
ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE – SKŁODOWSKA
LUBLIN – POLONIA

VOL. VI

SECTIO EEE

1998

Katedra Fizjologii Roślin Wydziału Ogrodniczego A R w Lublinie

EDWARD BOROWSKI, ZBYSZEK K. BLAMOWSKI,
LIDIA KOZŁOWSKA

**Wzrost i fizjologiczne reakcje na chłód roślin papryki słodkiej
poddanych działaniu paklobutrazolu**

Growth and Physiological Reactions to Cold in Sweet Paprika Exposed to Paclobutrazol

Paklobutrazol (PBZ) blokuje syntezę endogennych giberelin w roślinach a tym samym zwiększa w nich stosunek ABA/GA₃ (Waldman i in. 1975, Wang i in. 1985). Wiadomo, iż egzogeny ABA zmniejsza wrażliwość roślin na chłód (Rikin i Richmond 1976, Rikin i in. 1979), należało więc oczekiwać zwiększenia ich odporności na ten stres pod wpływem paklobutrazolu. To przypuszczenie potwierdził Wang (1985) w doświadczeniach prowadzonych na siewkach cukinii i ogórków. Nasze wcześniejsze badania (Borowski i in. 1997) wykazały również, że paklobutrazol zmniejsza wrażliwość ogórków na okresowe działanie chłodu, między innymi poprzez stabilizujący wpływ na błony komórkowe i zmiany w gospodarce wodnej.

W niniejszej pracy podjęto próbę wyjaśnienia, jak paklobutrazol wpływa na wzrost, niektóre procesy metaboliczne i wymianę gazową roślin papryki oraz czy powodowane zmiany wpływają na odporność roślin na chłód.

MATERIAŁ I METODA

Rośliny papryki słodkiej odm. „Kujawianka” rosły w doniczkach wypełnionych 1 dm³ torfu i ziemi uniwersalnej (1:1). Doświadczenie prowadzono w komorze wegetacyjnej, w kontrolowanych warunkach otoczenia. Temperatura powietrza wynosiła 25/20°C (dzień/noc), wilgotność powietrza 70%, długość dnia 14 godzin, a gęstość strumienia fotonów PAR z lamp

fluorescencyjnych $190 \mu\text{mol}(\text{photon}) \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Paprykę w fazie 4 liści podlano roztworem paklobutrazolu (*Sandoz Crop Protection Corp.*) w dawce 0; 2; 5 lub $8 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ podłoża. Serie doświadczalne liczyły po 12 roślin. Po upływie 4 tygodni, na 6 roślinach z każdej kombinacji określono: wysokość roślin, powierzchnię liści, suchą masę organów oraz specyficzną masę liści (SLW). W liściach oznaczono: 1) zawartość chlorofilu a+b metodą Arnona (1949); 2) elektrolitów (L_K) wg Kościelniaka (1993); 3) aktywność reduktazy azotanowej wg Jaworskiego (1971); 4) zawartość cukrów łatwo hydrolizujących metodą Dubois'a (1956); 5) zawartość makroelementów: N — metodą Kjeldahla, P — metodą wanado-molibdenianową oraz K, Ca i Mg — przy użyciu spektrofotometru absorpcji atomowej.

Na pozostałych 6 roślinach z każdej kombinacji określano wpływ paklobutrazolu na ich wymianę gazową przed i po 24 godzinnym okresie przebywania roślin w warunkach chłodu. W tym celu, w godzinach rannych, określono względną turgorescencję (R_T) oraz, przy pomocy gazoanalizatora typu LCA-4 (*Analitical Development Co. LTD, England*), intensywność fotosyntezy netto (P_N), intensywność transpiracji (T_r) i przewodność szparkową dla pary wodnej (g_s). Pomiaru przeprowadzono na 6 liściu, w warunkach jakie utrzymywano w komorze wegetacyjnej. Pod koniec dnia rośliny umieszczono w ciemności w temperaturze $1 \pm 1^\circ\text{C}$ na okres 24 godzin. Po tym czasie przeniesiono je z powrotem do komory i po 5 godzinnej adaptacji oznaczono w tych samych liściach: względną turgorescencję (R_T) i wypływ elektrolitów z tkanek (E_L) wg metod podanych przez Kościelniaka (1993) oraz P_N , T_r i g_s . Rejestrację wymiany gazowej wykonano także po 10, 24, 30, 52 i 75 godzinach, aby stwierdzić po jakim czasie oba mierzone procesy osiągają poziom sprzed okresu chłodzenia.

