Wpływ CCC i gibereliny na zawartość związków azotu w liściach i łodygach fasoli

*The effect of CCC and gibberellic acid on the nitrogen compounds
content in the leaves and stems of the bean*

A. DMITRUK, L. KONOPSKA

WSTĘP

W 1960 roku poznano nowy regulator wzrostu roślin: chlorek 2-chloroetylotrójmetyloamoniowy znany także pod nazwą chlorku chlorocholiny — CCC (Tolbert 1960a, b).

W literaturze spotyka się nieliczne wzmianki dotyczące wpływu chlorku chlorocholiny na metabolizm związków azotu w roślinach. Linser i Kühn (1962) stwierdzili, że ilość białek w źdźbłach pszenicy jarej i żyta traktowanych CCC zwiększa się, zaś w nasionach tych roślin obniża się. Chlorek chlorocholiny wpływał na zwiększenie azotu ogólnego i białkowego w liściach słonecznika (Watson 1962, 1963). Intensywność pobierania związków azotu przez rośliny tytoniu hodowane w kulturach wodnych zawierających CCC o stężeniu $10^{-3}M$ nie ulega zwiększeniu, zmienia się jednak rozmieszczenie tych związków w poszczególnych organach; zwiększa się ich ilość w liściach, a obniża się w łodydze (Humphries 1963). Autor przypuszcza, że w liściach następuje wzrost zawartości białek pod wpływem chlorku chlorocholiny.

Odnosnie giberelin wiadomo, że przyspieszają one hydrolizę białek zapasowych i syntezę nowo powstających w kielkujących nasionach kukurydzy odmiany WIR-42 (Wywalko 1963). Pod wpływem gibereliny stwierdzono wzrost zawartości azotu ogólnego w liściach konopi (Jakuszkina i Czujkova 1963; Jakuszkina i Artiemo-wa 1963) i kukurydzy (Czujkova 1964). Gibereliny wpływały na zwiększenie azotu ogólnego w innych roślinach, np. w ziemniakach i pomidorach (Humphries i French 1961, Jansen 1964a). W badaniach Bireckiej i Żebrowskiej (1962) gibereliny nie spowodowały istotnych zmian w zawartości azotu ogólnego w roślinach lubinu żółtego i białego, jak również nie wykazały znacznego wpływu na zawartość azotu ogólnego w liściach koniczyny (Mosółow i Mosółowa 1959). Badania Janiszewskiego (1961) wskazują, że gibereliny wpłynęły na obniżenie azotu ogólnego w liściach i łodygach konopi, jak również na obniżenie zawartości azotu ogólnego i białkowego

w liściach kukurydzy (Mosółow i Mosółowa 1961; Mosółow i współ. 1963).

Przytoczone dane z literatury odnośnie wpływu giberelin na zawartość związków azotowych roślin wskazują na sprzeczności w uzyskanych wynikach (Jakuszkina i Czujkova 1963, Janiszewski 1961), dlatego też trudno wyrobić sobie jakiś ogólny pogląd na to zagadnienie (Jansen 1964a).

Celem niniejszej pracy było porównanie efektów działania chlorku chlorocholiny i gibereliny na zawartość związków azotu poszczególnych frakcji w liściach i łodygach fasoli odmiany Pinto.

OPIS METODYKI DOŚWIADCZEŃ

Badania przeprowadzono na 2-tygodniowych siewkach fasoli karłowatej (*Phaseolus vulgaris* L.) odmiany 'Pinto'. Do doświadczeń użyto; preparatu „Gibrescol“ otrzymanego z Kutnowskich Zakładów Farmaceutycznych (Polfa). Zawiera on 90% kwasu giberelinowego (GA_3), 5—7% stanowią pozostałe gibereliny, reszta substancje nieaktywne. Chlorek chlorocholiny (CCC) otrzymano od Dr E. C. Humphriesa*.

Do frakcjonowania związków azotu w badanym materiale zastosowano metodę Thimanna (1957, 1960). Analizę zawartości związków azotu poszczególnych frakcji przeprowadzono mikrometodą Kjeldahla opisaną przez Biełozierskiego i Proskuriakowa (1952), używając przy tym mieszaniny do spalań według Brzeskiego i Kaniugi (1957).

