Oznaczanie związków przechodzących do wody podczas pęcznienia nasion bobiku (*Vicia faba* L. *minor*) w warunkach beztlenowych

Determination of compounds passing into water during soaking of Vicia faba L. minor seeds in anaerobic conditions

H. MAZUROWA, R. W. SCHRAMM

Egzoosmotyczne wydzielanie związków przez rośliny do środowiska jest zjawiskiem od dawna znanym. Podobnie jak i w pobieraniu, główną rolę odgrywa tu system korzeniowy. W normalnych warunkach rośliny wydzielają przez korzenie szereg różnych związków: aminokwasy, cukry proste, dwucukry i oligosacharydy, kwasy uronowe, kwasy organiczne, fenole i fenolokwasy, ureidy i wolne jony (Lundegarth i Stenlid 1944; Stenlid 1949; Rovira 1959, 1962; Vancura 1964; Vancura i Hovadik 1965; Mac Rae i Castro 1967). Intensywność tych procesów zależy bardzo silnie od warunków. Nie sprzyjające lub nienormalne warunki: niedobór substancji odżywczych, niedostateczna aeracja, naruszenie bilansu termicznego lub świetlnego wzmagają wydzielanie pewnych związków przez rośliny (Rovira 1959). W szczególności silnie działają warunki beztlenowe, które powodują zwiększenie wydzielania aminokwasów, cukrów i kwasów organicznych (Griniewa 1961) oraz pojawienie się produktów glikolizy — etanolu (Griniewa 1963) i zawsze występującego w drobnych ilościach w wydzielinach korzeniowych kwasu mlekowego (Vancura i Hovadik 1965). Wydzielanie korzeniowe ma niekiedy wpływ na kiełkowanie nasion a produkty wydzielane przez kiełkujące nasiona silnie stymulują wzrost i aktywność mikroorganizmów (Verona 1963).

Znacznie słabiej zbadane jest wydzielanie związków przez pęczniejące nasiona. Verona (1963) badając wydzielanie nasion łubinu moczonych przez 48 godzin stwierdził, że nasiona świeże tracą w tym czasie około 10 mg/godz., nieco mniej w temperaturze 0°C niż w 26°C, natomiast nasiona stare tracą w 0°C ponad 50 mg/godz., a w 26°C aż 70 mg/godz. Amoros i Durand (1964) obserwowali duże różnice w wydzielaniu związków do wody przez nasiona różnych gatunków roślin motylkowych. Wszystkie wydzielają duże ilości aminokwasów (kilkanaście do dwu-

dziestu), allantoinę, pewne ilości kwasów organicznych, niektóre także kwas moczowy, ureazę itp.

Celem tej pracy było oznaczenie związków wydzielanych przez nasiona bobiku do wody oraz przebadanie wpływu przedłużającej się anaerobiozy na ilość wydzielanych związków i żywotność nasion.

MATERIAŁY I METODY

Materiał doświadczalny stanowiły nasiona bobiku, *Vicia faba* L. *minor*, odmiana nadwiślańska, ze zbioru w 1965 roku.

Nasiona poddawano sterylizacji powierzchniowej. W tym celu zalewano je etanolem absolutnym na okres 1 minuty, aby je pozbawić przylegającej warstewki powietrza. Następnie zalewano na 10 minut 0,2% roztworem sublimatu i po kilkakrotnym przepłukiwaniu sterylizowaną wodą desylowaną dawano po 50 g nasion do sterylnych słoików szklanych o pojemności 250 ml, które dopełniano wodą podwójnie destylowaną i gotowaną przez dwie godziny celem usunięcia tlenu. Słoiki szczelnie zamykano doszlifowanymi zatyczkami szklanymi i umieszczano w chłodni w temperaturze $+4^{\circ}\text{C}$ w celu zahamowania rozwoju mikroorganizmów, które mogłyby zakłócać obraz doświadczenia.

Próbki wody w ilości 100 ml pobierano do analizy po 12, 24, 48, 60, 72 i 84 godzinach anaerobiozy.

1. Oznaczanie żywotności nasion bobiku

Określano żywotność nasion przetrzymywanych w warunkach beztlenowych w czasie 12—84 godzin.

