

Jadwiga SZYNAL

Wpływ łącznego zastosowania etefonu (Flordimexu) i chlorku wapniowego na zawartość frakcji substancji pektynowych w siewkach pszenżyta (*Triticale*)

The Influence of Application of Etephon (Flordimex) and Calcium Chloride on the Content of Pectic Substances Fractions in Triticale Seedlings

Ważną grupę retardantów stanowią syntetyczne związki etylenogenne. Do substancji tego typu należy etefon (kwas 2-chloroetylofosfonowy). Działanie tego preparatu jest związane z jego rozkładem w roślinie do wolnego etylenu, który jako naturalny hormon rośliny steruje różnymi procesami fizjologicznymi. Jednym z ważniejszych efektów fizjologicznych jest redukcja wydłużania i związany z tym wzrost grubości łodyg, co jest szczególnie ważne w uprawie zbóż. Jak wiadomo etefon wywołuje znaczne skrócenie źdźbła żyta i jęczmienia, może być także skuteczny w uprawie niektórych odmian pszenżyta, nie wpływa natomiast retardacyjnie na pszenicę. Oprócz znanych efektów fizjologicznych preparaty etylenogenne wywołują określony wpływ na aktywność enzymów (6, 7, 8, 14), a także powodują zmiany w składzie chemicznym roślin poddanych ich działaniu (5, 9, 13, 17).

Spośród chemicznych składników roślin na uwagę zasługują substancje pektynowe. Związki te, jako główne składniki ścian komórkowych i blaszki środkowej mogą spełniać ważną rolę w procesach wzrostu komórek roślinnych, a ponadto w odporności roślin na czynniki mechaniczne, w tym również na wyleganie (1). W nielicznych tylko pracach badano wpływ preparatów etylenogennych, bądź też samego etylenu na zawartość substancji pektynowych w roślinach (10, 11, 12). Interesujący jest również fakt współdziałania etylenu z jonami dwuwartościowymi, które – jak wynika z literatury – pełnią również określoną rolę w procesach regulacji wzrostu roślin (2, 11). W naszych poprzednich badaniach z chlorkiem chlorocholiny (15, 16), stwierdziliśmy, że stosowanie tego preparatu łącznie z CaCl_2 zwiększa redukcję długości siewek pszenicy, a także podwyższa zawartość protopektyn związanych z kationami dwuwartościowymi (Ca, Mg). Dlatego też w niniejszej pracy przeprowadzono analogiczne badania na siewkach pszenżyta z Flordimexem (42% etefonu), wywołującym taki sam efekt fizjologiczny, celem podjęcia próby wyjaśnienia mechanizmu działania tych retardantów.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły liście 15- i 21-dniowych siewek pszenżyta ozimego odm. Grado traktowanych roztworami Flordimexu o różnych stężeniach, 10^{-2} M roztworem CaCl_2 oraz mieszaniną Flordimexu i CaCl_2 . Stosowany w doświadczeniu Flordimex f-my VEB Chemiekombinat Bitterfeld zawierał 42% etefonu (kwas 2-chloroetylofosfonowy). Doświadczenie założono w 3 powtórzeniach i prowadzono w kontrolowanych warunkach. Nasiona kielkowano w ciemności w temp. 26°C przez 24h, a następnie część z nich przenoszono do szalek Petriego zawierających pożywkę Knopa rozcieńczoną wodą dest. (1:1), a drugą partię umieszczono w szalkach zawierających takie same ilości pożywki Knopa oraz roztworu CaCl_2 o końcowym stężeniu 10^{-2} M. Nasiona inkubowano ponownie w ciemności przez 48 h w temp. 26°C . Po tym czasie rośliny pikowano do wazonów wypełnionych piaskiem kwarcowym (0,9 kg) zwilżonym wodą dest. Po przepikowaniu do wszystkich doniczek wprowadzono po 50 cm^3 pożywki Knopa. Rośliny hodowano w temp. $26^\circ \pm 2^\circ\text{C}$, przy RH 70% i fotoperiodzie 14h : 10h. Źródłem światła o natężeniu 6000 lx były lampy fluorescencyjne typu Cool White. Po 7 dniach wzrostu część roślin spryskiwano roztworem Flordimexu uzyskując następujące warianty doświadczenia: I – kontrola/bez Flordimexu i bez CaCl_2 ; II – 10^{-2} M CaCl_2 ; III – 0,02% roztwór Flordimexu; IV – 0,02% Flordimex + CaCl_2 ; V – 0,04% Flordimex; VI – 0,04% Flordimex + CaCl_2 ; VII – 0,05% Flordimex; VIII – 0,05% Flordimex + CaCl_2 ; IX – 0,1% Flordimex; X – 0,1% Flordimex + CaCl_2 ; XI – 0,2% Flordimex; XII – 0,2% Flordimex + CaCl_2 ; XIII – 0,4% Flordimex; XIV – 0,4% Flordimex + CaCl_2 . Do badań zbierano liście po 15 dniach wzrostu roślin ze wszystkich wariantów doświadczenia oraz po 21 dniach wzrostu tylko z wariantu I i II (próby odniesienia) oraz XI, XII, XIII i XIV, gdzie zaobserwowano wyraźny efekt retardacyjny po wstępnym przetestowaniu preparatu. Wiek roślin liczono od chwili pęczenia ziarniaków.

