Współdziałanie wolnych auksyn z kwasem askorbinowym i glutationem w procesie kiełkowania ziarn pszenicy

Cz. II. Wpływ kwasu 3-indoliloctowego, kwasu askorbinowego i glutationu na poziom tych związków w kiełkującym ziarnie

Interaction of free auxins with ascorbic acid and glutathione in the process of wheat grains germination

Part II. Influence of the 3-indolylacetic acid, ascorbic acid and glutathione on the content of these compounds in the germinating grains

H. SKRABKA

Wpływ fizjologicznie aktywnych związków egzogennych na poziom związków endogennych był wielokrotnie badany (Crocker i Barton (1953), Gukowa i Faustow (1961), Michniewicz i Stanisławski (1962), Mayer i Poljakoff-Mayber (1963)).

W 1939 roku Sugawara stwierdził, że stężenie kwasu askorbinowego w kiełkujących nasionach ryżu zwiększało się przez traktowanie syntetycznymi substancjami wzrostowymi. Sreenivasan i Wandrekar (1950) stwierdzili dodatni wpływ moczenia nasion przed kiełkowaniem w roztworach cytrynianu, bursztynianu, fumaranu i jabłczanu oraz tiaminy, ryboflawiny, kwasu nikotynowego i biotyny na powstawanie kwasu askorbinowego. Również niektóre aminokwasy, np. tryptofan, przyspieszały tworzenie się kwasu askorbinowego. Newcomb (1951) wykazał, że kwas 3-indoliloctowy w stężeniu 3,5 mg/l powoduje silny wzrost aktywności oksydazy askorbinowej w komórkach rdzenia tytoniu hodowanego sztucznie. Twierdził on, że oksydaza kwasu askorbinowego jest powiązana ze wzrostem komórki, a jej synteza czy aktywność jest kontrolowana głównie przez auksynę. Scheurmann (1952) wykazała, że utworzone pod wpływem kwasu 3-indoliloctowego zawiązki korzeni, rozwijają się w normalne korzenie u etiolowanych sadzonek fasoli, o ile podziela się na nie kwasem askorbinowym. Badała ona również działanie kwasu askorbinowego na wzrost koleoptile owsa. Sam kwas askorbinowy działał słabo, natomiast w różnych kombinacjach z kwasem 3-indoliloctowym powodował jego intensywniejszy wzrost. Michniewicz (1960) wykazał, że w ziarnach pszenicy moczonych

w kwasie 3-indoliloctowym zwiększa się znacznie zawartość kwasu askorbinowego w czasie kiełkowania.

Ale dane te z reguły dotyczą zawartości czy aktywności poszczególnych związków w nasionach o normalnej żywotności lub kiełkowanych w warunkach normalnych. W dotychczasowej literaturze brak jest bliższych danych dotyczących wpływu egzogennych związków na poziom lub aktywność endogennych w nasionach o zróżnicowanej żywotności i kiełkowanych w różnych warunkach.

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu egzogennych związków: kwasu 3-indoliloctowego, kwasu askorbinowego i glutationu na poziom tych samych związków endogennych w ziarnach o słabej żywotności oraz w ziarnach kiełkowanych w warunkach beztlenowych.

Dokładny opis materiału oraz metod, którymi się posłużono w tej pracy został zamieszczony w części I (Skrabka 1964).

BADANIA WŁASNE

Wolne auksyny

Badano zawartość wolnych auksyn w kiełkujących ziarnach pszenicy traktowanych kwasem askorbinowym i glutationem.

Doświadczenia przeprowadzono na materiale o zróżnicowanej żywotności:

- ziarna o normalnej żywotności kiełkowane w warunkach tlenowych,
- ziarna o normalnej żywotności kiełkowane w warunkach beztlenowych,
- ziarna o obniżonej żywotności kiełkowane w warunkach tlenowych.

Bliższe dane dotyczące materiału i metod oznaczania wolnych auksyn przedstawione są w części I (Skrabka 1964).

