3

Wartość współczynników oddychania w zależności od traktowania roślin buraka AJ2 ($Q = \mu\text{l}/30 \text{ min.}$, średnio z dwu powtórzeń)

Wiek roślin	Nasiona moczone	Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^*$	CO_2/O_2
8 dni	w wodzie	80,110	61,89	0,79
	w 0,1 ‰ żelazicyjanku	85,97	69,74	0,79
	w 0,3 ‰ „	116,97	96,75	0,80
12 dni	w wodzie	73,87	51,63	0,71
	w 0,1 ‰ żelazicyjanku	72,81	55,56	0,73
	w 0,3 ‰ „	76,85	54,56	0,68

* Q_{CO_2} obliczono na podstawie pomiarów pobierania tlenu w naczynkach równoległych nie zawierających KOH.

Zawartość cukrów i innych składników w okresie wegetacji buraka. Zawartość cukrów redukujących, sacharozy i azotu ogólnego w 12-dniowych kielkach podana jest w tabeli 6. Oznaczenia te przeprowadzono w kielkach otrzymanych z nasion, traktowanych

Tabela 4

Oddychanie liści buraka AJ3 w środowisku 0,10% żelazicyjanku
(w μ l na 30 min., 500 mg zielonej masy)

Środowisko	QO ₂ *	QCO ₂ *	CO ₂ O ₂
Woda	93,99	81,84	0,89
0,10% żelazicyjanek	96,90	82,84	0,89

* Wartości średnie z dwu powtórzeń.

wanych żelazicyjankiem o stężeniu 0,30% i wysianych bezpośrednio po moczeniu oraz po uprzednim ich wysuszeniu. Jako kontrolnych użyto nasiona moczone w wodzie lub też nie moczone.

Tabela 5

Inhibicja pobierania tlenu przez liście z roślin buraka
(500 mg skrawków w środowisku z buforem fosforanowym ok. 0,066 M
o pH 7,0 i inhibitorem. Wyniki w μ l na 30 min oparte są na trzech powtórzeniach)

Inhibitor i jego stężenie	Odmiana i wiek rośliny	0% inhibicji nasiona moczone		
		w wodzie	w 0,10% żelazicyjanku	w 0,30% żelazicyjanku
Azydek sodowy 0,005 M	AJ2, 9 dni	39	43	43
	AJ3, 3 mies.	41	37	39
		59	53	57
Cyjanek potasowy 0,005 M	AJ2, 19 dni	48	45	47
	AJ3, 3 mies.	33	34	33
Malonian 0,016 M	AJ3, 3 mies.	17	15	16

Zawartość cukrów i azotu nie była zależna od sposobu traktowania nasion. Materiał do analizy uzyskiwano wysiewając nasiona do ziemi ogrodowej w skrzynkach, znajdujących się w pomieszczeniu laboratoryjnym. Dla uzyskania materiału do analizy z roślin starszych założono małe polotka na terenie SGGW w Warszawie. Nasiona moczone w 0,30% roztworze żelazicyjanku, moczone w wodzie i nie moczone wysiano 15.V.1955 r. w 7 powtórzeniach. W rzędzie, stanowiącym jedno powtórzenie, umieszczano po 25 szt. roślin. Kielkowanie buraków moczonych w roztworze żela-

zicyjanku i w wodzie było o 2—3 dni szybsze od kiełkowania buraków z nasion suchych. Do analizy pobierano 21 szt. roślin — po 3 z każdego powtórzenia. Po zważeniu liści i korzeni, każdą próbkę analizowano na zawartość cukrów, glutaminy i asparaginy. Materiał do analizy był możliwie szybko utrwalany ze względu na szybkie zmiany zawartości niektórych składników chemicznych, a zwłaszcza cukrów. Waga liści i korzeni podana jest w tabeli 7, z której wynika, że w początkowym okresie rośliny

Ryc. 3. Potencjał oksydacyjno-redukcyjny homogenatów liści buraka z roślin 25-dniowych.

Nasiona moczone:

w wodzie; —————

w 0,1% żelazicyjanku; - - - - -

w 0,3% żelazicyjanku -

z nasion moczonych miały większą masę, natomiast żelazicyjanek w porównaniu z wodą nie wywierał żadnego widocznego wpływu.