Bezpośrednio po zbiorze oznaczono świeżą i suchą masę oraz średnią długość liści. Materiał przeznaczony do analizy substancji pektynowych suszono w temp. 60°C , a następnie rozdrabniano w młynku elektrycznym. Zawartość pektyn rozpuszczalnych oraz frakcji protopektyn oznaczono metodą kolorymetryczną (3), z uwzględnieniem modyfikacji wprowadzonych w naszej wcześniejszej pracy (4). Metoda ta oparta jest na reakcji barwnej karbazolu z wolnymi grupami karboksylowymi kwasów uronowych w środowisku silnie kwaśnym.

Pektyny rozpuszczalne ekstrahowano wrzącą wodą dest., a protopektyny przy użyciu 0,02 M roztworu wersenianu disodowego (EDTA) o pH 5 i o pH 11. W czasie ekstrakcji materiału roślinnego za pomocą EDTA o pH 5 (frakcja I) zachodzi uwolnienie grup karboksylowych związanych z kationami dwuwartościowymi (Ca, Mg), zaś w środowisku alkalicznym (frakcja II) następuje ponadto proces demetylacji z całkowitym uwolnieniem grup karboksylowych protopektyn. Różnica w ilości frakcji II i I wskazuje zatem na zawartość protopektyn zmetylowanych, a stopień metylacji określa się stosunkiem zawartości protopektyn zmetylowanych do frakcji II protopektyn.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

W materiale pochodzącym ze wszystkich wariantów doświadczenia nie stwierdzono wyraźnych zmian świeżej masy i suchej masy w porównaniu z materiałem pochodzącym z obiektów kontrolnych (tab.1). Wykazano natomiast wyraźną redukcję długości liści po zastosowaniu samego Flordimexu, przy czym stopień skrócenia zależał od stężenia tego preparatu. Najwyższą redukcję długości zarówno liści roślin 15-, jak i 21-dniowych obserwowano po aplikacji 0,4% roztworem Flordimexu. Stosowanie samego CaCl_2 nie wywoływało efektów retardacyjnych, natomiast CaCl_2 i roztwór Flordimexu o niższych stężeniach (0,02% - 0,1%) powodowało skrócenie liści, ale w mniejszym stopniu niż po wprowadzeniu samego Flordimexu. Podobne wyniki uzyskano w naszych poprzednich badaniach nad wpływem łącznego stosowania CCC i chlorku wapniowego na siewki pszenicy (15). Nieco inaczej reagowały rośliny traktowane wyższymi stężeniami Flordimexu. Po aplikacji 0,2% i 0,4% roztworu tego preparatu w obecności CaCl_2 obserwowano

na ogół redukcję długości analizowanych liści zarówno w odniesieniu do prób kontrolnych, jak i traktowanych samym Flordimexem (bez względu na wiek siewek).

Tab. 1. Wpływ etefonu (Flordimexu) i CaCl_2 na świeżą i suchą masę oraz długość siewek pszenżyta odm. Grado.