Odważoną próbkę ziarn pszenicy wyjaławiano powierzchniowo i po wypłukaniu wodą destylowaną moczo w odpowiednich roztworach przez 24 godziny w zlewkach 100 ml. Moczenie ziarn odbywało się w termostacie o temperaturze 22°C, w ciemności. Po 24 godzinach ziarna przepłukiwano wodą i wykładano do kiuwet porcelanowych na bibułę. Kiełkowanie prowadzono w tych samych warunkach jak moczenie. Ziarna kiełkowane w warunkach beztlenowych (b) wkładano po przepłukaniu do zlewek 100 ml wypełnionych wodą wodociągową świeżo przygotowaną i ostudzoną. Powierzchnię wody pokrywano kilkumilimetrową warstwą oleju parafinowego. Ziarna o obniżonej żywotności (c) należały do tej samej odmiany ('Komorowska') co ziarna zwane normalnymi (a), ale posiadały bardzo niską siłę kiełkowania wynoszącą około 15%. Pochodziły one ze zbioru 1953 roku. Czas kiełkowania liczono od chwili

namoczenia ziarn w odpowiednich roztworach. W doświadczeniach wstępnych dobrano odpowiednie stężenie roztworów. Kwas askorbinowy i glutation, wchodzące w skład mieszaniny, zastosowano w takim samym stężeniu jak przy roztworach pojedynczych. Wykiełkowane ziarna rozcierano w moździerzu, a następnie ekstrahowano wolne auksyny mrożonym etanolem i przenoszono do kostek agarowych. Stosowano test owsiany Wenta w modyfikacji Funkego. Zawartość wolnych auksyn w ziarnach badano w 2, 3, 4 i 5 dniu kiełkowania. Miarą zawartości był kąt wychylenia wyrażony w stopniach.

Wyniki, które są średnimi z 6 powtórzeń, przedstawiono na ryc. 1 A, B, C osobno dla każdego rodzaju ziarna. Również analizę zmienności przeprowadzono oddzielnie dla każdego rodzaju ziarn.

Przeprowadzona analiza zmienności dla ziarn normalnie kiełkowanych (a) wykazała istotne różnice w działaniu roztworów na poziom auksyn. Analiza ta nie wykazała natomiast istotnych różnic wpływu czasu na kiełkowanie i współdziałania czasu kiełkowania z roztworami.

Z wykresu na ryc. 1 A widać wyraźnie wzrost zawartości wolnych auksyn w ziarnach moczonych w mieszaninie glutationu z kwasem askorbinowym. Ilość auksyn w ziarnach moczonych oddzielnie w roztworze glutationu i oddzielnie w roztworze kwasu askorbinowego nie różniła się istotnie od kontroli.

Analiza zmienności dla ziarn kiełkowanych beztlenowo (b) wykazała istotne różnice dla wpływu roztworów na zawartość wolnych auksyn. Różnice dla czasu kiełkowania i współdziałania okazały się nieistotne. Zawartość wolnych auksyn w ziarnach pszenicy traktowanych mieszaniną kwasu askorbinowego i glutationu, a kiełkowanych beztlenowo, (ryc. 1B) była wyraźnie większa w porównaniu z kontrolą oraz z wariantami, w których działano tymi związkami oddzielnie. Nie stwierdzono wpływu czasu kiełkowania na zawartość wolnych auksyn.

Podobnie przedstawiają się wyniki dotyczące ziarn o osłabionej żywotności (c). Najwyższą zawartość wolnych auksyn wykryto w ziarnach moczonych w mieszaninie kwasu askorbinowego i glutationu, szczególnie w początkowym okresie kiełkowania (2—3 dzień). Później różnice zmniejszały się. Różnice we wpływie pozostałych roztworów (kwas askorbinowy i glutation stosowane oddzielnie) na zawartość wolnych auksyn były nieznaczne i statystycznie nieudowodnione.

Kwas askorbinowy

Badano zawartość kwasu askorbinowego w kiełkujących ziarnach pszenicy traktowanych kwasem 3-indoliloctowym, kwasem askorbinowym, glutationem i siarczanem miedzi w różnych kombinacjach. Użyto tego samego materiału i przeprowadzono kiełkowanie podobnie jak przy oznaczaniu wolnych auksyn.

Ryc. 1. Zmiany zawartości wolnych auksyn w kiełkujących ziarnach pszenicy moczonych w 0,01% roztworze kwasu askorbinowego i 0,001% roztworze glutationu: A — w normalnie kiełkujących; B — kiełkowanych beztlenuowo; C — w ziarnach o osłabionej żywotności.