WYNIKI

Z danych liczbowych zamieszczonych w tab. 1 wynika, iż paklobutrazol działa hamująco na proces wzrostu roślin papryki. Zarówno wysokość roślin, jak i powierzchnia liściowa a także masa poszczególnych organów była znacznie mniejsza w przypadku roślin traktowanych tym związkiem, niż roślin kontrolnych. Najniższe wartości oznaczanych parametrów zanotowano w przypadku dostarczenia roślinom PBZ w ilości $8 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ podłoża. Równocześnie widać, iż zmniejszeniu powierzchni asymilacyjnej towarzyszył wzrost grubości liści (SLW — tab.1) oraz zawartości w nich chlorofilu (tab. 2).

Paklobutrazol modyfikował także aktywność metaboliczną roślin. Stwierdzono mianowicie wyraźny wzrost zawartości elektrolitów w tkankach, a równocześnie spadek aktywności reduktazy azotanowej (tab. 2) pod wpływem zastosowanego preparatu. Równocześnie z tymi zmianami następował wzrost koncentracji N, K, Ca i Mg w liściach, przy czym w niewielkim stopniu uzależniony on był od użytego stężenia PBZ. Nie wykazano natomiast wpływu paklobutrazolu na zawartość fosforu. Retardant nie wpływał także w znaczący sposób na zawartość cukrów w blaszkach liściowych.

Tab. 1. Wpływ paklobutrazolu (PBZ) na wybrane parametry wzrostu roślin papryki.
Effect of paclobutrazol (PBZ) on selected parameters of paprika's growth

Dawka PBZ dose [mg · dm ⁻³]	Wysokość roślin Plant height [cm]	Powierzchnia liści Leaf area [dm ²]	SLW [mg · cm ⁻²]	Sucha masa [g] Dry weight of			
				Liści leaves	Łodyg stems	Korzeni roots	Razem totally
0	37,6	9,69	28,79	4,74	3,93	2,19	10,86
2	25,1	6,55	31,55	3,24	3,19	1,89	8,32
5	18,4	5,54	32,28	3,03	2,82	2,03	7,88
8	15,5	5,00	33,22	3,02	2,70	1,86	7,58
$\bar{x}$	24,15	6,70	31,46	3,51	3,16	1,99	8,66
NIR _{0,05}	5,01	0,77	3,22	-	-	-	2,21

Tab. 2. Zmiany w zawartości chlorofilu, cukrów, elektrolitów i makroelementów
oraz aktywności reduktazy azotanowej w liściach roślin papryki
poddanych działaniu paklobutrazolu

Changes in the content of chlorophyll, sugars, electrolytes and macro-elements as well as the activity of nitrate reductase in the leaves of paprika exposed to paclobutrazol

Dawka PBZ dose [mg · dm ⁻³]	Chlorofil a+b Chlorophyll [mg · dm ⁻²]	Cukry Sugars [mg · g ⁻¹ s.m.]	Elektrolity (L _K) Electrolytes [mS · cm ⁻¹]	% w suchej masie % in dry weight					Aktywność R _A Activity [μmol NO ₂ ⁻ · g ⁻¹ · h ⁻¹]
				N	P	K	Ca	Mg	
0	5,70	5,3	72,8	2,69	0,28	3,34	2,74	0,59	7,30
2	7,40	5,2	107,0	3,48	0,30	3,96	3,12	0,71	5,63
5	8,36	5,5	127,6	3,61	0,28	4,11	3,24	0,81	4,97
8	8,80	5,7	132,5	3,67	0,31	4,19	3,29	0,80	3,43

Wymiana gazowa roślin traktowanych różnymi dawkami paklobutrazolu również ulegała zmianom. Nie udowodniono statystycznie różnic w intensywności fotosyntezy netto roślin z badanych kombinacji, natomiast wykazano je w odniesieniu do natężenia procesu transpiracji (tab. 3). Bardzo duży spadek intensywności tego procesu, wywołany dostarczeniem roślinom PBZ, związany był ściśle ze zmniejszeniem przewodności szparkowej dla pary wodnej.

