

KAZIMIERZ KRAWIARZ

Zmiany zawartości cukrów w nasionach klonu zwyczajnego (*Acer platanoides* L.) podczas ustępowania spoczynku

Abstract

Krawiarz K. 1994. Changes in sugars level during after-ripening and germination of *Acer platanoides* L. seeds. *Arbor. Kórnickie* 39: 135:144.

Fruits of *Acer platanoides* L. collected from one tree near Kórnik, were predried to 10% of water and stored at -3°C . Germination of embryos and seeds with intact and injured testa were observed at 3°C (which leads to dormancy breaking) and at $+15^{\circ}\text{C}$ (which does not break seed dormancy).

The level of sugars in different parts of seeds: cotyledons, embryos axis and testa, was determined refractometrically. The major differentiation was observed in the testa. Water extracts from the dormant testa, containing 3 mM of sugars can inhibit germination of non dormant embryos or radish seeds. Isolated embryos from seeds stratified 3 weeks in 3 or 15°C , when the level of sugars in the cotyledons was lowermost, germinate 100%. The data obtained suggest that differences between seed dormancy, embryo dormancy and testa-imposed embryo dormancy are the consequence of major structural and chemical differences between the embryo, testa and seeds. The testa and its chemical substances must be a major factor in the regulation of seed dormancy.

Additional key words: *Acer platanoides*, cotyledons, embryos, testa, dormancy, germination, sugars.

Address: K. Krawiarz, Polish Academy of Sciences, Institute of Dendrology, 62-035 Kórnik, Poland.

Accepted for publication, February 1994.

WSTĘP

Zagadnienia dotyczące fizjologii spoczynku i kiełkowania nasion klonu zwyczajnego omówione szeroko w „Fizjologii i biochemii nasion” Bewleya i Blacka (1982) nie wspominają o roli cukrów w regulacji tych procesów. W badaniach nad wpływem glukozy na kiełkowanie nasion klonu srebrzystego (*Acer saccharinum* L.) stwierdzono, że glukoza może całkowicie hamować

kiełkowanie oraz wzrost korzenia zarodkowego tych nasion (Krawiarz 1988) i pod tym względem jest skuteczniejsza od kwasu abscyzynowego.

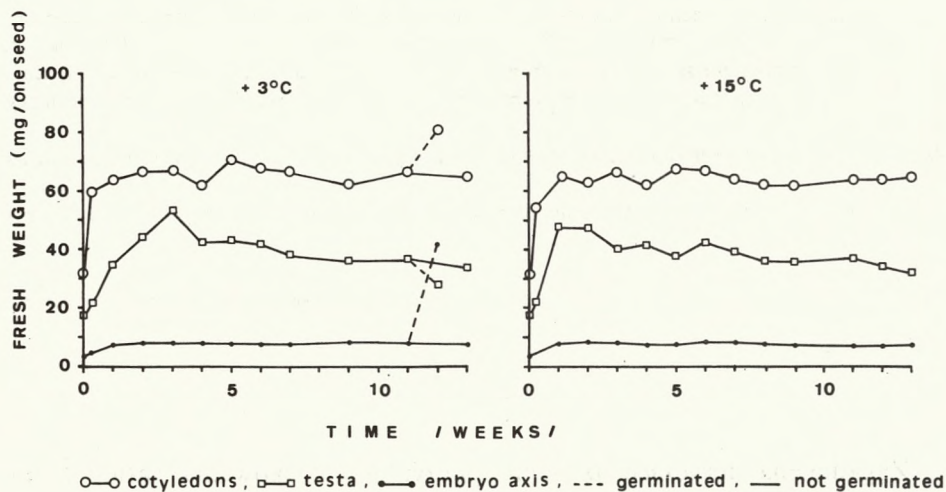
Celem niniejszych badań było określenie zawartości cukrów w poszczególnych częściach nasion klonu zwyczajnego (*Acer platanoides* L.) stratyfikowanych w $+3$ i $+15^{\circ}\text{C}$.