1 — glutation; 2 — kwas askorbinowy; 3 — mieszanina kwasu askorbinowego i glutationu; 4 — woda

Changes in free auxins content in germinating wheat grains soaked in 0.01% ascorbic acid solution and 0.001% glutathione solution: A — in normally germinated grains; B — in anaerobically germinating grains; C — in grains with reduced viability.

1 — glutathione; 2 — ascorbic acid; 3 — mixture of ascorbic acid and glutathione; 4 — water.

Kwas askorbinowy oznaczano metodą Pijanowskiego, stosując 6% kwas metafosforowy dla stabilizacji oraz jako wskaźnik — 2,6-dwuchlorofenolindofenol. Zawartość kwasu askorbinowego badano w 2, 3, 4 i 5 dniu kiełkowania. Ponieważ ta zawartość rosła proporcjonalnie do czasu kiełkowania i różnice w zawartości kwasu askorbinowego pomiędzy ziarnami traktowanymi poszczególnymi związkami były jednakowe w każdym dniu, na wykresie przedstawiono wyniki tylko z 5 dnia kiełkowania. W doświadczeniach wstępnych ustalono stężenie i kombinacje poszczególnych roztworów, a ponieważ wyniki były zachęcające do dalszych badań, w doświadczeniach właściwych zastosowano większą ilość kombinacji. Wszystkie roztwory sporządzano na wodzie dwa razy destylowanej w szkle. Do każdego doświadczenia sporządzano zawsze świeże roztwory. Dla roztworów wieloskładnikowych sporządzano roztwory pojedynczych związków bardziej stężone, a następnie odpowiednio je rozcieńczano tak, że wszystkie roztwory były o jednakowym stężeniu danego związku.

Wyniki, które są średnimi z 5 powtórzeń, przedstawiono na ryc. 2A i B osobno dla ziarn normalnych (a) i osobno dla ziarn o słabej żywotności (c). Dla ziarn kiełkowanych beztlenowo (b) nie przedstawiono wykresu, ponieważ w żadnym wariancie tego doświadczenia nie wykryto (przy po-

Ryc. 2. Zawartość kwasu askorbinowego (w % mg) w 5 dniu kiełkowania ziarn pszenicy w zależności od rodzaju roztworu, w którym ziarna były moczone. A — w ziarnach normalnie kiełkujących; B — w ziarnach o osłabionej żywotności

1 — kwas 3-indolilooctowy; 2 — glutation; 3 — kwas askorbinowy; 4 — siarczan miedzi; 5 — glutation + kwas askorbinowy; 6 — kwas 3-indolilooctowy + glutation; 7 — kwas 3-indolilooctowy + kwas askorbinowy + glutation; 8 — kwas 3-indolilooctowy + kwas askorbinowy + glutation + siarczan miedzi; 9 — woda

Ascorbic acid content (mg %) on 5th day of germination of wheat grains in dependence on the kind of solution in which the grains were soaked: A — in normally germinating grains; B — in grains with reduced viability.

1 — 3-indolylacetic acid; 2 — glutathione; 3 — ascorbic acid; 4 — copper sulphate; 5 — glutathione + ascorbic acid; 6 — 3-indolylacetic acid + glutathione; 7 — 3-indolylacetic acid + ascorbic acid + glutathione; 8 — 3-indolylacetic acid + ascorbic acid + glutathione + copper sulphate; 9 — water.

mocy stosowanej metody) kwasu askorbinowego. Analiza zmienności, którą sporządzono osobno dla obu rodzajów nasion, wykazała istotne różnice we wpływie czasu kiełkowania, stosowanych roztworów, jak również współdziałania obu tych czynników na zawartość kwasu askorbinowego w obu doświadczeniach.

W ziarnach normalnych (a) stwierdzono pewien wzrost zawartości kwasu askorbinowego (w stosunku do kontroli) w ziarnach moczonych w roztworze kwasu 3-indoliloctowego (ryc. 2A, poz. 1) glutationu (poz. 2) i w roztworze zawierającym mieszaninę wszystkich czterech składników razem (poz. 8). Nieznaczny wzrost zawartości kwasu askorbinowego stwierdzono w ziarnach moczonych w roztworze będącym mieszaniną kwasu askorbinowego z glutationem i kwasem 3-indoliloctowym (poz. 7). U wszystkich ziarn normalnych (a) i ziarn o osłabionej żywotności (c), bez względu na rodzaj roztworu, stwierdzono wzrost zawartości kwasu askorbinowego z upływem czasu kiełkowania (od 2 do 5 dnia).