Okres chłodu lepiej przetrwały rośliny, które rosły w podłożu zawierającym PBZ niż rośliny kontrolne (tab. 4). Widać to wyraźnie w wartościach

Tab. 3. Wpływ paklobutrazolu i 24 h chłodzenia w temp. $1 \pm 1^\circ\text{C}$ na wymianę gazową roślin papryki ($*P_N$ — intensywność fotosyntezy netto [$\mu\text{mol}(\text{CO}_2) \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$]; T_r — intensywność transpiracji [$\text{mol}(\text{H}_2\text{O}) \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$]; g_s — przewodność szparkowa [$\text{mol}(\text{H}_2\text{O}) \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$])
 Effect of paclobutrazol and 24-hour cooling at the temperature of $1 \pm 1^\circ\text{C}$ on gas exchange of paprika plants ($*P_N$ — intensity of net photosynthesis [$\mu\text{mol}(\text{CO}_2) \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$]; T_r — intensity of transpiration [$\text{mol}(\text{H}_2\text{O}) \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$]; g_s — stomata conductance [$\text{mol}(\text{H}_2\text{O}) \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$])

Dawka PBZ PBZ dose [mg · dm ⁻³]	Mierzony parametr Measured parameter *	Rośliny nie chłodzone Plants not cooled	Czas od ustąpienia chłodu [h] Time after the cold [h]							
			5	10	24	30	52	75	ȳ	
0	P _N	4,84	0,48	0,49	1,75	1,79	2,70	3,71	1,82	
	T _r	2,45	0,26	0,12	0,51	0,58	0,46	1,74	0,61	
	g _s	0,32	0,01	0,01	0,03	0,03	0,03	0,10	0,04	
2	P _N	4,80	0,45	1,07	2,61	2,53	3,27	4,85	2,46	
	T _r	0,52	0,07	0,25	0,54	0,34	0,78	0,83	0,47	
	g _s	0,04	0,01	0,01	0,03	0,02	0,05	0,09	0,04	
5	P _N	4,70	0,65	1,09	1,41	2,46	3,38	5,55	2,42	
	T _r	0,89	0,26	0,20	0,42	0,42	0,60	1,35	0,54	
	g _s	0,06	0,01	0,01	0,02	0,03	0,04	0,10	0,04	
8	P _N	5,08	1,25	1,31	1,95	1,98	3,08	4,91	2,41	
	T _r	0,84	0,52	0,65	0,65	0,62	0,60	1,65	0,78	
	g _s	0,08	0,03	0,04	0,04	0,04	0,04	0,10	0,05	
x̄	P _N	4,86	0,71	0,99	1,93	2,19	3,11	4,76		
	T _r	1,18	0,28	0,31	0,53	0,49	0,61	1,39	-	
	g _s	0,13	0,02	0,02	0,03	0,03	0,04	0,10		

NIR _{0,05}	Kontrola Control		Rośliny chłodzone Plants cooled			
	P_N	T_r	g_s	P_N	T_r	g_s
Dla stężenia For concentrations	r.n. n.s.	0,20	0,02	0,15	0,04	0,01
Dla czasu For time	-	-	-	0,21	0,06	0,01
Dla interakcji For interaction	-	-	-	0,52	0,14	r.n. n.s.

Tab. 4. Wpływ paklobutrazolu na względną turgorescencję (RT) oraz wypływ elektrolitów (EL) z liści roślin papryki chłodzonych 24 godziny w temp. $1\pm 1^{\circ}\text{C}$ Effect of paclobutrazol on relative turgescence (RT) and the outflow of electrolytes (EL) from paprika leaves cooled at the temperature of $1\pm 1^{\circ}\text{C}$ for 24 hours

Dawka PBZ dose [mg · dm ⁻³]	Warunki vegetacji Vegetation conditions *	RT [%]	EL [%]
0	A	92,8	-
	B	86,8	30,9
	A	97,7	-
	B	93,7	23,2
5	A	97,5	-
	B	93,2	22,5
8	A	97,3	-
	B	92,7	22,0

*A — rośliny nie chłodzone, B — rośliny chłodzone

*A — plants not cooled, B — plants cooled

wskaźnika R_t określającego uwodnienie liści, jak i w stopniu uszkodzeń roślin mierzonym wypływem elektrolitów z tkanek (E_L). Podczas gdy w roślinach kontrolnych stres chłodu powodował spadek względnej turgorescencji komórek o 6 punktów procentowych, to w roślinach traktowanych PBZ tylko o ok. 4. Równocześnie należy zaznaczyć, że zarówno w roślinach nie chłodzonych, jak i poddanych stresowi PBZ przyczyniał się do zwiększenia turgoru komórek.