MATERIAŁ I METODY

Materiał roślinny

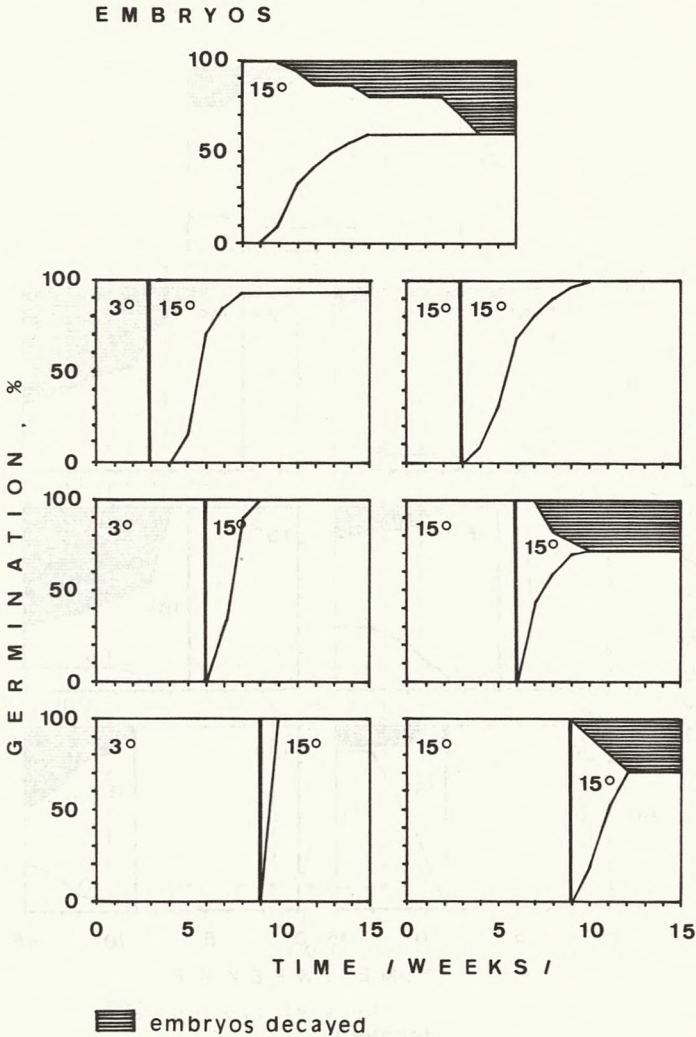
Nasiona klonu zwyczajnego (*Acer platanoides* L.) w stanie pełnej dojrzałości zebrano w Kórniku z jednego drzewa. Po ich wysuszeniu do wilgotności około 10% wody w świeżej masie, nasiona przechowywano w plastikowych workach w temperaturze -3°C . Stratyfikację nasion prowadzono metodą opracowaną przez Tylkowskiego (1989), w temperaturze $+3^{\circ}\text{C}$, w której ustępuje spoczynek lub w temperaturze $+15^{\circ}\text{C}$, w której nasiona nie kiełkują.

W czasie stratyfikacji, w odstępach tygodniowych kontrolowano zmiany zawartości wody w całych nasionach oraz w ich częściach (osie zarodkowe, liścieniowe i łupiny). Wyniki przedstawiono na ryc. 1.



Ryc. 1. Zmiany świeżej masy różnych części nasion klonu zwyczajnego (osi zarodkowych, liścieni i łupin), stratyfikowanych w $+3^{\circ}\text{C}$ lub $+15^{\circ}\text{C}$.