Ogólna ilość kwasu askorbinowego w ziarnach pszenicy o osłabionej żywotności (ryc. 2B) wynosiła kilkanaście procent w stosunku do ziarn o normalnej żywotności we wszystkich kombinacjach i była proporcjonalna do procentu kiełkujących ziarn.

Przyrost ilości kwasu askorbinowego w stosunku do kontroli w zależności od moczenia w poszczególnych roztworach był podobny jak w ziarnach normalnych (ryc. 2A i 2B). I tu również stwierdzono pewien, choć w ilościach bezwzględnych bardzo niewielki, wzrost kwasu askorbinowego w ziarnach moczonych w roztworze glutationu (ryc. 2B, poz. 2), w mieszaninie wszystkich czterech składników razem (poz. 8), w mieszaninie kwasu 3-indoliloctowego, kwasu askorbinowego i glutationu (poz. 7) oraz w roztworze kwasu 3-indoliloctowego (poz. 1).

Glutation

Badano zawartość glutationu zredukowanego w kiełkujących ziarnach pszenicy o zróżnicowanej żywotności, traktowanych kwasem askorbinowym i kwasem 3-indoliloctowym.

Zastosowano ten sam materiał i podobnie jak w poprzednich doświadczeniach przeprowadzono kiełkowanie. W doświadczeniach wstępnych przeprowadzono badania nad obecnością glutationu utlenionego w ziarnach traktowanych wyżej wymienionymi związkami. W żadnym rodzaju badanych ziarn (od 2 do 5 dnia) nie wykryto glutationu utlenionego.

Oznaczanie glutationu utlenionego przeprowadzono metodą chromatograficzną, zaś zredukowanego metodą manometryczną według Woodwarda.

Ryc. 3. Zmiany zawartości glutationu zredukowanego (w μg na 1 g suchej masy) w kiełkujących ziarnach pszenicy moczonych w 0,01% roztworze kwasu askorbinowego i 0,005% roztworze kwasu 3-indoliloctowego. A — w ziarnach kiełkowanych normalnie; B — kiełkowanych beztlenowo; C — w ziarnach o osłabionej żywotności.

1 — kwas askorbinowy; 2 — kwas indoliloctowy; 3 — mieszanina kwasu askorbinowego i glutationu; 4 — woda

Changes in reduced glutathione content ($\mu\text{g/g}$ dry weight) of germinating wheat grains soaked in 0.01% ascorbic acid solution and 0.005% 3-indolylacetic acid solution: A — in grains germinating normally; B — in grains germinating anaerobically; C — in grains with reduced viability.

1 — ascorbic acid; 2 — 3-indolylacetic acid; 3 — mixture of ascorbic acid and 3-indolylacetic acid; 4 — water.

Wyniki, które są średnimi z 5 powtórzeń, przedstawiono w postaci wykresów na ryc. 3A dla ziarn normalnych, na ryc. 3B dla ziarn kiełkowanych beztlenowo i na ryc. 3C dla ziarn o osłabionej żywotności.

Analiza zmienności przeprowadzona dla ziarn normalnych (a) wyka-

zała istotne różnice we wpływie roztworów, czasu kiełkowania, jak również we współdziałaniu obu czynników na zawartość glutationu zredukowanego. W ziarnach normalnych (a) traktowanych kwasem askorbinowym stwierdzono wzrost zawartości glutationu w stosunku do kontroli, większy w pierwszym okresie kiełkowania (3 dzień), a nieco mniejszy w późniejszym (5 dzień). Również w ziarnach traktowanych mieszaniną kwasu askorbinowego i kwasu 3-indoliloctowego stwierdzono pewien wzrost ilości glutationu, w stosunku do kontroli. W tym wypadku widać, że kwas 3-indoliloctowy obniża stymulujący wpływ kwasu askorbinowego na poziom glutationu. Traktowanie ziarn samym kwasem 3-indoliloctowym nie wpływało w sposób istotny na poziom glutationu. We wszystkich ziarnach (niezależnie od rodzaju roztworu, w jakim były moczone) stwierdzono wzrost ogólnej ilości glutationu z upływem czasu kiełkowania.