Podobnie żelazicyjanek nie wywierał wpływu na zawartość cukrów (tabela 8), glutaminy i asparaginy (tabela 9).

Glutationu w liściach buraka w ilościach oznaczalnych metodą glioksalazową nie wykryto, natomiast znaleziono go w postaci utlenionej, w ilości około 1 mg⁰/g świeżej masy w 5-dniowych etiolowanych kiełkach buraków. Moczenie nasion w 0,3% roztworze żelazicyjanku przez 4 doby nie spowodowało widocznych zmian w zawartości glutationu.

Doświadczenia polowe. Przeprowadzone w 1955 r. doświadczenia miały na celu zbadanie wpływu stężenia roztworu żelazicyjanku

użytego do moczenia nasion oraz długości czasu moczenia na plon i cukrowość buraków. Ponieważ z różnych względów założenie w jednej miejscowości obszerniejszego doświadczenia było niemożliwe, więc w RZD w Puczniewie porównywano wpływ stężenia żelazicyjanku na nasionach moczonych przez 4 doby, a w RZD w Swadzimiu — wpływ czasu moczenia stosując 0,3‰ roztwór żelazicyjanku. Wyniki uzyskane z doświadczenia w Swadzimiu (tabela 10) nie wykazują istotnych różnic między kom-

Ryc. 4. Potencjał oksydacyjno-redukcyjny homogenatów liści buraka z roślin 50-dniowych. Nasiona moczone:

w wodzie; —————
 w 0,1‰ żelazicyjanku; - - - - -
 w 0,3‰ żelazicyjanku -

Ryc. 5. Potencjał oksydacyjno-redukcyjny homogenatów liści buraka z roślin 120-dniowych. Nasiona moczone:

w wodzie; —————
 w 0,1‰ żelazicyjanku; - - - - -
 w 0,3‰ żelazicyjanku -

binacjami. Przedział ufności wynosi 9,7 kg, przy średniej generalnej plonu z poletka 135,1 kg, a przedział ufności dla zawartości cukrów w korzeniach wynosi 0,66.

Z doświadczenia w Puczniewie (tabela 11) wynika, że różnice plonów w niektórych kombinacjach, jak i powtórzeniach są istotne. Obliczony przedział ufności wynosi 10,5 kg. Z porównania różnic między średnimi wartościami plonu z poszczególnych kombinacji wynika, że zmienność ta była spowodowana błędami doświadczalnymi. Analiza zawartości cukrów (przedział ufności 0,34‰) nie wykazała istotnego zróżnicowania poszczególnych kombinacji.

W dalszych dwu latach prowadzono doświadczenie w Puczniewie obejmujące w pierwszym roku 4 poziomy stężenia roztworów żelazicyjanku i 3 poziomy czasu moczenia nasion. W następnym roku stosowano 2 poziomo-

my stężenia żelazicyjanku i 2 poziomy czasu moczenia nasion. Uzyskane wyniki przedstawione są w tabeli 12.

Analiza statystyczna każdego roku nie wykazała istotnych różnic w pło-
nach i zawartości cukrów między poszczególnymi kombinacjami. Doświad-

Tabela 6

Zawartość cukrów redukujących, sacharozy i azotu ogólnego w 12-to dniowych kiełkach buraka
(w 0/0 świeżej masy)

Czas moczenia dni	Składnik	Nasiona wysiane mokre		Nie moczone	Nasiona wysiane po wysuszeniu	
		moczone w wodzie	moczone w 0,30/0 żelazicyj.		moczone w wodzie	moczone w 0,30/0 żelazicyj.
1	Cukry red.	0,259	0,317	0,233	0,179	0,176
	Sacharoza	0,123	0,104	0,054	0,082	0,097
	Azot ogólny	0,383	0,393	0,468	0,426	0,423
2	Cukry red.	0,136	0,125	0,412	0,382	0,439
	Sacharoza	0,054	0,039	0,095	0,049	0,074
	Azot ogólny	0,334	0,310	0,356	0,328	0,354
3	Cukry red.	0,125	0,143	0,364	0,422	0,374
	Sacharoza	0,192	0,192	0,116	0,103	0,102
	Azot ogólny	0,317	0,335	0,321	0,369	0,367
4	Cukry red.	0,411	0,421	—	—	—
	Sacharoza	0,106	0,115	—	—	—
	Azot ogólny	0,307	0,316	—	—	—

czenia te były wykonane z dostateczną dokładnością, czego wyrazem jest
wartość przedziału ufności wynosząca do 10⁰/o wartości średnich gene-
ralnych.