Siłę kiełkowania wyrażano w % nasion normalnie siewkowanych, w temperaturze $20\text{--}24^{\circ}\text{C}$, po 10 dniach. W tym celu wybrano 1400 nasion bobiku, z których 1200 przetrzymywano w wodzie, w warunkach beztlenowych, przez 12—84 godziny. Po upływie określonego czasu nasiona przeniesiono na szalki Petriego wyłożone wilgotną bibułą; uszkodzono okrywą nasienną, aby ułatwić wnikiwanie wody do nasion, i pozostawiono na 10 dni do kiełkowania.

Równocześnie założono hodowlę kontrolną z 200 nasion, które moczoło przez 4 godziny w celu spęcznienia, uszkodzono okrywą nasienną i wykładano na szalki, a po 10 dniach określano procent siewkowanych nasion.

Hodowlę prowadzono w ciemności, w warunkach sterylnych.

2. Chromatografia bibułowa

Oznaczenia aminokwasów, kwasów organicznych i cukrowców przeprowadzano drogą chromatografii bibułowej. Wzorcami tych związków

były preparaty firm — Sigma Chemical Company, E. Merck i Hoffman — La Roche.

a. Odsalanie próbek na wymiennikach jonowych.

Analizę chromatograficzną utrudniała obecność większych ilości soli mineralnych w badanym materiale. W celu ich usunięcia zastosowano wymiennicze jonowe. Do odsalania prób zawierających aminokwasy stosowano kationit Dowex 50×400 (200—400 mesh) w formie wodorowej. W tym celu 100 ml próby przepuszczano przez kolumnę o wymiarach 120×10 mm. Zaadsorbowane na kolumnie aminokwasy wymywano 1 n NH_4OH . Eluat odparowywano na łaźni wodnej w temperaturze 50°C , a pozostałość po rozpuszczeniu w 1 ml wody analizowano chromatograficznie. Próby do oznaczeń cukrowców odsalano przepuszczając przez kationit Dowex 50×400 w formie wodorowej i anionit Dowex 1×2 , 400 w formie octanowej.

Kwasy organiczne adsorbowano na silnym anionicie Dowex 1×2 , 400 w formie octanowej. Zatrzymane na kolumnie kwasy wymywano 2 n kwasem octowym, wyciek odparowywano na łaźni wodnej w temperaturze 50°C , podejmowano 1 ml wody i наносono na bibułę chromatograficzną.

b. Oznaczanie wolnych aminokwasów.

Rozdział wolnych aminokwasów przeprowadzano metodą chromatografii bibułowej, spływowej, jednokierunkowej. Stosowano bibułę Whatmana No. 3 o wymiarach 60×40 cm. Próbkę wzorców rozpuszczono w 0,1 n HCl; końcowe stężenie roztworów wzorcowych wynosiło 0,01 μmola w 1 μl . Na punkty startowe наносono po 40 μl badanych prób, pobieranych po 12, 24, 48, 60, 72 i 84 godzinach, oraz 0,1 μmola mieszaniny wzorcowej.

Chromatogramy rozwijano w układzie n-butanol: kwas octowy: woda 4 : 1 : 5 v/v stosując dwugodzinne kondycjonowanie bibuły, wywoływano 0,2% acetonowym roztworem ninhydryny i suszono na powietrzu, a także w suszarce w 40°C .

Cytrulinę wywoływano także 1% roztworem p-dwumetyloaminobenzaldehydu w 1 n HCl, z którym ten aminokwas daje intensywne żółte zabarwienie.

Plamy identyfikowano przez porównanie położenia nie znanych aminokwasów ze standardowymi, rozwijanymi równolegle.

c. Oznaczanie cukrowców

Cukrowce przechodzące do wody podczas pęcznienia nasion oznaczano w podobny sposób jak aminokwasy. Na punkty startowe наносono 100 μl ekstraktu i 30 μl 1% standardowych roztworów cukrów v/v. Chromatogramy rozwijano w układzie n-butanol: kwas octowy: woda, 4 : 1 : 1 v/v,

Tabela 1.— Table 1

Wolne aminokwasy, cukry i kwasy organiczne przechodzące z nasion bobiku do wody podczas 84 godzinnej anaerobiozy

Free amino acids, sugars and organic acids passing from *Vicia faba* seeds into water when subjected for 84 hrs to anaerobic conditions