Analiza zmienności przeprowadzona dla ziarn kiełkowanych w warunkach beztlenowych (b) wykazała różnice istotne dla działania roztworów i dla współdziałania roztworów z czasem, a nie istotne dla działania czasu na poziom glutationu. A więc zmiany w zawartości glutationu, zresztą niewielkie, były zależne od rodzaju roztworu, w jakim ziarno moczone, zaś nie zależało od czasu kiełkowania. Ogólna ilość glutationu w ziarnach kiełkowanych beztlenowo, a moczonych w poszczególnych roztworach, nie ulegała większym wahaniom z upływem czasu kiełkowania.

Analiza zmienności przeprowadzona dla ziarn o osłabionej żywotności (c) wykazała różnice istotne dla działania roztworów i czasu kiełkowania, a nieistotne dla współdziałania roztworów z czasem kiełkowania. Ogólna ilość glutationu była niższa o 30—50% w stosunku do ilości obecnej w ziarnach normalnych (a), ale wpływ poszczególnych roztworów był podobny. I tu najbardziej działał kwas askorbinowy, natomiast kwas 3-indoliloctowy nie wpływał w sposób istotny na poziom glutationu.

DYSKUSJA

W pierwszej części pracy (Skrabka 1964) zbadano dynamikę wolnych auksyn, kwasu askorbinowego i glutationu w kiełkujących ziarnach pszenicy o zróżnicowanej żywotności. W drugiej części zastosowano ten sam materiał, te same metody i ten sam sposób kiełkowania, aby wyniki były porównywalne.

Rozpatrując wpływ kwasu askorbinowego i glutationu na zawartość auksyn można stwierdzić zjawisko korzystnego łącznego działania tych związków. Roztwory tych związków stosowane oddzielnie nie dają podobnego efektu. Zjawisko to występuje we wszystkich trzech rodzajach

ziarn, a więc prawdopodobnie efekt jest niezależny od tlenu i czynników ograniczających kiełkowanie w ziarnach o osłabionej żywotności. Można by przypuszczać, że kwas askorbinowy i glutation wpływają na syntezę lub tylko uwalnianie (aktywację) z kompleksu białkowego auksyn, ewentualnie na inaktywację enzymów rozkładających auksyny. Nie jest wykluczone, że w poszczególnych kombinacjach działanie to jest różne.

Wpływ moczenia nasion w roztworach różnych substancji na zawartość kwasu askorbinowego był wielokrotnie badany (Sreenivasan i Wandrekar 1950; Michniewicz 1960). W większości prac uzyskano wyniki dodatniego działania między innymi i kwasu 3-indoliloctowego na poziom kwasu askorbinowego. Również w tej pracy wyniki te potwierdzają się. Ciekawie przedstawiają się wyniki z moczeniem w kwasie askorbinowym, w tym wypadku nie uzyskano żadnej wyżki kwasu askorbinowego. Prawdopodobnie kwas askorbinowy pobrany na początku kiełkowania został zużyty lub przetworzony. Zrozumiałe jest, że nie stwierdzono wyżki kwasu askorbinowego w ziarnach moczonych w CuSO_4 . Chodzi tu prawdopodobnie o aktywację oksydazy askorbinowej, w skład której wchodzi jony miedzi i tym samym zostaje przyspieszone utlenianie kwasu askorbinowego.

Trudniejszym problemem jest wytłumaczenie wyżki kwasu askorbinowego w ziarnach moczonych we wszystkich czterech preparatach. Kwas 3-indoliloctowy w roztworze pojedynczym działa korzystnie na poziom kwasu askorbinowego. Podobnie przedstawia się sprawa z glutationem. Ale oba związki razem działają słabiej. Natomiast, gdy do tych związków dodamy jeszcze kwas askorbinowy i CuSO_4 działanie jest równie dobre, jak przy pojedynczych roztworach.

Przy doborze składników, jak już wspomniano w pierwszej części, kierowano się faktem, że kwas askorbinowy, glutation i oksydaza kwasu askorbinowego (CuSO_4) tworzą pewien układ przenoszenia elektronów. Znając wpływ kwasu askorbinowego na kwas 3-indoliloctowy można było przypuszczać, że kwas askorbinowy zabezpieczony w całym układzie przez glutation będzie działał korzystniej wraz z tymi związkami niż sam. Prawdopodobnie chodzi tu o intensywniejsze procesy wzrostowe, których efektem jest wyżka poziomu kwasu askorbinowego.