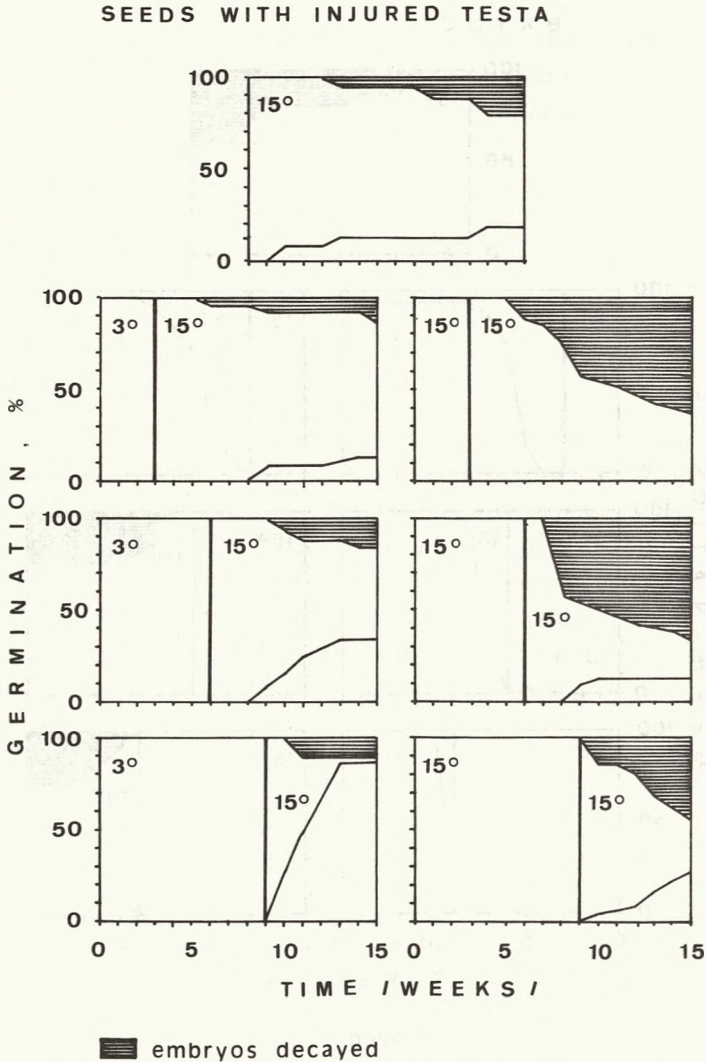
Fig. 1. Changes in fresh weight of different parts of *Acer platanoides* L. seeds (embryo axis, cotyledons and testa), stratified at $+3^{\circ}\text{C}$ or $+15^{\circ}\text{C}$.



Ryc. 2. Kiełkowanie zarodków ($+15^{\circ}\text{C}$) izolowanych z nasion klonu zwyczajnego stratyfikowanych w $+3^{\circ}\text{C}$ lub $+15^{\circ}\text{C}$ przez 3, 6 lub 9 tygodni.

Fig. 2 Germinative capacity of isolated embryos from *Acer platanoides* L. seeds, stratified at $+3^{\circ}\text{C}$ or $+15^{\circ}\text{C}$, during 3, 6 or 9 weeks.

Kiełkowanie nasion i wyjętych z łupin zarodków obserwowano na szalkach Petriego o średnicy 10 cm wyłożonych bibułą filtracyjną. Na szalce umieszczono po 25 sztuk zarodków, nasion z uszkodzoną łupiną lub nasion w całych, nieszkodzonych łupinach. Wyniki przedstawiono na ryc. 2, 3 i 4.