Lp. No.	Związek Compound	Czas trwania anaerobiozy w godz. Duration of anaerobiosis, hrs					
		12	24	48	60	72	84
1.	związek nie oznaczony (x)—unidentified compound (x)	0	+	+	+	+	++
2.	cystyna cystine	0	0	0	śl. tr.	śl. tr.	+
3.	lizyna lysine	0	0	0	++	++	+++
4.	cytrulina citrulline	+	+	+	++	+++	+++
5.	asparagina asparagine	++	++	++	++	+++	++++
6.	arginina arginine	0	+	++	++	++	+++
7.	kwas asparaginowy, glicyna, seryna aspartic acids, glycine, serine	++	++	+++	+++	+++	++++
8.	kwas glutaminowy treanina glutamic acid, threonine	0	0	+	+	+	+++
9.	α -alanina α -alanine	+	+	++	+++	+++	++++
10.	prolina proline	0	0	+	++	++	+++
11.	kwas γ -aminomasłowy γ -butyric acid	śl. tr.	śl. tr.	++	++	++	+++
12.	walina valine	śl. tr.	śl. tr.	++	++	++	+++
13.	fenyloalanina phenylalanine	śl. tr.	śl. tr.	++	+++	+++	++++
14.	leucyna leucine	śl. tr.	śl. tr.	++	+++	+++	++++
1.	werbaskoza verbascose	+	+	+	++	+++	+++
2.	stachioza stachiose	+	+	++	++	+++	+++
3.	rafinoza raffinose	0	+	+	+	+	++

c.d. tabl. 1

Lp. No.	Związek Compound	Czas trwania anaerobiozy w godz. Duration of anaerobiosis, hr					
		12	24	48	60	72	84
4.	sacharoza saccharose	++	++	+++	+++	+++	++++
5.	glukoza glucose	++	++	+++	+++	++++	++++
6.	fruktoza fructose	+	+	++	++	++	+++
1.	kw. cytrynowy citric acid	0	+	+++	+++	++	++++
2.	kw. jabłkowy malic acid	0	+	++	++++	+++	++
3.	kw. bursztynowy succinic acid	0 0	+	+	++	++	+

Legenda:

śl. — ślady (tr — traces)

+ — mało (little)

++ — dość znaczna ilość (rather much)

+++ — dużo (much)

++++ — bardzo dużo (very much)

wywoływano alkoholowym roztworem p-aminofenolu zakwaszonego kwasem ortofosforowym i suszono w 80° C przez 10 minut.

d. Oznaczanie kwasów organicznych.

Analizę kwasów organicznych przeprowadzono stosując chromatografię występującą na bibule Whatmana No. 1. Na bibułę o wymiarach 25×30 cm nanoszono po 150 µl badanego wyciągu i 10 µl 1% roztworu standardowych kwasów. Do rozwijania chromatogramów używano alkalicznego rozpuszczalnika SchB₂, etanol—bufor amonowy 3:1 (Schramm 1960) bez kondycjonowania bibuły. Chromatogramy po rozwinięciu suszono w temperaturze pokojowej i wywoływano 0,04% zalkalizowanym roztworem purpury bromo-krezolowej w etanolu.

3. Oznaczanie azotu ogólnego

Oznaczanie przeprowadzono metodą Kjeldahla, destylując w aparacie Parnasa-Wagnera. Do analizy pobierano 2 ml z 200 ml wody, w której moczone 100 nasion przez 12—84 godzin.

W celu oznaczenia azotu białkowego stosowano następujące próby strącania białek: 1. alkoholem etylowym o stężeniu końcowym powyżej 70%, 2. kwasem tróchlorooctowym 8%, 3. przez ogrzewanie w 80°C przez 10 minut. We wszystkich trzech przypadkach próby wytrącenia białek dały wynik negatywny.

4. Badania wody, w której przetrzymywano nasiona bobiku przez 84 godziny, na obecność drobnoustrojów

Pożywkę do hodowli mikroorganizmów przygotowano gotując przez 30 minut 100 g drożdży w 1000 ml wody destylowanej. Na 1,5% roztwór agarowy tej pożywki na szalkach Petriego przenoszono po 2 ml wody, w której przetrzymywano nasiona przez 12, 48 i 84 godziny. Hodowlę prowadzono przez 10 dni na świetle i w ciemności, w temperaturze 20°C. W żadnym przypadku nie stwierdzono rozwoju mikroorganizmów na pożywkach.