Oczywiście na tej podstawie nie można wysuwać wniosków o mechanizmie ich działania na poziom kwasu askorbinowego. Należy jedynie wspomnieć, że w warunkach beztlenowych nie powstawał w żadnym wypadku kwas askorbinowy.

W wypadku ziarn o osłabionej żywotności wyniki są zbliżone do wyników uzyskanych przy ziarnach normalnych, ale niższe proporcjonalnie do procentu kiełkowania tych ziarn.

Dodatni wpływ egzogenego kwasu askorbinowego na poziom endogenego glutationu zredukowanego można tłumaczyć dwojako: albo kwas

askorbinowy pobudza kiełkujące ziarna do syntezy glutationu zredukowanego, albo zabezpiecza powstały glutation zredukowany przed utlenieniem czy rozkładem. Ta druga możliwość jest bardziej prawdopodobna ze względu na to, że kwas askorbinowy jest silnym reduktorem i zabezpiecza niektóre związki przed utlenieniem. Przykładem może być układ Mapsona-Goddarda, w którym bierze udział glutation i kwas askorbinowy (Mapson, Goddard 1951).

Rozpatrując ogólnie wpływ poszczególnych związków egzogennych na poziom endogennych należy stwierdzić, że ziarna normalne syntetyzowały więcej związków endogennych pod wpływem związków dostarczonych z zewnątrz. Brak tlenu w czasie kiełkowania ograniczał albo usuwał wpływ związków egzogennych. Działanie związków egzogennych na ziarna o osłabionej żywotności było wyraźnie mniejsze (kilkanaście procent w stosunku do ziarn normalnych), choć o podobnym charakterze jak działanie na ziarna o normalnej żywotności. Również rozpatrując działanie związków egzogennych w czasie kiełkowania stwierdzić można większy efekt zaraz po namoczeniu (2—3 dzień kiełkowania) niż w okresie późniejszym. Wyraźnie zaznaczyło to się przy badaniach endogennych auksyn i glutationu.

WNIOSKI

Badano wpływ egzogennych związków aktywnych fizjologicznie: kwasu 3-indolilooctowego, kwasu askorbinowego i glutationu na poziom tych samych związków endogennych. Badania przeprowadzono na kiełkujących ziarnach pszenicy (od 2 do 5 dnia kiełkowania) o zróżnicowanej żywotności: a) ziarna o normalnej żywotności kiełkowane w warunkach tlenowych, b) ziarna o normalnej żywotności kiełkowane w warunkach beztlenowych, c) ziarna o obniżonej żywotności kiełkowane w warunkach tlenowych. Zawartość endogennych związków badano w ziarnach pszenicy moczonych przez 24 godziny w odpowiednich związkach egzogennych, a następnie kiełkowanych w określony sposób. Dokładny opis stosowanych metod i materiałów zawarty jest w części pierwszej.

Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń można wysnuć następujące wnioski:

1. W ziarnach pszenicy kiełkowanej normalnie, kiełkowanej beztlenowo oraz w ziarnach o osłabionej żywotności moczenie przed kiełkowaniem w mieszaninie roztworu kwasu askorbinowego i glutationu wywoływało wzrost poziomu wolnych auksyn. Różnice w stosunku do kontroli były większe na początku badanego okresu (2—3 dzień kiełkowania) zmniejszały się w okresie późniejszym.

2. W ziarnach pszenicy normalnie kiełkowanej i w ziarnach o osłabionej żywotności moczonych przed kiełkowaniem w kwasie 3-indolilo-

octowym, glutationie — roztworach pojedynczych oraz w mieszaninie kwasu 3-indoliloctowego, kwasu askorbinowego, glutationu i CuSO_4 , zawartość kwasu askorbinowego wzrastała dość znacznie. W ziarnach kiełkowanych w warunkach beztlenowych, a traktowanych wyżej wspomnianymi związkami oraz w wodzie, nie stwierdzono obecności kwasu askorbinowego.