Do doświadczeń wybierano po 50 nasion fasoli o zbliżonej wielkości i barwie, co miało na celu uzyskanie możliwie jednorodnego materiału. Nasiona te moczo no 1 dobę w szalkach Petriego zawierających po 50 ml roztworów: chlorku chlorocholiny (CCC) o stężeniu $10^{-2}M$; gibereliny (GA_3) o stężeniu $5 \times 10^{-5}M$ oraz mieszaniny obu tych substancji (CCC+ GA_3), w której stężenie każdej z nich było jak wyżej. Kontrola zawierała wodę destylowaną. Doświadczenie przeprowadzono w ciemności przy temperaturze pokojowej. Następnie nasiona te wysiano do gleby ogrodowej na początku czerwca 1964 roku. Po upływie 2 tygodni zebrano oddzielnie blaszki liściowe i łodygi (I-sze międzywęźle) przeznacząc je do czterech równoległych oznaczeń z każdej kombinacji i wysuszono je w termostacie do stałej wagi. Następnie przeprowadzono frakcjonowanie i oznaczono zawartość związków azotu poszczególnych frakcji. Jednocześnie dla kontroli oznaczono w oddzielnych próbkach całkowitą zawartość azotu. Wyniki z trzech oznaczeń podano w tabelach.

* Preparat został zsyntetyzowany przez chemików z Rothamst. Exp. Stat. w czasie, gdy CCC nie był jeszcze otrzymywany na skalę handlową.

W celu przekonania się o istotności różnic otrzymanych wyników w zawartości związków azotu we frakcji kwasorozpuszczalnej i białkowej, w odniesieniu do kontroli, przeprowadzono analizę statystyczną posługując się metodą Fishera-„Studenta“ według Rokickiego (1961). Sprawdzian Studenta przy trzykrotnym powtórzeniu i współczynniku prawdopodobieństwa 0,05 wynosi 4,303. Dane liczbowe dotyczące sprawdzianu eksperymentalnego (t_e) zostały podane w tabelach obok wyników.

WYNIKI

Obserwacje morfologiczne 2-tygodniowych roślin fasoli wskazują, iż chlorek chlorocholiny hamował, a giberelina stymulowała ich wzrost w porównaniu z kontrolą. Po zastosowaniu mieszaniny obu tych substancji zaobserwowano dominujące działanie gibereliny w stosunku do chlorku chlorocholiny (pomiaru wzrostu roślin nie przeprowadzono).

Analiza poszczególnych frakcji związków azotu wykazała znaczne zwiększenie zawartości azotu we frakcji kwasorozpuszczalnej i białkowej w liściach roślin, których nasiona były traktowane chlorkiem chlorocholiny, gibereliną oraz ich mieszaniną (tabela 1). Wpływu natomiast tych substancji na zawartość kwasów nukleinowych w liściach i łodygach fasoli nie stwierdzono.

Tabela 1 - Table 1

Zawartość związków azotu poszczególnych frakcji w liściach fasoli odmiany 'Pinto'
Fractionation of nitrogen compounds in the leaves of bean var. 'Pinto'

Frakcje azotu Nitrogen fractions	N % suchej masy N % of dry matter						
	Kontrola Control	CCC $10^{-2}M$	t_e	GA ₃ $5 \times 10^{-3}M$	t_e	Mieszanina Mixture	t_e
Kwasorozpuszczalna Acid-soluble	0,85 0,83 0,84	1,08 1,07 1,06	28,53	1,09 1,08 1,07	24,44	1,18 1,19 1,17	32,18
Kwasy nukleinowe Nucleic acid	0,10 0,11 0,11	0,12 0,13 0,14		0,14 0,15 0,13		0,11 0,11 0,10	
Białka Proteins	3,30 3,20 3,30	3,63 3,62 3,61	8,86	3,62 3,60 3,61	8,62	3,76 3,73 3,75	11,45
Razem Total	4,25 4,14 4,25	4,83 4,82 4,81		4,85 4,83 4,81		5,05 5,03 5,02	

Tabela 2 - Table 2

Zawartość związków azotu poszczególnych frakcji w łodygach fasoli odmiany 'Pinto'
 Fractionation of nitrogen compounds in the stems of bean var. 'Pinto'

Frakcje azotu Nitrogen fractions	N % suchej masy N % of dry matter						
	Kontrola Control	CCC $10^{-2}M$	t_e	GA ₃ $5 \times 10^{-5}M$	t_e	Mieszanina Mixture	t_e
Kwasorozpuszczalna Acid-soluble	1,34 1,25 1,38	1,30 1,25 1,30	0,95	1,07 1,06 0,98	5,84	1,17 1,24 1,13	2,80
Kwasy nukleinowe Nucleic acid	0,06 0,07 0,07	0,06 0,08 0,07		0,09 0,09 0,08		0,10 0,10 0,11	
Białka Proteins	1,32 1,36 1,36	1,54 1,60 1,58	9,82	1,11 1,17 1,19	6,74	1,11 1,15 1,13	8,16
Razem Total	2,72 2,68 2,81	2,90 2,93 2,95		2,27 2,32 2,25		2,38 2,49 2,42	