WYNIKI DOŚWIADCZEŃ

Jakościowa analiza składu wolnych aminokwasów wydzielanych przez nasiona do wody w trakcie 84 godzinnej anaerobiozy wykazała obecność 14 plam aminokwasów na chromatogramach (ryc. 1). W poszczególnych, badanych fazach anaerobiozy istnieją wyraźne różnice zarówno w składzie jakościowym, jak i ilościowym. Po 12 i 24 godzinach dobrze widoczne są na chromatogramach 4 aminokwasy — asparagina z cytruliną, kwas

Ryc. 1. Chromatogram wolnych aminokwasów wydzielanych do wody przez nasiona bobiku podczas 84-godzinnej anaerobiozy.

Chromatogram of the free amino-acids from *V. faba minor* seeds passing into water when during 84 hrs of anaerobiosis

Ryc. 2. Chromatogram wolnych cukrów wydzielanych do wody przez nasiona bobiku podczas 84-godzinnej anaerobiozy.

Chromatogram of the free sugars from *V. faba minor* seeds passing into water during 84 hrs anaerobiosis

asparaginowy, α -alanina. Nie występuje natomiast cystyna, lizyna, arginina, kwas glutaminowy i prolina, które pojawiają się dopiero po 48 godzinach moczenia. Kwas γ -aminomasłowy, walina, fenyloalanina i leucyna występują w pierwszych dwóch dniach w ilościach śladowych. Również w ilościach śladowych występuje od początku związek nie zidentyfikowany, o niskim R_f , dający niebieskie zabarwienie z ninhydriną. Względna ocena ilościowa (tab. 1) wskazuje na stały wzrost ilości aminokwasów, począwszy od 12 aż do 84 godzin trwania doświadczenia.

Zidentyfikowano 6 cukrowców przechodzących do wody w ciągu 84 godzin moczenia nasion: werbaskozę, stachiozę, rafinozę, sacharozę, glukozę i fruktozę.

Jakościowy i ilościowy skład uwalnianych cukrów wykazuje podobną tendencję wzrostową jak w przypadku aminokwasów. Po 12 godzinach pęcznienia nasion przechodziła do wody sacharoza, glukoza, fruktoza oraz ślady werbaskozy i stachiozy (ryc. 2). Po 24 godzinach ilość glukozy i fruktozy pozostaje nie zmieniona, natomiast zwiększa się ilość sacharozy i pojawia się rafinoza. Począwszy od 48 godzin ilość glukozy i sacharozy gwałtownie wzrasta i jest największa po 84 godzinach, natomiast ilość werbaskozy, stachiozy i fruktozy wzrasta stopniowo. Ze wszystkich cukrów rafinoza występuje stale w ilości najmniejszej (tab. 1).

Ryc. 3. Chromatogram kwasów organicznych wydzielanych do wody przez nasiona bobiku podczas 84-godzinnej anaerobiozy.

Chromatogram of the organic acids from *V. faba minor* seeds passing into water during 84 hrs to anaerobiosis

Z kwasów organicznych nasiona wydzielają do wody — cytrynowy jabłkowy i bursztynowy, jednakże wszystkie pojawiają się dopiero po 24 godzinach anaerobiozy. Kwas bursztynowy występuje od 48 godzin w ilości mniejszej niż pozostałe dwa. Zmiany w ilości kwasu cytrynowego i jabłkowego w wodzie na przestrzeni 84 godzin przetrzymywania nasion w warunkach beztlenowych są stosunkowo małe i trudno określić wyraźną przewagę ilościową jednego kwasu nad drugim. Równocześnie po 48 godzinach pęcznienia nasion występuje pewna ilość substancji kwaśnych, dających na chromatogramach plamę o wysokim R_f , przypuszczal-

Ryc. 4. Zdolność kiełkowania nasion bobiku po 84-godzinny przetrzymywaniu w warunkach beztlenowych.

Germinations capability of *V. faba minor* seeds after 84 hrs anaerobiosis

nie są to kwasy nieorganiczne (ryc. 3). Obecność podobnych substancji kwaśnych stwierdzono w tkankach bobiku (Schramm i Piątkowska 1961).