The effect of etephon (Flordimex) and CaCl_2 on the fresh weight, dry weight and length of seedlings Triticale var. Grado

Wiek siewek	Wariant doświadczenia	Świeża masa w g	Sucha masa w %	Średnia długość siewek w cm	Redukcja długości w %
15-dniowe	Kontrola	19,26	9,06	20,47	0
	10^{-2}M CaCl_2	19,59	9,20	20,31	0
	0,02 % Flordimex	19,58	9,34	18,37	10,26
	0,02% Flordimex + CaCl_2	18,88	9,42	19,47	4,88
	0,04 % Flordimex	19,44	9,02	18,60	9,13
	0,04 % Flordimex + CaCl_2	19,44	9,22	19,87	2,93
	0,05 % Flordimex	19,83	9,14	18,02	12,07
	0,05 % Flordimex + CaCl_2	19,67	9,09	19,25	5,96
	0,1 % Flordimex	19,11	9,55	17,85	12,80
	0,1 % Flordimex + CaCl_2	19,44	9,19	18,15	11,33
	0,2 % Flordimex	20,47	8,99	17,70	13,53
	0,2 % Flordimex + CaCl_2	19,89	8,83	17,85	12,80
	0,4 % Flordimex	18,33	9,58	17,30	15,49
	0,4 % Flordimex + CaCl_2	18,50	8,96	16,80	17,93
21-dniowe	Kontrola	26,16	9,43	26,88	0
	10^{-2}M CaCl_2	25,16	10,03	27,65	0
	0,2 % Flordimex	23,83	9,70	19,40	27,83
	0,2 % Flordimex + CaCl_2	24,33	10,26	18,30	31,92
	0,4 % Flordimex	23,65	9,20	19,05	29,13
	0,4 % Flordimex + CaCl_2	24,00	8,97	18,00	33,04

Na podstawie danych zawartych w tab. 2 stwierdzono, że we wszystkich wariantach doświadczenia nie ulega zasadniczym zmianom zawartość pektyn rozpuszczalnych, frakcji II protopektyn jak też ogólna zawartość substancji pektynowych w analizowanym materiale. Wykazano natomiast wyraźny wpływ Flordimexu, CaCl_2 , a także ich łącznego stosowania na nagromadzenia się frakcji protopektyn związanych z kationami Ca i Mg (frakcja I), a także, ale w nieco mniejszym stopniu, na zawartość protopektyn zmetylowanych oraz stopnia metylacji tych związków. Zmiany te są w pewnej mierze uzależnione od stężenia Flordimexu oraz wieku analizowanych roślin.

Biorąc pod uwagę frakcję I protopektyn stwierdzono, że stosowane w doświadczeniu preparaty powodują wzrost zawartości tej frakcji. W obecności samego CaCl_2 podwyższa się poziom frakcji I protopektyn (o ok. 46%), ale tylko w liściach roślin 15-dniowych. Nagromadzenie się tej frakcji obserwuje się również po aplikacji samego Flordimexu, przy czym najwyraźniejszy efekt wywołują 0,2% i 0,4% roztwory tego preparatu. W tych wariantach doświadczenia w liściach roślin 15-dniowych zawartość protopektyn związanych z kationami Ca i Mg rośnie o ok. 2,5 razy; w liściach 21-dniowych, podobnie jak w przypadku stosowania samego CaCl_2 obserwowane zmiany nie są tak duże (wzrost o ok. 22%). Zawartość frakcji I protopektyn w liściach roślin traktowanych samym Flordimexem

Tab. 2. Zawartość frakcji substancji pektynowych w siewkach pszenżyta odm. Grado traktowanych etefonem (Flordimexem) i CaCl_2 (w % w suchej masie)
Content of pectic substances fractions in the seedlings of Triticale var. Grado from etephon (Flordimex) and CaCl_2 treated (in % in dry weight)

Wiek siewek	Wariant doświadczenia	Pektyny rozpuszczalne	Fracje protopektyn			Substancje pektynowe ogółem	Stopień metylacji protopektyn
			Frakcja I	Frakcja II	Protopektyny zmetylowane		
15-dniowe	Kontrola						
	10^{-2}M CaCl_2	0,68	0,24	1,85	1,61	2,53	0,87
	0,02 % Flordimex	0,67	0,35	1,76	1,41	2,43	0,80
	0,02% Flordimex + CaCl_2	0,65	0,35	1,85	1,50	2,50	0,81
	0,04 % Flordimex	0,59	0,36	1,91	1,55	2,50	0,81
	0,04 % Flordimex + CaCl_2	0,59	0,40	1,85	1,45	2,44	0,78
	0,05 % Flordimex	0,65	0,43	1,80	1,37	2,45	0,76
	0,05 % Flordimex + CaCl_2	0,65	0,42	1,97	1,55	2,62	0,79
	0,05 % Flordimex + CaCl_2	0,67	0,45	1,85	1,40	2,52	0,76
	0,1 % Flordimex	0,65	0,43	1,70	1,27	2,35	0,75
	0,1 % Flordimex + CaCl_2	0,55	0,55	1,91	1,36	2,46	0,71
	0,1 % Flordimex + CaCl_2	0,59	0,65	2,19	1,54	2,78	0,70
	0,2 % Flordimex	0,57	0,77	2,14	1,37	2,71	0,64
	0,2 % Flordimex + CaCl_2	0,64	0,68	1,96	1,28	2,60	0,65
	0,4 % Flordimex	0,54	0,80	1,96	1,16	2,50	0,59
21-dniowe	Kontrola	0,45	0,52	2,19	1,67	2,64	0,76
	10^{-2}M CaCl_2	0,44	0,54	1,91	1,37	2,35	0,72
	0,2 % Flordimex	0,55	0,62	2,25	1,63	2,80	0,72
	0,2 % Flordimex + CaCl_2	0,51	0,78	1,91	1,13	2,42	0,59
	0,4 % Flordimex	0,48	0,65	2,15	1,50	2,63	0,69
	0,4 % Flordimex + CaCl_2	0,47	0,82	2,08	1,26	2,55	0,60