Tabela 7

Waga liści i korzeni buraków w okresie wegetacji (w g na 1 roślinę)

Nasiona	Ważona część rośliny	Daty analizy				
		21.VI	27.VI	6.VII	28.VII	20.VIII
Nie moczone	liście	2,5	7,6	24,8	165	185
	korzenie	1,25	3,7	8,6	79,5	181
Moczone w wodzie	liście	3,2	9,5	19,6	166	183
	korzenie	1,95	5,2	6,2	81,9	195
Moczone w 0,30/0 żelazicyj.	liście	3,8	8,8	22,7	162	167
	korzenie	2,0	6,3	8,3	81,4	197

DYSKUSJA

Oznaczenie energii i siły kiełkowania nasion przeprowadzone w warunkach laboratoryjnych nie wykazało różnic między nasionami moczonymi w żelazicyjanku, w wodzie, jak i między nasionami w ogóle nie moczonymi. Thompson i Rosar (1938), badając wpływ moczenia na-

Tabela 8

Zawartość cukrów redukujących i sacharozy w liściach i korzeniach buraka (w % świeżej masy)

Nasiona	Cukry	Daty analizy							
		21.VI	27.VI	6.VII		28.VII		20.VIII	
		<i>l</i> *	<i>l</i>	<i>l</i>	<i>k</i>	<i>l</i>	<i>k</i>	<i>l</i>	<i>k</i>
Nie moczono	Reduk.	0,296	0,254	0,786	0,162	0,948	0,084	0,87	0,089
	Sachar.	0,143	0,133	0,050	7,10	0,357	13,0	0,489	19,5
Moczone w wodzie	Reduk.	0,348	0,247	0,748	0,163	0,892	0,095	0,790	0,082
	Sachar.	0,135	0,118	0,061	7,02	0,374	13,0	0,474	19,4
Moczone w 0,30% żelazicyjanku	Reduk.	0,383	0,263	0,783	0,168	0,961	0,087	0,974	0,082
	Sachar.	0,143	0,094	0,070	7,08	0,382	13,1	0,416	19,2

l — liście, — *k* korzenie.

Tabela 9

Zawartość glutaminy i asparaginy w liściach i korzeniach buraka (wyrażone ilością azotu amidowego w mg% świeżej masy)

Nasiona	Składnik oznaczany	Daty analizy							
		27.VI	6.VII		28.VII		20.VIII		
		<i>l</i> *	<i>l</i>	<i>k</i>	<i>l</i>	<i>k</i>	<i>l</i>	<i>k</i>	
Nie moczono	Glutamina	1,28	2,15	5,72	1,70	2,76	1,79	2,26	
	Asparagina	3,97	1,96	4,67	0,93	1,40	3,74	1,15	
Moczone w wodzie	Glutamina	1,28	2,34	5,95	1,46	2,10	1,79	1,56	
	Asparagina	3,39	1,77	4,40	0,77	1,54	3,88	1,21	
Moczone w 0,30% żelazicyjanku	Glutamina	0,47	2,52	5,78	1,74	2,19	2,03	2,31	
	Asparagina	3,50	1,40	4,96	0,53	1,59	3,89	1,33	

l — liście, *k* — korzenie.

sion sałaty m. in. także w roztworach żelazicyjanku, również nie stwierdzili jego wpływu na kiełkowanie. Jednakże w warunkach polowych obserwowano niejednokrotnie wyraźny wpływ moczenia, przyspieszający wschody buraków o kilka dni. Podobnie przyspieszone wschody uzyskiwano z nasion moczonych w wodzie, zjawisko to więc nie było wywołane dzia-

łaniem żelazicyjanku. Przyspieszenie wschodów uzyskuje się prawdopodobnie w pewnych sprzyjających warunkach klimatycznych i glebowych.