Ilość azotu ogólnego wykazuje stałą tendencję zwykłą w miarę przedłużania okresu przebywania nasion w wodzie (ryc. 4). Wiąże się to przede wszystkim ze wzrostem ilości aminokwasów w badanym środowisku, a także na sumę oznaczonego azotu ogólnego może składać się azot pochodzący z niskocząsteczkowych peptydów, amoniaku — związku o dużej rozpuszczalności w wodzie — azot amonowy, allantoiny, ksantyny itp. związków.

Siłę kiełkowania nasion określano po przetrzymywaniu ich przez 4—84 godzin w warunkach beztlenowych (ryc. 4). Według tabeli norm wartości siewnej nasion kwalifikowanych siła kiełkowania zdrowych nasion bobiku wynosi ponad 90%. Stosunkowo niski procent skielkowanych nasion kontrolnych spowodowany był prawdopodobnie zbyt długim okresem przechowywania. Natomiast utrata żywotności nasion przy zahamowanym dostępie tlenu wiąże się zapewne z gromadzeniem się w tych warunkach pośrednich, toksycznych produktów oddychania śródcząsteczkowego, szczególnie CO_2 , a także etanolu i amoniaku.

DYSKUSJA WYNIKÓW

W warunkach niedoboru lub całkowitego braku tlenu niektóre organizmy roślinne pokrywają w pewnej części swoje zapotrzebowanie energetyczne energią uzyskiwaną z procesów dysymilacji beztlenowej.

Oddychanie beztlenowe, w przypadku większości roślin, stanowi zdolność przystosowawczą organizmu do przetrwania nie sprzyjających warunków, przy czym przedłużający się niedobór tlenu prowadzi zwykle do naruszenia bilansu energetycznego, zatrucia organizmu końcowymi metabolitami nienormalnego procesu i w konsekwencji do stopniowego obumierania tkanek. Niektóre jednak organizmy roślinne, nawet w warunkach słabego zaopatrzenia w tlen, zachowują zdolność do normalnego rozwoju. Obserwacje wykazały, że ryż rośnie zupełnie dobrze przy bardzo niskich stężeniach tlenu, wykorzystując znaczną ilość energii z procesów anaerobowych (van Raalte 1940, cyt. B. Huber, H. Ziegler 1960). Również oddychanie nasion znajdujących się w spoczynku ma częściowo charakter dysymilacji beztlenowej. W czasie pęcznienia nasion odbywają się w nich przede wszystkim procesy beztlenowe, trwające do momentu rozpoczęcia kiełkowania. Jednakże w atmosferze pozbawionej tlenu kiełkowanie większości nasion jest zahamowane.

Nasiona przeniesione do warunków anaerobowych zachowują przez pewien czas żywotność, jednak dłuższe przebywanie w tych warunkach

jest szkodliwe ze względu na szybsze zużywanie materiałów zapasowych, a także na skutek stopniowego zatrutowania organizmu produktami niepełnej dysymilacji. W momencie odpowiedniego nasycenia tkanek nasienia wodą natychmiast zostają uruchomione układy enzymatyczne i w tkankach rozpoczynają się najpierw reakcje hydrolityczne (proteoliza, lipoliza, polisacharoliza). Złożone związki organiczne ulegają rozbiciu na prostsze, łatwo przyswajalne przez zarodek. Dalszy prawidłowy metabolizm kiełkujących nasion wymaga włączenia procesów tlenowych.

Przeprowadzona ocena żywotności nasion bobiku wykazała, że 84-godzinne przebywanie w warunkach beztlenowych powoduje znaczne zmniejszenie ilości kiełkujących nasion, niemniej ponad 50% nasion (w stosunku do kontroli) zachowuje pełną zdolność do kiełkowania i dalszego rozwoju (ryc. 4). Skrócenie żywotności w tym przypadku może być związane z nagromadzeniem toksycznych produktów oddychania wytwarzanych przez nasiona. Być może nasiona umieszczone w wodzie na skutek ułatwionej dyfuzji wydzielają na zewnątrz takie substancje, jak alkohol etylowy, aldehyd octowy, kwas octowy i mlekowy, które w większych stężeniach są trujące dla tkanek, i fakt wydalania tych związków sprzyja przedłużaniu życia i kiełkowaniu nasion jeszcze po 84 godzinach anaerobiozy.