jest wyższa zarówno w porównaniu z próbami kontrolnymi, jak też poddanymi działaniu CaCl_2 . Najwyraźniejszy jednak wzrost zawartości frakcji I protopektyn wykazano w tych wariantach doświadczenia, gdzie stosowano Flordimex w obecności CaCl_2 . W tym przypadku obserwowane zmiany dotyczą zarówno liści roślin 15-, jak i 21-dniowych i podobnie jak w pozostałych wariantach doświadczenia są wyraźnie zaznaczone przy wyższych stężeniach Flordimexu.

Wzrostowi zawartości frakcji I protopektyn w analizowanym materiale towarzyszy obniżenie poziomu protopektyn zmetylowanych oraz stopnia metylacji tych związków. Na ogół mniejsze zmiany obserwuje się po stosowaniu samego Flordimexu czy też samego CaCl_2 ; wyraźniejszy spadek zawartości protopektyn zmetylowanych oraz stopnia metylacji wykazano w tych próbach gdzie w obecności CaCl_2 wprowadzono wyższe stężenia retardanta.

Zmiany w zawartości substancji pektynowych pod wpływem etylenogennych regulatorów wzrostu roślin, czy też samego etylenu wykazywali też inni autorzy. Wg M o n d a l a (11) stosowanie etylenu na siewki grochu powodowało zahamowanie wzrostu z równoczesnym

podwyższeniem ogólnej zawartości substancji pektynowych w ścianach komórkowych tych roślin. Również M i k o s (10) wykazała, że po aplikacji Flordimexu T podwyższa się poziom substancji pektynowych i protopektyn w źdźbłach żyta. Uzyskane w tej pracy wyniki są w pewnej mierze zgodne z badaniami w/w autorów. Co prawda nie obserwuje się wyraźnych zmian w ogólnej zawartości substancji pektynowych w analizowanym materiale po stosowaniu etefonu, ale wzrasta znacząco zawartość protopektyn związanych z kationami dwuwartościowymi (frakcja I). Nagromadzenie się tej frakcji było wykazane również w naszych poprzednich badaniach nad wpływem CCC w analogicznym doświadczeniu na siewkach pszenicy (15, 16). Ponadto zarówno stosowanie CCC, jak i Flordimexu w obecności CaCl_2 stymulowało nagromadzenie się frakcji I protopektyn, a hamowało tworzenie się protopektyn zmetylowanych z równoczesnym obniżeniem stopnia metylacji protopektyn.

Uzyskane w obydwu doświadczeniach wyniki nasuwają przypuszczenie, że mechanizm działania zarówno etefonu, jak i CCC na metabolizm substancji pektynowych jest zbliżony. Związki te, jak się wydaje, obniżając stopień metylacji protopektyn aktywują jednocześnie włączanie jonów wapnia do uwolnionych grup karboksylowych. Efektem tego jest akumulacja frakcji protopektyn związanych z kationami dwuwartościowymi. Wzrost zawartości tej frakcji może być jedną z przyczyn retardacyjnego działania omawianych regulatorów, bowiem jak sugerują niektórzy autorzy (2) ta frakcja protopektyn zmniejsza plastyczność ścian komórkowych, co w konsekwencji prowadzi do zahamowania wzrostu roślin.