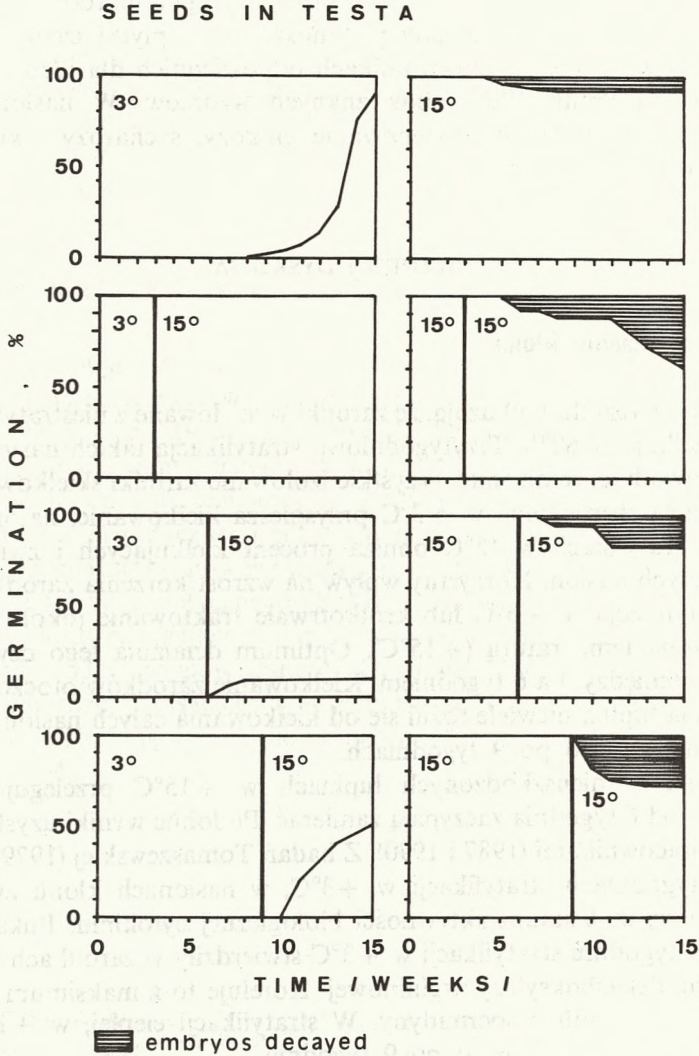


Ryc. 3. Kiełkowanie nasion klonu zwyczajnego z częściowo uszkodzoną łupiną, wyjętych z nasion stratyfikowanych w $+3^{\circ}\text{C}$ lub $+15^{\circ}\text{C}$ przez 3, 6 lub 9 tygodni.

Fig. 3. Germinative capacity of *Acer platanoides* L. seeds with partly injured testa, stratified at $+3^{\circ}\text{C}$ or $+15^{\circ}\text{C}$, during 3, 6 or 9 weeks.

Oznaczenie zawartości cukrów

Do ekstrakcji cukrów brano z mieszaniny stratyfikacyjnej 20 nasion. Dzielono je na liścienie, osie zarodkowe i łupiny i zalewano 20 ml wody destylowanej i gotowano w 100°C przez 20 minut. Po ostudzeniu wyciąg



Ryc. 4. Kiełkowanie nasion klonu zwyczajnego z nieuszkodzonymi łupinami, wyjętych ze skrzydełek stratyfikowanych w $+3^{\circ}\text{C}$ lub $+15^{\circ}\text{C}$ przez 3, 6 lub 9 tygodni.

Fig. 4. Germinative capacity of *Acer platanoides* L. seeds with intact testa, stratified at $+3^{\circ}\text{C}$ or $+15^{\circ}\text{C}$, during 3, 6 or 9 weeks.

zlewano i sączono przez bibułę. Cukry oznaczano refraktometrycznie. Z krzywej wzorcowej dla sacharozy odczytywano zawartość cukrów w wyciągach. Wszystkie oznaczenia wykonano w 3 niezależnych powtórzeniach, a uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej.

W celu identyfikacji cukrów, wyciąg wodny odbiałczano 96% etanolem,

w proporcji 1:1. Po przesączeniu przez bibułę wyciąg odparowywano do sucha i po rozpuszczeniu 50% etanolem наносono na płytki cienkowarstwowe. Wyciągi rozwijano w rozpuszczalnikach odpowiednich dla identyfikacji cukrów (Lewis i Smith 1969) obok znanych wzorców. W nasionach klonu zwyczajnego stwierdzono występowanie glukozy, sacharozy i kilkocukrów: rafinozy oraz stachiozy.

WYNIKI I Dyskusja

Kiełkowanie nasion klonu

Uzyskane rezultaty ukazują, że zarodki wyizolowane z niestratyfikowanych nasion kiełkują w 60%. Trzytygodniowa stratyfikacja takich nasion w $+3^{\circ}\text{C}$ i $+15^{\circ}$ powoduje, że niemal wszystkie izolowane zarodki skiełkowały (ryc. 2). Kontynuacja stratyfikacji w $+3^{\circ}\text{C}$ przyspiesza kiełkowanie, natomiast przedłużenie stratyfikacji w 15°C obniża procent kiełkujących i zwiększa ilość zamierających nasion. Korzystny wpływ na wzrost korzenia zarodkowego ma więc stratyfikacja w $+3^{\circ}\text{C}$ lub krótkotrwałe traktowanie (około 3 tygodni) podwyższoną temperaturą ($+15^{\circ}\text{C}$). Optimum działania tego czynnika rozciąga się pomiędzy 3 a 6 tygodniem. Kiełkowanie zarodków otoczonych nieco uszkodzoną łupiną niewiele różni się od kiełkowania całych nasion (ryc. 3 i 4); rozpoczyna się ono po 9 tygodniach.