Rozkładowi białek w nasionach bobiku towarzyszy odpowiedni przyrost rozpuszczalnych produktów azotowych i do wody przechodzi szereg aminokwasów zarówno proteinogennych, jak i wolnych. Spośród amidów w wodzie oznaczono tylko asparaginę, związek bardzo ruchliwy i z łatwością dyfundujący przez ściany komórkowe, natomiast nie stwierdzono obecności glutaminy. Być może dlatego, że rośliny motylkowe produkują glutaminę w znacznie mniejszych ilościach niż asparaginę (Chibnall 1952).

Nasiona bobiku podczas pęcznienia wydzielają także dobrze rozpuszczalne cukry zapasowe — rafinozę i stachiozę, które są zużywane zwykle już w pierwszych dniach kiełkowania — a także związki będące głównymi formami transportowymi cukrowców, a więc sacharozę, i energetycznymi — fruktozę oraz szczególnie dużą ilość glukozy. Zawartość rozpuszczalnych cukrów w wodzie zwiększa się w miarę przedłużania warunków beztlenowych na skutek postępującej hydrolizy polisacharydów, między innymi hemiceluloz, które u roślin motylkowych występują w bardzo dużych ilościach rozpadających się na jednocukry.

Z przemianą cukrowców ściśle związana jest przemiana kwasów organicznych. Dopiero po 24 godzinach przetrzymywania nasion w wodzie pojawiają się trzy kwasy organiczne — cytrynowy, jabłkowy i bursztynowy. Dwa z tych kwasów, mianowicie cytrynowy i jabłkowy są bardzo rozpowszechnione w świecie roślinnym. W suchych nasionach bobiku i moczonych przez 24 godziny przeważa ilościowo kwas cytrynowy nad

jabłkowym (Schramm 1961). Nasiona przebywające w środowisku pozbawionym tlenu przez 84 godzin wydzielają mniej więcej jednakowe ilości obu kwasów i w mniejszym stężeniu kwas bursztynowy. Zmieniająca się przewaga kwasu cytrynowego nad jabłkowym (np. po 48 godz. więcej jest kwasu cytrynowego, po 64 godz. więcej kwasu jabłkowego i po 84 godz. znowu przeważa kwas cytrynowy) związana jest prawdopodobnie z faktem, że poszczególne kwasy organiczne mogą łatwo przechodzić jedne w drugie. Obecność kwasu bursztynowego w wodzie może być spowodowana tworzeniem się tego kwasu jako produktu ubocznego w procesie fermentacji.

Charakterystyczne są niewielkie zmiany w zawartości kwasów organicznych w ciągu 84 godzin anaerobiozy, podczas gdy ilość wydzielanych aminokwasów i cukrowców wyraźnie się zwiększa. W trakcie moczenia nasion można zaobserwować dwa zupełnie wyraźne okresy zmiany dyfuzji związków do wody: pierwszy występuje pomiędzy 24 a 48 godziną anaerobiozy, drugi między 72 a 84. Po 24 godzinach moczenia nasion w warunkach beztlenowych obserwujemy bardzo wyraźny wzrost w wydzielaniu badanych związków: wszystkich aminokwasów, cukrów, zwłaszcza glukozy i sacharozy, oraz kwasów organicznych, szczególnie cytrynowego.

Po 84 godzinach występuje drugi silny wzrost wydzielania aminokwasów. Wydzielanie cukrów zmienia się w tym czasie nieznacznie, następuje jedynie pewien wzrost wydzielania sacharozy i rafinozy, natomiast z kwasów organicznych maleje wyraźnie poziom kwasu jabłkowego i bursztynowego kosztem silnego przyrostu kwasu cytrynowego. Można przypuszczać, że w obu tych okresach następuje zmiana przepuszczalności błon komórkowych. Natomiast zdolność kiełkowania nasion bobiku zanurzonych w wodzie zmniejsza się z czasem zupełnie regularnie (fig. 4) nie wykazując żadnego skoku ani w 48, ani w 84 godzinie.

Równocześnie należy zaznaczyć, że ze względu na istniejące różnice odpornościowe, zmiany patologiczne w przypadku zarodków i liścieni mogą mieć różny charakter i nie wiadomo, czy rośliny rozwinięte z nasion, które jeszcze po 84 godzinach anaerobiozy normalnie kiełkowały, nie wykazywałyby w dalszym rozwoju anomalii.