Badania nad oddychaniem nasion (kłębków) buraka są związane z dużymi trudnościami, ponieważ procesy oddechowe przebiegają nie tylko w nasieniu, lecz także i w owocni (de Roubaix i Lazar 1952). Ponadto usunięcie flory bakteryjnej z kłębka buraka i całkowite wymycie czynnika sterylizującego w odpowiednio krótkim czasie jest ze względu na jego budowę praktycznie niemożliwe.

Tabela 10

Wpływ długości czasu moczenia nasion buraków
AJ1 w 0,30/0 roztworze żelazicyjanku na plon
(kg z 42 m²) i cukrowość korzeni (Swadzim)

Kombinacje	Plon w kg	Cukrowość 0/0
Nie moczone	132	21,0
Moczone	6 godzin	135
	24 godzin	134
	2 doby	141
	4 doby	134
		21,4
		21,7
		21,4
		20,9

Tabela 11

Wpływ moczenia nasion w ciągu 4 dób w roztworach
o różnym stężeniu żelazicyjanku na plon (kg z 42,5 m²)
i cukrowość korzeni buraków. (Puczniew, 1955 r.)

Kombinacje	Plon w kg	Cukrowość 0/0
Nie moczone	134	18,6
Moczone	w wodzie	146
	w 0,050/0 ż*	152
	w 0,10/0 ż	147
	w 0,20/0 ż	152
	w 0,30/0 ż	139
	w 0,40/0 ż	162
		18,7
		18,9
		18,9
		18,5
		18,4
		18,5

* ż — żelazicyjanek.

Przeprowadzone pomiary obejmują pobieranie tlenu przez kłębki moczone w roztworach żelazicyjanku i wodzie. Ilości pobieranego tlenu były najwyższe po 24 godzinach moczenia w porównaniu z oznaczeniami w innych okresach. W drugiej dobie obserwowano znaczne obniżenie pobieranego tlenu, a w trzeciej i czwartej dobie dalszych większych zmian nie

obserwowano. Znaczne obniżenie pobierania tlenu w pierwszym okresie przypuszczalnie wynikało z wymycia z owocni enzymów oddechowych i ich substratów.

Różnice w ilości pobieranego tlenu między nasionami AJ1 i AJ2 są wynikiem zróżnicowania odmianowego. De Roubaix i Lazar (1954) uprzednio stwierdzili także, że ilość tlenu pobieranego przez kłębki jest zależna od odmiany. Pomiarzy przeprowadzali oni w ciągu pierwszych 7 godzin kiełkowania.

Tabela 12

Wpływ moczenia nasion buraków AJ1 w roztworach żelazicyjanku na plon (w kg z 43 m²) i cukrowość korzeni. Puczniew

Kombinacje	1956 rok		1957 rok	
	plon	cukrowość	plon	cukrowość
Nie moczone	143	17,8	157	18,0
Moczone w wodzie		...		
1 dobę	146	17,9	—	—
2 doby	139	17,8	158	18,0
4 doby	147	17,8	161	17,9
Moczone w 0,10% żelazicyjanku				
1 dobę	141	17,8	—	—
2 doby	140	17,7	165	17,9
4 doby	150	17,8	160	18,2
Moczone w 0,30% żelazicyjanku				
1 dobę	143	17,7	—	—
2 doby	138	17,6	162	18,0
4 doby	138	17,9	164	17,9
Moczone w 0,50% żelazicyjanku				
1 dobę	148	17,8	—	—
2 doby	147	17,5	—	—
4 doby	143	17,9	—	—

Żelazicyjanek o stężeniu 0,30% obniża pobieranie tlenu przez nasiona buraków AJ2 w porównaniu do nasion kontrolnych moczonych w wodzie. Roztwór 0,10% wyraźnie obniżył pobieranie tlenu dopiero po 3 i 4 dobie moczenia. W przypadku buraków AJ1 roztwór 0,30% nie powodował tak dużego wpływu na oddychanie. Wpływ stymulatora w obydwu stężeniach obserwowano dopiero po 3 i 4 dniu moczenia.