Po okresie chłodzenia w tkankach liści pojawiły się symptomy uszkodzenia błon komórkowych wyrażające się w postaci zwiększonych wartości wskaźnika E_L . Z liści roślin kontrolnych (0-PBZ), mimo niskiej zawartości w nich elektrolitów (L_K), stwierdzono wyciek elektrolitów w granicach 30%, podczas gdy u roślin traktowanych najwyższą dawką paklobutrazolu wskaźnik EL był o ok. 1/3 niższy aczkolwiek wartość L_K była ok. 2 razy większa (tab. 2, 4).

Wymiana gazowa roślin papryki po 24-godzinym okresie chłodzenia drastycznie malała (tab. 3). Minimalna przewodność szparkowa, którą stwierdzano po 5 i 10 godzinach od ustąpienia chłodu była bezpośrednią przyczyną ok. 10-krotnego spadku intensywności fotosyntezy i transpiracji,

w porównaniu do okresu poprzedzającego stres. Paklobutrazol, szczególnie w najwyższym stężeniu, łagodził ujemny wpływ obniżonej temperatury na natężenie mierzonych procesów. Rośliny z tej kombinacji już po 5 godzinach od ustąpienia stresu wykazywały trzykrotnie wyższą intensywność fotosyntezy i dwukrotnie wyższą intensywność transpiracji niż rośliny kontrolne. W kolejnych analizowanych okresach intensywność obu procesów w roślinach traktowanych paklobutrazolem wzrastała znacznie szybciej. W rezultacie rośliny ze wszystkich kombinacji, w których stosowano PBZ potrzebowały 75 godzin czasu, aby ich wymiana gazowa powróciła do poziomu, jaki notowano przed stresem. Po tym samym czasie fotosynteza netto roślin kontrolnych stanowiła ok. 75% a intensywność transpiracji ok. 70% wartości uzyskanych z pomiarów prowadzonych na roślinach nie chłodzonych.

DYSKUSJA

Paklobutrazol hamował procesy wzrostowe a także modyfikował metabolizm komórkowy i wymianę gazową roślin papryki. Pod wpływem tego związku zmieniał się pokrój roślin, malała ich powierzchnia asymilacyjna a także sucha masa poszczególnych organów. Zmianom tym towarzyszył wzrost grubości blaszek liściowych i wzrost koncentracji w nich chlorofilu oraz większości makroelementów (N, K, Ca i Mg). Zbliżone reakcje roślin traktowanych PBZ wcześniej obserwowano także u słonecznika (Wieland i Wample 1985), truskawki (Deyton i in. 1991) i pomidorów (Borkowski i Dobrzański 1992). PBZ, podobnie jak w przypadku ogórków (Borowski i in. 1997), modyfikował także wymianę gazową roślin papryki, co uwidaczniało się spadkiem intensywności transpiracji, wywołanym wzrostem oporności szparkowej dla pary wodnej. W efekcie mniejszych strat wody, uwodnienie komórek było znacznie większe niż w roślinach kontrolnych.

Wszystkie te zmiany pozwalały roślinom lepiej przetrwać 24-godzinny okres przetrzymywania ich w temp. $1 \pm 1^\circ\text{C}$, aczkolwiek wydaje się, iż nie one były podstawową przyczyną wzrostu odporności na chłód roślin traktowanych PBZ. Przypuszczalnie za taką należy uznać jego ochronne oddziaływanie na błony cytoplazmatyczne. Widocznym tego objawem był znacznie mniejszy wypływ elektrolitów z tkanek, jak również wyższe ich uwodnienie w porównaniu do roślin kontrolnych. Wiadomo, iż PBZ hamuje syntezę giberelin (Graebe 1982) i w efekcie wywołuje względny wzrost zawartości ABA w tkankach (Waldman i in. 1975). Z kolei zjawisko to powoduje zmiany

w składzie chemicznym i strukturze membran komórkowych (Willemot 1977, Wang i Baker 1979, Yoshida i Uemura 1989) prowadzące do zmniejszenia stopnia uszkodzeń błon, wywołanych obniżoną temperaturą. Większą stabilnością cytomembran może być także wyjaśniona dużo mniejsza wrażliwość procesu fotosyntezy na stres chłodu u roślin poddanych działaniu PBZ. Intensywność fotosyntezy netto mierzona u nich po 10 godzinach od ustąpienia chłodu była 2-3-krotnie wyższa, przy zbliżonym stopniu otwarcia szparek, niż w roślinach kontrolnych. Czas po jakim ten proces powrócił do poziomu sprzed stresu był także znacznie krótszy, gdy rośliny traktowano retardantem.