Pęcznienie nasion niewątpliwie przyspiesza kiełkowanie, ale takie czynniki, jak długość okresu moczenia, ilość wody, przewietrzanie mają zasadniczy wpływ na dalszy rozwój siewki. Następstwem przedłużającej się anaerobiozy i pogorszenia wymiany gazowej jest uszkodzenie tkanek nasienia, a także zahamowanie tych procesów, których przebieg jest uzależniony od całości struktury organizmu.

Dyfuzja jest bardzo sprawnym środkiem transportu materii, ale równocześnie umożliwia uchodzenie różnych substancji z komórek do otoczenia, obniżając tym samym ich stężenie w komórce i powodując zabu-

zenia równowagi fizjologicznej. Powszechnie znany jest fakt, że uszkodzone komórki stają się łatwo przepuszczalne dla zawartych w nich substancji, które przechodzą do otaczającego środowiska, natomiast wymycie tych związków z normalnie funkcjonujących komórek jest dużo trudniejsze.

STRESZCZENIE

Oznaczano wolne aminokwasy, cukry i kwasy organiczne przechodzące do wody podczas przetrzymywania nasion bobiku *Vicia faba L. minor* w warunkach beztlenowych przez 12–84 godziny.

Identyfikację tych związków przeprowadzono metodą chromatografii bibułowej. W miarę przedłużania warunków beztlenowych ilość przechodzących z nasion do wody aminokwasów, cukrów i kwasów organicznych się zwiększa.

Oznaczono także w wodzie, w której pęczniały nasiona, azot ogólny metodą Parnasa-Wagnera. Ilość azotu ogólnego wykazuje stałą tendencję zwykłą w miarę przedłużania okresu przebywania nasion w wodzie.

Przechodzenie dużej ilości związków z nasion do wody jest prawdopodobnie związane ze zmianą przepuszczalności błon komórkowych i zakłóceniami metabolizmu spowodowanymi przedłużającymi się warunkami beztlenowymi.

Katedra Biochemii UAM
Poznań, ul. Stalingradzka 14.

(Wpłynęło dn. 19. 2. 1969 r.)

SUMMARY

Free amino acids, sugars and organic acids passing into water during soaking of *Vicia faba L. minor* seeds were determined under anaerobic conditions of 12–84 hrs duration.

The compounds were identified by paper chromatography. As the anaerobic conditions were prolonged, the amount of aminoacids, sugars and organic acids increased.

In the water in which the seeds were soaked total nitrogen was also determined by the method of Parnas and Wagner. The total nitrogen quantity shows a rising tendency as the time of soaking is prolonged.

The passage of large quantities of the above named compounds into water is probably associated with a change in the permeability of the cell walls and metabolism disturbances due to prolonged anaerobic conditions.

LITERATURA

- Amoros M., Durand G., 1964, Ann. de Inst. Pasteur 107 (3): 79–85.
Chibnall A. C., 1952, Metabolizm białka w roślinie, PWRiL, Warszawa.
Griniewa G. M., 1961, Fizjol. Rast. 8(6): 686–691.
Griniewa G. M., 1963, Fizjol. Rast. 10(147): 432–440.

- Grzesiuk St., Sójka E., 1961, Roczniki Nauk Roln. 83. A. (4): 735—770.
- Grzesiuk St., 1967, Fizjologia nasion, PWRiL, Warszawa.
- Huber B., Ziegler H., 1960, Atmung und Wasserhaushalt, Handbuch der Pflanzenphysiologie, W. Ruhland, Band 12: 150—169.
- Lundegarth H., Stenlid G., 1944, Ark. Bot. 31: 1—27.
- Mac Rae I. C., Castro T. F., 1967, Phyton 23(2): 95—100.
- Schramm R. W., 1960, Ch. Analit. 5: 1055.
- Schramm R. W., Piątkowska M., 1961, Acta Soc. Bot. Pol. 30(2): 381—389.
- Rovira A. D., 1959, Plant and Soil 11: 53.
- Rovira A. D., 1962, Soils and Fertil. 25: 167.
- Stenlid G., 1949, Physiol. Plant. 2: 350—355.
- Vancura V., 1964, Plant and Soil 21: 231.
- Vancura V., Hovadik A., 1965, Plant and Soil 22: (1721)—32.
- Verona O., 1963, Ann. Inst. Pasteur 105: 1.