Stwierdzono spadek zawartości azotu we frakcji kwasorozpuszczalnej i białkowej w łodygach stymulowanych gibereliną oraz nieznaczny przyrost białek w łodygach pod wpływem chlorku chlorocholiny. W przypadku zastosowania mieszaniny stwierdzono spadek azotu całkowitego, który jest wynikiem nieco mniejszej zawartości azotu białkowego (tabela 2).

DYSKUSJA

Przeprowadzone badania nasuwają wniosek, że zarówno chlorek chlorocholiny o stężeniu $10^{-2}M$ i giberelina o stężeniu $5 \times 10^{-5}M$ oraz ich mieszanina wpływają na intensywność przemian azotowych u fasoli odmiany 'Pinto'.

Chlorek chlorocholiny przyspiesza pobieranie przez fasolę związków azotu z gleby. Związki te przekazywane są głównie do liści, w których stwierdza się ich obecność w formie białkowej i niebiałkowej w większej ilości niż w kontroli. Dane te są zgodne z wynikami Humphriesa (1962) i Watsona (1962, 1963), którzy stwierdzili wzrost zawartości azotu ogólnego i białkowego w liściach tytoniu i słonecznika pod wpływem CCC. Autorzy ci przypuszczają, że CCC powoduje zwiększenie zawartości białek w liściach tych roślin. W związku z tym, że stwierdzono niewielki wzrost zawartości białek w łodygach fasoli, można przypuszczać, że CCC wpływa na przyspieszenie transportu związków azotu do liści. Wpływu CCC na syntezę kwasów nukleinowych nie stwierdzono.

Niniejsze badania wykazały również znaczny wzrost zawartości azotu frakcji kwasorozpuszczalnej i białkowej w liściach fasoli pod wpływem gibereliny, wzrost ten nastąpił kosztem związków azotu w łodygach, gdzie stwierdzono ich spadek we frakcji kwasorozpuszczalnej i białkowej. Wzrost zawartości białek pod wpływem gibereliny stwierdził także Wywalko (1963) oraz Biereznickaja i Lewieniec (1963) przeprowadzając badania części nadziemnych siewek kukurydzy odmiany WIR-42. Badania Janiszewskiego (1961) potwierdzają również przyrost azotu frakcji kwasorozpuszczalnej w liściach konopi. Szereg autorów wskazuje (Mosołow i Mosołowa 1959, 1961; Mosołow i współ. 1963; Denisowa i Łupinowicz 1961; Biereznickaja i Lewieniec 1963; Jansen 1964b), że pod wpływem gibereliny zwiększa się intensywność pobierania przez rośliny związków nieorganicznych z podłoża, w szczególności związków azotu i fosforu. Dotychczasowe dane odnoszące się do wpływu gibereliny na metabolizm przemian azotowych w roślinach przedstawiają się różnie, zależnie od gatunku i odmiany roślin oraz szeregu innych czynników (Wywalko 1963; Jensen 1964a).

Zastosowanie mieszaniny chlorku chlorocholiny i gibereliny o powyższych stężeniach wpływa na wzrost zawartości związków azotu frakcji kwasorozpuszczalnej i białkowej w liściach. Efekt jest analogiczny jak w przypadku zastosowania tych regulatorów wzrostu oddzielnie, lecz nieco wyższy. Prócz tego obniżenie zawartości związków azotu w łodydze nie jest tutaj tak wyraźne jak w przypadku gibereliny.

Wyniki naszych badań nad wpływem chlorku chlorocholiny i gibereliny na zawartość związków azotu u fasoli sugerują, że chlorek chlorocholiny nie jest antagonistą gibereliny.

Pani Doc. Dr W. Maciejewskiej-Potapczykowej autorzy składają serdeczne podziękowanie za wiele krytycznych uwag w trakcie wykonywania niniejszej pracy.