Obniżenie pobierania tlenu przez nasiona moczone w żelazicyjanku może być wynikiem inhibicji oksydaz w kłębku, względnie wynikiem działania żelazicyjanku jako utleniacza. Żelazicyjanek hamuje niektóre enzymy o działaniu związanym z pobieraniem i wydzielaniem tlenu, jak

w przypadku tyrozynazy (Kawasaki Osaum 1939) i katalazy ((Roca i Ondana 1951). W kłébkach buraka tyrozynazy nie znaleziono, natomiast wykryto katalazę, peroksydazę, oksydazę polifenolową i Nadi-oksydazę (de Roubaix i Lazar 1952). Enzymy te znajdują się zarówno w nasieniu, jak i w owocni. Różnice w działaniu żelazicyjanku na odmiany AJ1 i AJ2 mogą wynikać z różnych ilości enzymów obecnych w kłébkach tych odmian.

Traktowanie żelazicyjankiem nasion nie wpływa na intensywność pobierania tlenu przez młode kielki buraka, jak i przez liście z roślin starszych. Pomiarы oddychania młodych tkanek buraka w obecności roztworu 0,1% żelazicyjanku również nie wykazały jego wpływu na oddychanie. Wielkość współczynnika oddychania wynosiła od około 0,7 do 0,8 dla buraków AJ2 i od około 0,86 do 0,93 dla buraków AJ3. Według de Roubaix i Lazara (1952) u buraków cukrowych od 7 do 16 dnia wzrostu współczynnik oddechowy jest stały i wynosi około 0,75. Autorzy ci przeprowadzali pomiary na burakach jednej odmiany.

Inhibicja enzymów oddechowych azydkiem i cyjankiem powodowała zmniejszenie pobierania tlenu o około 35—55%. Traktowanie nasion żelazicyjankiem nie miało dodatkowego wpływu na wielkość inhibicji. Malonian hamował pobieranie tlenu w granicach 15—20%. W podobnych warunkach, na innych roślinach, cjanek powodował 50% zmniejszenie pobierania tlenu (Reifer i Solecka 1958). Częściowa inhibicja oddychania cyjankiem lub azydkiem wskazuje na to, że rośliny buraka posiadają poza systemem cytochromowym i polifenolowym inne jeszcze nie poznane systemy enzymów oddechowych.

Przeprowadzone pomiary potencjału homogenatów z liści buraka nie wykazały jego zmian w zależności od traktowania nasion żelazicyjankiem. Potencjał ustalał się po upływie około 30 min od rozpoczęcia homogenizacji w liściach z roślin 25-dniowych na poziomie 84 mV, a około 130 mV w liściach z roślin starszych. Pierwszy pomiar po zhomogenizowaniu wykazywał wartość potencjału ok. 300—400 mV. Geller podaje (1951), że w liściach zielonej rośliny buraka na świetle potencjał wynosił 238 mV, a w ciemności — 269 mV. Pod wpływem utleniaczy w pożywce potencjał zwiększał się do 472 mV na świetle i do 494 mV w ciemności.

Zawartość cukrów redukujących i sacharozy w kielkach i liściach buraka była bardzo zmienna. Liście buraków AJ2 w okresie wegetacji zawierały od 0,25% do 1,07% cukrów redukujących, a 0,05% do 0,49% sacharozy w świeżej masie. Liście z roślin młodszych zawierały na ogół mniej cukrów niż w okresie późniejszym. W korzeniach natomiast zawartość cukrów redukujących w późniejszym okresie wegetacji była niższa i wynosiła 0,08% w roślinach 98-dniowych, podczas gdy w 53-dniowych wynosiła 0,16%.

Zawartość sacharozy w tym okresie wzrosła z 7% do 19%. Traktowanie żelazycjankiem nasion nie wpłynęło na zawartość cukrów w kielkach, liściach i korzeniach. Podobnie przedstawia się zawartość glutaminy i asparaginy w liściach i korzeniach oraz azotu ogólnego i glutationu w kielkach.

Doświadczenia polowe przeprowadzone w Rolniczych Zakładach Doświadczalnych nie wykazały wpływu moczenia nasion w roztworach żelazycjanku na plony i cukrowość buraków.