3. Stwierdzono wzrost zawartości glutationu zredukowanego w stosunku do kontroli o około 30% w początkowym okresie kiełkowania (2—3 dzień) w ziarnach o normalnej żywotności moczonych w kwasie askorbinowym. W następnym okresie kiełkowania (4—5 dzień) ogólna ilość glutationu wzrastała w tych ziarnach, ale różnice w stosunku do kontroli malały. Kwas 3-indoliloctowy obniżał stymulujący wpływ kwasu askorbinowego na poziom glutationu szczególnie w ziarnach o normalnej żywotności.

4. Wpływ związków dostarczonych z zewnątrz (egzogennych), szczególnie na poziom glutationu i kwasu askorbinowego, był najwyraźniejszy w ziarnach normalnych. Brak tlenu przy kiełkowaniu ograniczał lub nawet usuwał efekt działania związków egzogennych. Działanie związków egzogennych na poziom endogennych w ziarnach o osłabionej żywotności było mniejsze, choć podobne w swoim charakterze, jak w ziarnach normalnych.

*Katedra Fizjologii Roślin
Wyższej Szkoły Rolniczej
we Wrocławiu*

(Wpłynęło 9.2.1965 r.)

SUMMARY

The influence of the following exogenous physiologically active compounds, 3-indolylacetic acid, ascorbic acid and glutathione, on the content of the same substances in germinating grain was investigated. Wheat grains (from 2nd to 5th day of germination) of different viability were used for the experiments: a) grains with normal viability in aerobic conditions, b) grains with normal viability in anaerobic conditions, c) grains with reduced germination power in aerobic conditions. The content of endogenous compounds was studied in wheat grains soaked for 24 h in the respective substances and then germinated as mentioned above. A description in detail of the methods and materials used is given in Part I of this paper.

On the basis of the experiments carried out the following conclusions may be advanced:

1. In wheat grains germinating normally, anaerobically and those with reduced viability, soaking before germination in a mixture of ascorbic acid and glutathione solutions induced a rise of the free auxins level. The differences as compared to the controls were wider at the beginning of the experimental period (2nd—3rd day of germination) and diminished later.

2. In wheat grains germinating under normal conditions and those with reduced viability soaked before germination in 3-indolylacetic acid and glutathione solutions, respectively, or in a mixture of 3-indolylacetic acid, ascorbic acid,

glutathione and CuSO_4 , the ascorbic acid content increased quite considerably. No ascorbic acid was found in grains germinating under anaerobic conditions and pretreated as mentioned above or soaked in water.

3. A rise of the glutathione level, reduced as compared to that of the controls by about 30 percent in the initial germination period (2nd—3rd day), was observed in grains with normal viability soaked in ascorbic acid. In the subsequent stages of germination (4th—5th day) the total glutathione content in these grains increased but the differences in relation to controls diminished, 3-indolylacetic acid reduced the stimulating effect of ascorbic acid on the glutathione level, particularly in grains with normal viability.

4. The effect of exogenous compounds (supplied from outside) on the glutathione and ascorbic acid levels was most pronounced in normal grains. The absence of oxygen during germination restricted or even abolished the effect of the exogenous compounds. The influence of exogenous on the level of endogenous compounds in grains with depressed viability was weaker although similar in character to that in normal grains.

*Department of Plant Physiology,
College of Agriculture,
Wrocław*

LITERATURA

- Crocker W., Barton L. V., 1953, *Physiology of seeds* (tłumaczenie na jęz. ros. III Moskwa 1955).
- Gukowa M. M., Faustow W. W., 1961, *Dokł. T.S.Ch.A.* 70-A-5:37.
- Mapson L. W., Gooddard D. R., 1951, *Nature* 167:975.
- Mayer A. M., Poljakoff-Mayber A., 1963, *The germination of seeds*, Pergamon Press — Oxford.
- Michniewicz M., 1960, *Zesz. Nauk. UMK Toruń, Nauki Mat. Przyr.* 6:103.
- Michniewicz M., Stanisławski J., 1962, *Acta Agrobotanica* 11:167.
- Newcomb E. H., 1951, *Proc. Soc. Exper. Biol. a Med.* 76:504.
- Scheurmann R., 1952, *Planta* 40:265.
- Skrabka H., 1964, *Acta Soc. Bot. Polon.* 33(4):689.
- Sreenivasan A., Wandrekar S. D., 1950, *Proceedings of the Indian Academy of Sciences* 32:231.
- Sugawara T., 1939, *Jap. J. Bot.* 10:141.