STRESZCZENIE

Celem niniejszej pracy było przebadanie wpływu 24-godzinne moczenia nasion fasoli odmiany 'Pinto' w roztworach: CCC o stężeniu $10^{-3}M$, GA_3 o stężeniu $5 \times 10^{-5}M$ oraz mieszaniny tych substancji o powyższych stężeniach na zawartość związków azotu poszczególnych frakcji w 2-tygodniowych siewkach otrzymanych z tych nasion. Stwierdzono stymulujący wpływ tych roztworów na zawartość azotu frakcji kwasorozpuszczalnej i białkowej w liściach. W łodygach natomiast stwierdzono obniżenie zawartości azotu frakcji kwasorozpuszczalnej i białkowej pod wpływem gibereliny. Pod wpływem chlorku chlorocholiny następuje nieznaczny przyrost białek. W przypadku zastosowania mieszaniny stwierdzono obniżenie poziomu azotu ogólnego w łodygach, co było wynikiem nieco mniejszej zawartości azotu białkowego. Doświadczenia te nie wykazały wpływu powyższych substancji na zawartość kwasów nukleinowych w liściach i łodygach fasoli.

SUMMARY

This paper deals with the influence of soaking of bean seeds var. Pinto in the following solutions: CCC in conc. $10^{-2}M$, GA_3 in $5 \times 10^{-3}M$ and in a mixture of the above mentioned substances on the nitrogen fractions content in 2 week-old seedlings obtained from these seeds. The stimulatory effect of these solutions on the acid soluble and protein fractions appeared in the leaves. In the stems, however, the decrease in the acid soluble and protein fractions was found to be induced by GA_3 . The effect of CCC on the protein fraction increase was insignificant. In the case of the application of the mixture the decrease in the total nitrogen level was connected with the decrease in the protein fraction. The substances employed in these experiments did not exert any influence on the nucleic acid content in the leaves and stems of the bean.

LITERATURA

- Białozierski A., Proskuriakow N., 1954, Ćwiczenia z biochemii roślin, PWRiL, Warszawa, 92—98.
- Biereznickaja N. I., Lewieniec P. P., 1963, Issledowanija po fizjologii i biochimii rastienij, Gosielchozizdat, USSR, Kijew, 123—128.
- Birecka H., Żebrowska J., 1962, Acta Soc. Bot. Pol., 31, 3:587—599.
- Brzeski W., Kaniuga Z., 1957, Ćwiczenia z biochemii roślin, PWN, Warszawa, 92.
- Czujkowska L. W., 1964, Regulatory rosta rastienij, Izd. Woroniežskiego Uniwersitetu, Woroniež, 61—70.
- Denisowa A. Z., Łupinowicz I. S., 1961, Fizjol. Rastienij, 8, 4:454—459.
- Humphries E. C., French S. A. W., 1961, Ann. Appl. Biol., 49:331—339.
- Humphries E. C., 1963, Ann. of Bot., 27, 107:517—532.
- Jakuszkina N. I., Artiemowa E. K., 1963, Gibberelliny i ich diejstwije na rastienija, Izd. Akad. Nauk SSSR, Moskwa, 121—126.
- Jakuszkina N. I., Czujkowska L. W., 1963, Izw. Woroniežskiego Otdiel. Wsiesoj. Bot. Obszczestwa, 79—85.
- Janiszewski F. W., 1961, Fizjol. Rastienij, 8, 6:658—662.
- Jansen H., 1964a, Naturwis., 51, 12:295.
- Jansen H., 1964b, Z. Pflanzenernähr., Düng., Bodenkunde, 105:27—37.
- Linser H., Kühn H., 1962, Z. Pflanzenernähr., Düng., Bodenkunde, 96:231—247.
- Mosołow I. W., Mosołowa L. W., 1959, Izw. Akad. Nauk SSSR, seria biol., 4:577—589.
- Mosołow I. W., Mosołowa L. W., 1961, Dokł. Akad. Nauk SSSR, 136, 2:487—489.
- Mosołow I. W., Mosołowa L. W., Łysenko W. F., 1963, Gibberelliny i ich diejstwije na rastienija, Izd. Akad. Nauk SSSR, Moskwa, 165—169.
- Rokickij P. F., 1961, Osnovy wariacionnoj statistiki dla biologow, Izd. Biełgos-universitetu, Mińsk.
- Thimann K. V., Loos G. M., 1957, Plant Physiol., 32, 4:274—279.
- Thimann K. V., Laloraya M. M., 1960, Physiologia Plantarum, 13:165—178.
- Tolbert N. E., 1960a, Jour. Biol. Chem., 235, 2:475—479.
- Tolbert N. E., 1960b, Plant Physiol., 35:380—385.
- Watson D. J., 1962, Rothamsted Report, 91.
- Watson D. J., 1963, Rothamsted Report, 88.
- Wywalko I. G., 1963, Dokł. Akad. Nauk SSSR, 149, 4:979—981.