Przedstawione wyniki badań nie potwierdzają roli żelazycjanku jako stymulatora buraka cukrowego. Wykryto jedynie jego wpływ na procesy oddechowe kiełkujących nasion.

STRESZCZENIE

Przeprowadzono badania nad wpływem moczenia nasion buraka cukrowego w roztworach żelazycjanku na niektóre procesy biochemiczne oraz na wielkość plonu i zawartość cukrów w roślinach. Stwierdzono, że traktowanie nasion roztworami żelazycjanku nie wpływa stymulująco na wielkość plonu oraz zawartość cukrów, azotu ogólnego, asparaginy, glutaminy i glutationu w roślinie. Wykazano natomiast jego wpływ na procesy oddechowe kiełkujących nasion, obniżający pobieranie tlenu przez kłębki buraka.

Poza tym wykazano różnice odmianowe w intensywności pobierania tlenu przez nasiona. Współczynnik oddychania zielonych tkanek wahał się od 0,7 do 0,9. Inhibicja cyjankiem i azydkiem obniżała pobieranie tlenu do ok. 50%, a malonianem — do 20%. Potencjał oksydacyjno-redukcyjny homogenatów liści wynosił 84 mV w roślinach 25-dniowych i około 130 mV w roślinach 50- i 120-dniowych. Zawartość glutationu w 5-dniowych kielkach etiolowanych wynosiła około 1 mg% świeżej masy. W liściach zielonych glutationu nie wykryto.

Katedra Biochemii

*Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego
w Warszawie*

(Wpłynęło dn. 6.9.1959)

SUMMARY

The effect of ferricyanide applied to the seeds of sugar beet has been studied. Certain biochemical processes as well as the content of sugar and total yield on fresh weight basis were investigated.

It was shown that soaking of seeds in ferricyanide solution of various concentrations had no stimulatory effect up on the content of sugars, total nitrogen, asparagine, glutamine and glutathion. Ferricyanide however has shown a marked effect on the respiration of germinating seeds, decreasing the amount of oxygen normally taken up by sugar beet seeds. Furthermore it was shown that the oxygen uptake depends upon varietal differences.

The coefficient of respiration of green tissue varied between 0,7 to 0,9. The inhibition in the presence of cyanide and azide amounted to about 50 per cent, and in the presence of malonate to about 20 per cent. The redox potential in homogenates obtained from green leaves amounted to 84 mV in younger plants and 134 mV in older ones. Glutathione was found only in five day old etiolated seedlings and the content found amounted to about 1 mg⁰/o on fresh weight basis.

The Chair of Biochemistry

College of Agriculture

Warsaw, Poland

LITERATURA

- Brzeski W., 1956, Badania nad składem chemicznym dojrzałych nasion rącznika puławskiego z uwzględnieniem wpływu żelazicyjanku, Praca kandydacka wykonana w Katedrze Biochemii SGGW w Warszawie.
- Crane F. L., Beinert H., 1956, On the mechanism of dehydrogenation of fatty acyl derivatives of coenzyme A. II. The electron transferring flavoprotein, *J. Biol. Chem.* 218: 717—731.
- Devlin T. M., Lehninger A. L., 1956, Oxydative phosphorylation by an enzyme complex from extracts of mitochondria. II. The span of β -hydroxybutyrate to cytochrome c, *J. Biol. Chem.* 219: 507—518.
- Fujita Akiji, Danzo Iwatake, 1931, Bestimmung des echten Blutzuckers ohne Hefe, *Biochem. Z.* 242: 43—60.
- Gieller J. A., 1951, O wlijanii kisloroda i drugih oksilitielej na okislitielno — wosstanowitielnyj potencijał tkaniej sacharnoj swiokły, *DAN SSSR* 81: 251—254.
- Good N., 1955, Reduction of ferricyanide by algal suspension, *Plant Physiol.* 30: 483—484.
- Iliev P., 1955, The teaching of academician Methodi Popoff on general cellstimulation and the application of stimulation methods in increasing the yields of agriculture crops in Bulgaria. *Bulletin of the Methodi Popoff Institute of Biology, Bulgarian Academy of Science*, 6: 45—60.
- Iliev P., 1958, Die Stimulation als biologische Erscheinigung und die Vervendungsmöglichkeiten in der Praxis, w książce *Studies in Plant Physiology*: 55—68. Československe Akademie Věd. Praha.
- Kawasaki Osaum, 1938, Tyrosinase. III. Effect of the addition of various salts on the potato tyrosinase, *J. Biochem. (Japan)* 28: 383—403, *Chem. Abstr.* 2547 (1939).
- Krogman D. W., Jagendorf A. T., 1957, A spectrophotometric assay of the Hill reaction with ferricyanide, *Plant Physiol.* 32: 373—374.
- Maschman E., Helmert E., 1935, Über intracellulare Proteinasen. XIV. Aktivierung und Hemmung des Papains durch Ferricyankalcium, *Biochem. Z.* 279: 213—224.
- Pietierburgskij A. W., 1928, Izw. Sielsko-Choz. Akad. 2: 357—382, *Chem. Abstr.* 4965 (1931).
- Plaut M., 1925, Die Wirkung von warmen Beizmittel und Versuche zur Stimulation, *Angewandte Botanik* 7: 153—184.