PIŚMIENNICTWO

1. B l a i m K.: Substancje pektynowe i ich znaczenie biologiczne. Post. Nauk Roln., 2, a, 81-90, 1968.
2. B l a i m K.: Rola wapnia w zjawiskach odpornościowych u roślin. Post. Nauk Roln., 6, b, 51-58, 1968.
3. B l a i m K., P r z e s z l a k o w s k a M.: Wyodrębnianie i oznaczanie substancji pektynowych w materiale roślinnym. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sec. AA, vol. 23, 1968, 257-263.
4. B l a i m K., S z y n a l J.: Wstępne badania nad pektynami liści niektórych roślin rodzaju *Nicotiana*. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sec. E, vol. 25, 1979, 213-220.
5. C a s t r o P., M a l a v o l t a E., O l i v e i r a G. D.: Effect of growth regulators on mineral nutrition of tomato. J. Plant Nutrit., 6/8, 1983, 717-724.
6. E a s t w e l l K. C., S p e n c e r M. S.: Effect of ethylene on the gibberelic acid - enhanced synthesis and release of amylase by isolated barley aleurone layers. Plant Physiol., 69, 1982, 1150-1154.
7. H e n r y E. W., R i c h a r d L. B.: A study of effects of applied ethephon on enzyme (polyphenol oxidase, peroxidase, catalase, ATP-ase) activity in tobacco (*Nicotiana tabacum*) apical tissue chloroplast. Z. Pflanzenphysiol., 92, 1979, 11-22.
8. K n y p l J. S.: O mechanizmie działania retardantów na wzrost i rozwój roślin. III. Aktywność enzymatyczna i skład chemiczny roślin poddanych działaniu retardantów wzrostu roślin. Post. Nauk Roln., 5, 1971, 43-60.
9. M a s h e v a L., M a s h e v V., K o l a r o v V.: The effect of the growth regulator Ethrel on the anatomic structure and chemical composition of shoots. Proc. IV Intern. Symp. Plant Growth Regulators, 1987, 494-500, Sofia.
10. M i k o s M.: Effect of Flordimex T and intensive nutrition on the content of skeletal substances in culms of rye. Proc. IV Intern. Symp. Plant Growth Regulators, 1987, 671-677, Sofia.
11. M o n d a l M. H.: Effect of gibberelic acid, calcium, kinetin and ethylene on growth and cell wall composition of pea epicotyls. Plant Physiol., 56, 1975, 622-625.
12. M o n d a l M. H., N a n c e J. F.: Effect of ethylene, kinetin and calcium on growth and wall composition of pea epicotyls. Plant Physiol., 51, 1975, 312-317.

13. Ogłezniewa W. W., Bierkutowa N. S.: Wlijanije retardantow na technologiczeskije kaczestwa ziarna ozimój pszenicy i rži. *Agrochimija*, 11, 1987, 104-109.
14. Pallas J. E., Kays S. J.: Inhibition of photosynthesis by ethylene - a stomatal effect. *Plant Physiol.*, 70, 1982, 598-601.
15. Szynal J.: Nakoplenije frakcji pektynowych wieszcziestw w siejancach ozimój pszenicy pod wlijanijem sowniestnogo primienienija chlōrida chlorcholina (CCC) i jonow kalcija. *Materiały XVI Sympozjum RWPG 11.3. "Mechanizm działania herbicydów i syntetycznych regulatorów wzrostu roślin"*, Poznań 1989.
16. Szynal J.: Issledowanije diejstwija chlōrida chlorcholina na metabolizm pektinowych wieszcziestw w siejancach pszenicy. *Agrochimija*, 9, 1990, 107-109.
17. Zając T.: Wpływ wybranych retardantów i nawożenia azotowego na plon i jakość ziarna żyta ozimego oraz zagęszczenie wsiewki koniczyny czerwonej. *Acta Agr. et Silv., ser. Agr.*, 26, 1987, 179-193.

SUMMARY

The studies investigated the influence of Flordimex concentrations (42% etephone), 10^{-2} M CaCl_2 and their joint application on the content of soluble pectins and fractions of protopectins in the leaves of 15 and 21 days old plants of winter tritcale, Grado variety. The plants came from a pot experiment carried out in controlled conditions.

The investigations did not find out any clear influence of Flordimex, CaCl_2 or Flordimex in the presence of CaCl_2 on the content of soluble pectins, fractions II protopectins or the total content of the pectin substances in the analyzed material. On the other hand, the studies showed an increase of the content of protopectins bound with divalent cations (fraction I) and decrease of the number of methylated protopectins and the degree of methylation of these compounds in the material coming from all the variants of the experiment. The clearest changes were observed in the leaves of plants treated with Flordimex and CaCl_2 jointly. They were to a certain degree dependent on the plant age and Flordimex concentration.