Nasiona w nieuszkodzonych łupinach w $+15^{\circ}\text{C}$ przelegują, tzn. nie kiełkują, a od 6 tygodnia zaczynają zamierać. Podobne wyniki uzyskał Pinfield ze współpracownikami (1987 i 1990). Z badań Tomaszewskiej (1979) wiadomo, że po 5 tygodniach stratyfikacji w $+3^{\circ}\text{C}$, w nasionach klonu zwyczajnego obserwuje się maksimum aktywności biologicznej cytokinin. Pukacka i inne (1991) w 5 tygodniu stratyfikacji w $+3^{\circ}\text{C}$ stwierdziły w zarodkach maksimum aktywności dekarboksylazy argininowej. Koreluje to z maksimum zawartości poliamin a szczególnie spermidyny. W stratyfikacji cieplej, w $+15^{\circ}\text{C}$, maksimum to wystąpiło dopiero po 9 tygodniu.

Fakt hamującego działania łupin na kiełkowanie nie został dotąd wyjaśniony. Jedną z hipotez próbuje wyjaśnić to zjawisko obecnością związków fenolowych nie dopuszczających do zarodka tlenu, niezbędnego do przebiegu procesów wzrostowych (Côme 1968).

Wpływ wyciągów wodnych z łupin na wzrost osi zarodkowej nasion

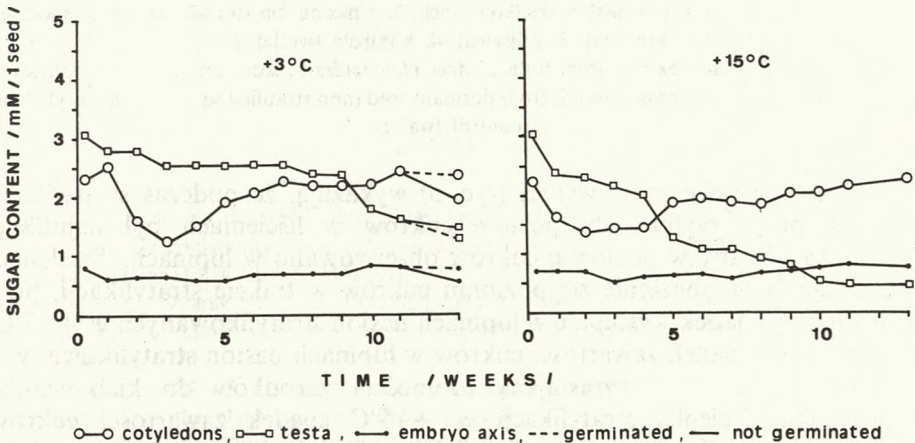
Wyciąg wodny z łupin spoczynkowych nasion klonu wykazuje różnicowany wpływ na kiełkowanie i wzrost osi zarodkowej izolowanych zarodków z niespoczynkowych nasion klonu lub nasion rzodkiewki, zastosowanych

porównawczo (ryc 7). Wyciąg z łupin nasion spoczynkowych hamuje wzrost kiełków zarodkowych klonu (ryc. 6). Występowanie inhibitorów w nasionach klonu i ich wpływ na kiełkowanie nasion było przedmiotem licznych badań (Enu-Kwesi i Dumbroff 1978, Tomaszewska 1979a). Jak dotąd udało się stwierdzić częściową korelację pomiędzy zawartością kwasu abscyzynowego a hamowaniem kiełkowania (Bewley i Black, 1982).

Zmiany zawartości cukrów w nasionach klonu zwyczajnego

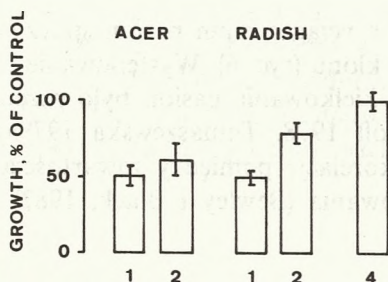
Cukry występujące w nasionach drzew spełniają głównie rolę materiału zapasowego, energetycznego i budulcowego. Mogą one również spełniać rolę regulacyjną (Fry i in., 1993). Ich zdolność do przekształcania się z form zapasowych, osmotycznie nieczynnych, w formy proste, aktywne metabolicznie predysponuje je do roli regulacyjnej. Zmiany poziomu cukrów powodują zmiany ciśnienia osmotycznego silnie działające na błony cytoplazmatyczne z czym muszą wiązać się procesy transportu, wzrostu i budowy rośliny, czyli realizacja programu genetycznego (Bewley i Black, 1982).

