

Z Katedry Fizjologii Roślin Wydziału Rolniczego WSR w Lublinie  
Kierownik: doc. dr Zofia Uziak

Eugeniusz GAWROŃSKI

**Wpływ kwasu huminowego (KH) na kiełkowanie światłoczułych  
nasion sałaty. Część IV. Porównanie aktywności fizjologicznej  
preparatów KH różnego pochodzenia z ich składem chemicznym**

Влияние гуминовой кислоты (ГК) на прорастание светочувствительных семян салата. Часть IV. Сравнение физиологической активности препаратов ГК разного происхождения с их химическим составом

The Influence of Humic Acid (HA) on Germination of Photosensitive Lettuce Seeds. Part IV. Comparison of a Physiological Activity of HA Preparations of Different Origin with Their Chemical Composition

WSTĘP

Zwiększenie aktywności fizjologicznej kwasów huminowych (KH) zależy od składu chemicznego, właściwości fizykochemicznych oraz zdolności do tworzenia połączeń kompleksowych z wieloma metalami (7, 14, 19, 20, 28, 34, 35, 37, 39). Według Scheffera i współautorów (34, 35) metale zmieniają właściwości fizykochemiczne KH i w związku z tym zmienia się ich aktywność fizjologiczna. Schnitzer i Poapst (37) wykazali, że aktywność fizjologiczna preparatów KH zależała od obecności grup funkcyjnych, głównie hydroksylowych. Blokowanie tych grup osłabiało zdolność inicjacji korzeni u siewek fasoli. Z badań Gumińskiego i współprac. (19, 20) wynika, że humiany stabilizują w podłożu i chronią aktywne fizjologicznie formy metali, głównie żelaza, czyniąc je dostępne roślinom. Jednakże dotychczas nie wyjaśniono dobrze, jakie komponenty KH i jakie metale, tworzące kompleksy, determinują aktywność fizjologiczną KH. Należy zatem oczekiwać, że dalszy postęp w tej dziedzinie badań dokona się z chwilą wyjaśnienia wielokierunkowego działania naturalnych preparatów KH rozmaitego pochodzenia na różne organizmy.

Głównym celem przeprowadzonych w niniejszej pracy doświadczeń było sprawdzenie, w jakim stopniu skład chemiczny, zawartość pierwiastków śladowych w preparatach KH różnego pochodzenia łączy się z ich aktywnością fizjologiczną, przejawiającą się w działaniu na kiełkowanie nasion nie indukowanych i indukowanych światłem czerwonym oraz wzrost siewek sałaty, wyrosniętych z tych nasion.

#### MATERIAŁ I METODY

Badane fotowrażliwe nasiona sałaty gruntowej (*Lactuca sativa* L., AS 44, par-tia 145) przechowywano stale w ciemnym naczyniu, w eksykatorze nad chlorkiem wapnia. Eksykator umieszczano w lodówce w temp. 3°C.

Kiełkowanie nasion i wzrost siewek sałaty odbywały się przy temp. 27°C w termostacie, na płytkach Petriego o średnicy 15 cm, wyścielonych dwiema warstwami bibuły Whatman 1, nasyconej odpowiednimi roztworami w ilości 10 cm<sup>3</sup>. Do każdej płytki na zwilżoną bibułę wysiewano 100 szt. nasion. Po 2 godz. od rozpoczęcia nasycania nasiona naświetlano czerwienią (R), 664 nm,  $2,3 \cdot 10^3$  erg/cm<sup>-2</sup> · s<sup>-1</sup> w ciągu 3 min. lub daleką czerwienią (FR), 725 nm,  $1,38 \cdot 10^3$  erg/cm<sup>-2</sup> · s<sup>-1</sup> w ciągu 6 min. Naświetlanie odbywało się przy temp. 22°C ( $\pm 0,5^\circ\text{C}$ ). W tej temperaturze nasiona przebywały 20 min. Po naświetleniu płytki z nasionami umieszczano powtórnie w termostacie. Światło otrzymywano z monochromatora wyposażonego w odpowiednie filtry interferencyjne (13). Próby nasion kontrolnych pozostawały w całkowitej ciemności. Na wstępie nasycania nasiona infiltrowano badanymi roztworami pod obniżonym ciśnieniem do 20 mm słupa Hg w ciągu 20 min. Dalsze nasycanie nasion, kiełkowanie i wzrost siewek odbywały się w całkowitej ciemności w termostacie w temp. 25°C. Procent skiełkowanych nasion liczono po 24 godz., zaś pomiary wzrostu siewek wykonano po 7 dniach od rozpoczęcia nasycania nasion.