- Popoff M., 1923, Die Stimulierung der Zellfunktionen, ihre theoretische und landwirtschaftliche Bedeutung, Die Landw. Versuchs-Stationen 101: 286—292.
- Reifer I., Tarnowska K., 1950, Mikro-jodometryczne oznaczanie azotu w materiale roślinnym, Acta Soc. Bot. Poloniae 20: 739—744.
- Reifer I., Tarnowska K., 1952, Mikrooznaczanie glutaminy w materiale roślinnym, Roczniki Nauk Roln. 61: 233—244.
- Reifer I., 1953, Zakład Biochemii SGGW w Warszawie, Kosmos, seria biologiczna 2: 92—93.
- Reifer I., Rumińska A., Kączkowski J., 1955, Wstępne badania nad wpływem żelazicyjanku potasu na plon i zawartość alkaloidów w *Datura stramonium* L., Acta Biochim. Pol. 2: 315—320.
- Reifer I., Rumińska A., Kączkowski J., 1956, Wpływ żelazicyjanku potasu na *Datura stramonium* L. Plon liści, zawartość alkaloidów i niektórych innych składników, Acta Biochim. Pol. 3: 209—224.
- Reifer I., Solecka M., 1958, Oksydazy końcowe kielków pszenicy, Acta Biochim. Pol. 5: 277—293.
- Roca J., Ondana R., 1951, Enzymic activity during germination III. Catalase in bean variates, Annales inst. biol. (Mexico) 22: 3—9, Chem. Abstr. 3617 (1952).
- de Roubaix J., Lazar O., 1952, Metabolisme respiratoire de la betterave sucrière. III. Respiration et activité enzymatique des plantules, La Sucrière Belge No. 11/12, 13/14, 15/16.
- de Roubaix J., Lazar O., 1954, Metabolisme respiratoire de la betterave sucrière. IV. L'activité respiratoire des plantules est-elle d'un caractère varietal?, La Sucrière Belge No. 7/8, str. 172.
- Rummenig G., 1954, Modellstudien über das physiologische Redoxpotentiale der Pflanze und den Chemismus seiner Steuerung, Wiss. Z. Friedrich Schiller-Univ. Math.-naturwiss. Reihe 4: 611—632, R. Z. Chim. Bioch. 2016 (1956).
- Schwartz M., 1955, The quantum efficiency of the photochemical reduction of quinone and ferricyanide by lyophilized and whole *Chlorella* cells, Archiv. Biochem. Biophys. 59: 5—16.
- Stetter H., 1951, Enzymatische analyse, Verlag Chemie GMBH, Weinheim.
- Thompson R. C., Rosar W. F., 1938, Germination of lettuce seed stimulated by chemical treatment, Science 87: 218—219.
- Własiuk P. A., 1932, Chemical stimulation of sugar beet seeds for increase of the sugar yield. Naucznyje Zapiski Cukrowej Promyslnosti 9: 1—26, Chem. Abstr. 2597 (1933).
- Własiuk P. A., 1933, Chemical stimulation for increasing the yield of sugar beets, Naucznyje Zapiski Cukrowej Promyslnosti 10: 113—132 i 181—198, Chem. Abstr. 5873 (1933).