Nasiona klonu zwyczajnego *Acer platanoides* L. jako substancję zapasową gromadzą do 33% węglowodanów (Hegnauer 1964), przede wszystkim glukozę, sacharozę, trójsacharyd – neokestozę i jego izomer izokestozę. Powszechnie występującym (w ilości około 1%) jest cyklitol – quebrachit (Hegnauer 1964).



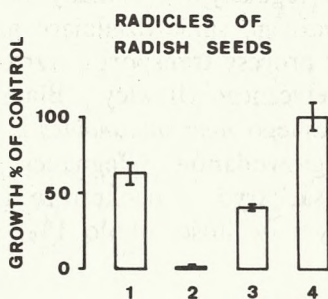
Ryc. 5. Zmiany zawartości cukrów w różnych częściach nasion klonu zwyczajnego stratyfikowanych w +3°C lub +15°C.

Fig. 5. Sugar content in *Acer platanoides* L. seeds stratified at +3°C or +15°C.



Ryc. 6. Wpływ wodnych wyciągów z łupin nasion klonu zwyczajnego na wzrost korzenia zarodkowego niespoczynkowych nasion klonu lub rzodkiewki: 1. nasiona nie stratyfikowane, 2. nasiona skiełkowane, 4. kontrola (woda).

Fig. 6. Influence of water extract from testa of *Acer platanoides* L. seeds on growth of radicles of non dormant maple or radish seeds: 1. from non stratified seed, 2. from germinated seed, 4. control (water).



Ryc. 7. Wpływ wyciągu wodnego z łupin nasion klonu zwyczajnego na wzrost korzenia zarodkowego rzodkiewki: 1. z nasion skiełkowanych, 2. z nasion nie stratyfikowanych (spoczynkowych), 3. z liścieni, 4. kontrola (woda).

Fig. 7. Influence of water extract from testa of *Acer platanoides* L. seeds on growth of radicles of radish seeds: 1. from germinated seed, 2. from dormant seed (non stratified seed), 3 from cotyledons, 4. control (water).

Uzyskane przeze mnie wyniki (ryc. 5) wykazują, że podczas stratyfikacji chłodnej, po 3 tygodniach, poziom cukrów w liścieniach był najniższy. Największe zmiany w poziomie cukrów obserwowano w łupinach. Tendencją tych zmian było obniżenie się poziomu cukrów w trakcie stratyfikacji, przy czym większy spadek występuje w łupinach nasion stratyfikowanych w $+15^{\circ}\text{C}$. Obserwowany spadek zawartości cukrów w łupinach nasion stratyfikowanych w $+3^{\circ}\text{C}$ koreluje ze wzrastającą zdolnością zarodków do kiełkowania. W warunkach ciepłej stratyfikacji w $+15^{\circ}\text{C}$ spadek zawartości cukrów w łupinach do połowy poziomu początkowego, zakończył się w 5 tygodniu stratyfikacji, gdy wszystkie zarodki były zdolne do kiełkowania. Podobny spadek zawartości cukrów w łupinach nasion stratyfikowanych w $+3^{\circ}\text{C}$ obserwuje się po 10 tygodniach.

WNIOSKI

1. Obecność okryw nasiennych (łupin i perikarpu) powoduje opóźnienie kiełkowanie zarodków. Wśród substancji obecnych w łupinach, mogących kontrolować kiełkowanie zarodków, są cukry (glukoza, sacharoza i rafinoza). W trakcie stratyfikacji nasion zarówno w $+3^{\circ}\text{C}$ jak i $+15^{\circ}\text{C}$, poziom cukrów w łupinach nasion spada. Kiełkują wyłącznie nasiona stratyfikowane w $+3^{\circ}\text{C}$. Kiełkowanie izolowanych zarodków z nasion stratyfikowanych w $+3^{\circ}\text{C}$ lub $+15^{\circ}\text{C}$ było podobne tylko na początku stratyfikacji. Na tej podstawie oraz na podstawie zmian w poziomie innych wskaźników metabolicznych możemy wyróżnić następującą kolejność ustępowania spoczynku nasion klonu: fazę pęcznienia (imbibicji), fazę ustępowania spoczynku zarodka (do 6 tygodnia), oraz fazę kiełkowania nasion.