PIŚMIENNICTWO

- Arnon D. J., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol.* 24: 1-15.
- Borkowski J., Dobrzański A., 1992. The influence of paclobutrazol and other retardants on the growth and yield of tomato plants. XXII Int. Hort. Congress. Abstract of Contributed Papers, 2 Poster. abstr. no. 4263.
- Borowski E., Kozłowska L., Bładowski Z. K., 1997. Reakcja roślin ogórka traktowanych paklobutrazolem na okresowe działanie chłodu. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sec. EEE*, V: 201-209.
- Deyton D. E., Sams C. E., Cummins J. C., 1991. Strawberry growth and photosynthetic responses to paclobutrazol. *Hort. Science* 26: 1178-1180.
- Dubois M., Gills K. A., Hamilton J. K., Roberts P. A., Smith F., 1956. Colorimetric method of determination of sugars on related substances. *Ann. Chem.* 28,3, 380.
- Graebe J. E., 1982. Gibberellin biosynthesis in cell-free systems from higher plants. [in:] Wareing P.F., (ed.). *Plant Growth Substances*. Acad. Press, London, pp. 71-80.
- Kościelniak J., 1993. Wpływ następczy temperatur chłodowych w termoperiodyzmie dobowym na produktywność fotosyntetyczną kukurydzy (*Zea mays* L.). *Zesz. Nauk. AR w Krakowie. Rozpr. Hab.* Nr 174.
- Jaworski G. E., 1971. Nitrate reductase assay in intact plant tissues. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 43, 6: 1274-1279.
- Rikin A., Richmond A. E., 1976. Amelioration of chilling injuries in cucumber seedlings by abscisic acid. *Physiol. Plant.*, 38: 95-97.
- Rikin A., Atsmon D., Gitler C., 1979. Chilling injury in cotton (*Gossypium hirsutum* L.): Prevention by abscisic acid. *Plant Cell Physiol.* 20: 1537-1546.
- Waldman M., Rikin A., Dovrat A., Richmond A. E., 1975. Hormonal regulation of morphogenesis and cold-resistance. *J. Exp. Bot.*, 26: 853-859.
- Wang C. Y., 1985. Modification of chilling susceptibility in seedlings of cucumber and zucchini squash by the bioregulator paclobutrazol (PP 333). *Scientia Hort.*, 26: 293-298.

- Wang C. Y., Baker J. E., 1979. Effects of two free radical scavengers and intermittent warming of chilling injury and polar lipid composition of cucumber and sweet pepper fruits. *Plant Cell Physiol.*, 20: 243-251.
- Wieland W. F., Wample R. L., 1985. Root growth, water relations and mineral uptake of young „Delicious” apple trees treated with soil- and stem- applied paclobutrazol. *Scientia Hort.*, 26: 129-137.
- Willemot C., 1977. Simultaneous inhibition of linolenic acid synthesis in winter wheat roots and frost hardening by BASF 13-388, a derivative of pyridazinone. *Plant Physiol.*, 60: 1-4.
- Yoshida S., Uemura M., 1989. Alternations of plasma membranes related to cold acclimation of plants. In: Li P.H., ed. *Low temperature stress physiology in crops*. CRC Press. Pp. 41-51

SUMMARY

The studies conducted in controlled conditions examined the effect of paclobutrazol concentrations (0; 2; 4 and 8 mg · dm⁻³ of the subsoil) on sweet paprika plants and their resistance to cold. It was found out that this compound inhibited growth processes, increased the content of chlorophyll, electrolytes and the majority of macro-elements in leaf blades. Besides, it lowered the activity of nitrate reductase. In addition, it decreased stomata susceptance for water vapour, owing to which it reduced water losses and contributed to greater hydration of the cells. The plants treated with paclobutrazol sustained the 24-hour period of staying at the temperature of 1±10°C, since this compound prevented the damage of cytoplasmatic membranes. The protective effect of the retardant on cell membranes was shown in a greater cell turgor, in decreased flow of electrolytes, smaller drop of net photosynthesis and in a shorter period needed for reactivation of this process to the level recorded before the cold period.