Preparaty KH otrzymano metodą Kumada i Sato (27), oczyszczano je metodą Okuda i Hori (32), a następnie odmineralizowano na żywicach jonowymienych (8). Sposób podawania preparatów KH roślinom opisano w poprzedniej pracy (12). Osobno wykonano analizę elementarną i analizę spektralną metali związanych z KH (15). Ponadto wykonano spektralną analizę zmineralizowanych nasion, które poprzednio nasycano roztworami KH, roztworami składników popielnych otrzymanych z preparatów KH i roztworem EDTA z dodatkiem składników popielnych z KH. Formę żelaza zredukowano (Fe<sup>2+</sup>) oznaczano jakościowo  $\alpha, \alpha'$ -dwupirydylem. Żelazo utlenione (Fe<sup>3+</sup>) wykrywano żelazocjankiem potasowym i rodankiem amonu. Szybkość migracji i obecność form żelaza występującego w badanych roztworach, którymi nasycano nasiona, analizowano za pomocą wstępującej chromatografii bibułowej w układzie aceton : n-butanol : 2 N HCl (8:2:7), w temp. 20°C (1).

#### WYNIKI I DYSKUSJA

Chemiczna analiza elementarna i analiza spektralna wykazały, że preparaty KH nawet wobec 2-krotnego odmineralizowania na żywicach jonowymiennych zatrzymywały nadal składniki popielne, w których

Tab. 1. Analiza elementarna preparatów kwasu huminowego (KH)  
Chemical elementary analysis of humic acid (HA) preparations

Analizowany składnik Analyzed element	Zawartość — Content %	
	$KH_M^*$ — $HA_M$	$KH_3^{**}$ — $HA_3$
C	52,96 ± 0,092	47,00 ± 0,453
N	2,91 ± 0,040	4,83 ± 0,007
H	4,60 ± 0,431	4,89 ± 0,095
O ***	39,53	43,28
C:N	18,2	9,7
C:H	11,5	9,6
Popiół — Ash	0,38	0,53

\*  $KH_M$  — preparat handlowy kwasu huminowego (Huminsäure) Merck.

$HA_M$  — commercial humic acid preparations (Huminsäure) Merck.

\*\*  $KH_3$  — preparat kwasu huminowego z gleby rędziny trzeciorzędowej, poziom 5—15 cm.

$HA_3$  — humic acid preparations from rendzina Tertiary soil, depth 5—15 cm.

\*\*\* Zawartość tlenu wyliczono z różnicy.

Oxygen content was calculated from difference.

Tab. 2. Zawartość metali w preparatach kwasu huminowego (KH)  
różnego pochodzenia  
Metallic elements in humic acid (HA) preparations from different sources

Analizowany metal Metal analysed	Wartości względne zacernienia linii spektralnych Relative value of spectral line blackening	
	$KH_M$ — $HA_M$	$KH_3$ — $HA_3$
Al	90	208
Ti	0	36
Cu	255	263
Zn	106	136
Ni	65	88
Co	0	61
Mg	150	203
Mn	41	73
Sr	155	94
Fe	140	249
Ca	152	150
Mo	32	73

stwierdzono znaczne ilości 12 pierwiastków metali (tab. 1 i 2). Nie używano więc całkowitego odmineralizowania preparatów KH. Wyniki te potwierdzają poprzednie badania (12, 14) i są zgodne z danymi innych autorów (8, 12, 36). Warto dodać, że Burges (5) poddając 3-krotnej elektroforezie ciągłej roztwory KH, nie mógł uwolnić ich frakcji od składników popielnych, które pozostawały związane z KH w ilości ok. 1,5%. Zwraca uwagę fakt, że preparat  $KH_3$  w porównaniu z preparatem  $KH_M$  zawiera więcej N, H, O, składników popielnych i pierwiastków śladowych, charakteryzuje go niższa zawartość C oraz niższe wartości stosunków C : N i C : H. Różnice w zawartości pierwiastków metali należy tłumaczyć odmienną zdolnością do wiązania metali i tworzenia z nimi trwałych kompleksów, co dotyczy szczególnie połączenia KH z Cu. Świadczą o tym wysokie wartości tego metalu w obu analizowanych

Tab. 3. Kielkowanie nasion salaty infiltrowanych i nasączonych stosowanymi roztworami oraz poddanych działaniu światła czerwonego  
Germination of lettuce seeds infiltrated and soaked with solution and irradiated with red light

Roztwór * Solution *	Ciemność Darkness	Światło Light	Skiełkowane nasiona Germinated seeds %	
			Nie infiltrowane Noninfiltrated	Infiltrowane Infiltrated
Woda destylowana Distilled water	+	—	56,0±0,365	59,7±0,947
	—	+	68,7±0,919	89,5±0,619
Roztwór $KH_M$ $HA_M$ solution	+	—	74,8±0,401	79,2±0,401
	—	+	78,8±0,477	95,8±0,872
Roztwór popiołu preparatu $KH_M$ Ash solution of $HA_M$	+	—	57,2±0,141	60,5±0,237
	—	+	67,2±0,258	90,2±0,191
Roztwór $KH_3$ $HA_3$ solution	+	—	77,2±0,601	83,2±0,516
	—	+	80,8±0,816	96,0±1,460
Roztwór popiołu preparatu $KH_3$ Ash solution of $HA_3$	+	—	57,1±0,773	59,5±0,258
	—	+	69,2±0,872	89,8±0,402
EDTA	+	—	59,7±1,726	61,4±0,414
	—	+	69,2±0,214	92,2±0,732
EDTA + popiół preparatu $KH_3$ EDTA + solution of $HA_3$	+	—	62,4±1,182	62,1±0,078
	—	+	71,8±0,443	91,7±1,027

\* Stężenie KH i EDTA 0,1 mg/cm<sup>3</sup>. Składniki popielne podawano w ilości odpowiadającej dawce KH 0,1 mg/cm<sup>3</sup>.