2. Zmiany zawartości cukrów w nasionach klonu oraz hamowanie kiełkowania zarodków traktowanych wyciągami wodnymi z nasion wskazują, że cukry tam obecne mogą wpływać na regulację spoczynku i kiełkowania nasion.

STRESZCZENIE

Zawartość cukrów w poszczególnych częściach nasion (osiach zarodkowych, liścieniach i łupinach) klonu zwyczajnego (*Acer platanoides* L.) stratyfikowanych w $+3^{\circ}\text{C}$ oraz $+15^{\circ}\text{C}$ znacznie się różni. Największe zmiany obserwowano w łupinach nasion stratyfikowanych w $+15^{\circ}\text{C}$. Wyciągi wodne z łupin nasion spoczynkowych, zawierające około 3 mM cukrów hamują kiełkowanie nasion niespoczynkowych i wzrost korzenia zarodkowego tych nasion. Izolowane zarodki z nasion stratyfikowanych przez 3 tygodnie (w $+3^{\circ}\text{C}$ lub w $+15^{\circ}\text{C}$), kiełkują w 100% przy najniższym poziomie cukrów.

LITERATURA

- BEWLEY J. D., BLACK M. 1982. Physiology and Biochemistry of seeds. Springer Verlag.
- CÔME D. 1968. Permeability to oxygen and carbon dioxide of the integuments of different species. *Pepinieristes, Horticultures, Maraickers* 91: 5251-5252 i 5257-5260.
- ENU-KWESI L., DUMBROFF E. B. 1978. Changes in abscisic acid in the embryo and covering structures of *Acer saccharum* during stratification. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* B 86/4/371-377.
- FRY S. C., ALDINGTON S., HEITHERINGTON P. R., AITKEN J. 1993. Oligosaccharides as signals and substrates in the plant cell wall. *Plant. Physiol.* 103: 1-5.
- HEGNAUER R. 1964. Chemotaxonomie der pflanzen. *Acerace*. Birkhäuser Verlag. Basel und Stuttgart: 49-57.
- KRAWIARZ K. 1988. Inhibition of seed germination and radicle growth by glucose in silver maple (*Acer saccharinum*L.) seeds. *Arbor. Kórnickie T.* 33: 249-258.

- LEWIS B. A., SMITH F. 1969. Sugars and derivatives (in:) Stahl E. TLC, Chromatography. Springer Verlag: 807-837.
- PINFIELD N. J., STUTCHBURY P. A., BAZAID S. M. 1987. Seed dormancy in *Acer*: Is there a common mechanism for all *Acer* species and what part is played in it by abscisic acid? *Physiol. Plant.* 71: 365-371.
- PINFIELD N. J., STUTCHBURY P. A., BAZAID S. M., GWARAZIMBA V. E. E. 1990. Abscisic acid and the regulation of embryo dormancy in the genus *Acer*. *Tree Physiology* 6: 79-85.
- PUKACKA S., SZCZOTKA Z., ŻYMAŃCZYK M. 1991. Arginine decarboxylase, ornithine decarboxylase and polyamine under cold and warm stratification of Norway maple (*Acer platanoides* L.) seeds. *Acta Physiol. Plant.* Vol. 13 No. 4: 247-252.
- TOMASZEWSKA E. 1979. The effect of growth regulators on germination of Norway maple (*Acer platanoides* L.) seeds. *Arbor. Kórnickie T.* 24: 153-164.
- TOMASZEWSKA E. 1979a. Changes in the endogenous phytohormones in silver maple (*Acer saccharinum* L.) seeds and the effect of exogenous growth regulators on their germination. *Arbor. Kórnickie. R.* 24: 165-174.
- TYLKOWSKI T. 1989. Short-term storage of after-ripened seeds of *Acer platanoides* L. and *A. pseudoplatanus* L. *Arbor. Kórnickie T.* 34: 135-141.