\* Ash components were given in a dose HA — 0,1 mg/cm<sup>3</sup>.

preparatach KH. Fakt utrzymywania się stałych wartości Cu w preparatach KH różnego pochodzenia nie jest odosobniony. Podobne wyniki otrzymali Gliński i Turski (16). Stwierdzone różnice w składzie chemicznym preparatów KH sugerowały, że mogły one wykazywać niejednakową aktywność fizjologiczną.

**Kiełkowanie nasion** (tab. 3). Preparaty KH w większym stopniu stymulowały kiełkowanie nasion poddanych naświetlaniu czerwienią niż nasion pozostawionych na cały czas nasycania w ciemności. EDTA i składniki popielne nie wpływały w sposób tak wyraźny na kiełkowanie jak KH. Infiltracja nieznacznie wzmacniała efekty działania stymulującego użytych substancji. Preparat  $KH_3$ , zasobniejszy w metale, skuteczniej działał niż preparat  $KH_M$ , który zawiera mniej składników mineralnych. W świetle tego doświadczenia niewątpliwie istotną rolę w stymulowaniu kiełkowania odegrały kationy metali, będące naturalnymi komponentami cząsteczek KH. Uzyskane wyniki, jak się wydaje, potwierdzają wcześniejsze dane Gumińskiej i Sulej (18), że kiełkowanie pobudzone humianem i EDTA uzależnione jest w pewnym stopniu od obecności soli mineralnych w roztworach nasycających nasiona. Poza tym aktywność fizjologiczna humianów w przyspieszaniu procesów kiełkowania zależy od stopnia utlenienia tych związków (17).

**Przenikanie metali do nasion** (tab. 4). Stwierdzone różnice w składzie chemicznym i zawartości metali w preparatach KH oraz różnice w stymulowaniu kiełkowania nasion przez te preparaty, nasunęły przypuszczenie, że jedną z przyczyn stymulowania może być przenikanie kompleksu KH z metalami do tkanek nasion. Wyniki specjalnego doświadczenia wykazały, że nasiona infiltrowane i nasycane roztworami KH oraz indukowane światłem czerwonym zawierają więcej metali Cu, Mn, Fe i Mo. Metale te spełniają dominującą rolę w wielu procesach metabolizmu roślin. Natomiast EDTA, na skutek silnego wiązania, odciągał endogenne metale do środowiska zewnętrznego. W ten sposób zawartość pierwiastków Cu, Mn, Fe i Mo w nasionach pod wpływem EDTA uległa znacznemu obniżeniu.

**Wzrost siewek** (tab. 5). Roztwory obu preparatów KH, roztwory składników popielnych z tych preparatów i roztwór EDTA, a także krótkotrwałe naświetlanie nasion czerwienią wpływały stymulująco na wzrost siewek, szczególnie korzeni, z tą różnicą, że preparat  $KH_3$  był aktywniejszy od preparatu  $KH_M$ . Ponadto zaznaczył się wpływ naświetlania nasion czerwienią na wzrost siewek sałaty. Wyrazem tego wpływu był lepszy wzrost przede wszystkim korzeni, wskutek wcześniej zainicjowanych procesów wzrostowych w fazie poindukcyjnej kiełkowania. Dane te, jak się wydaje, w pewnym sensie są zgodne z wynikami Furuya i Torreya (9), którzy nie obserwowali inhibicji wzrostu indukowa-

Tab. 4. Zawartość pierwiastków śladowych w nasionach  
The content of trace elements in seeds

Roztwór i sposób nasycania * Solution and mode of soaking *	Ciemność Darkness	Światło Light	Wartości względne zaczerpnienia linii spektralnych Relative value of spectral lines blackening					
			Al	Ti	Cu	Mn	Fe	Mo
Nasiona powietrznie suche przed kiełkowaniem Seeds air dried before germination			0	0	0	0	0	0
Nasiona infiltrowane i nasycane: 1 — woda destylowana Seeds infiltrated and soaked: 1 — distilled water			0	0	0	0	0	0
2 — preparat $KH_M$ $HA_M$	+	—	22	0	47	5	4	6
	—	+	22	0	52	6	5	8
3 — roztwór składników popielnych preparatu $KH_M$ The solution of ash components of $HA_M$	+	—	22	0	20	0	3	3
	—	+	22	0	20	0	4	5
4 — preparat $KH_3$ $HA_3$	+	—	22	12	53	7	5	8
	—	+	22	12	56	10	7	10
5 — roztwór składników popielnych preparatu $KH_3$ The solution of ash components of $HA_3$	+	—	22	12	20	0	3	4
	—	+	22	12	20	0	4	7
6 — EDTA **	+	—	-4	-2	-8	-2	-3	-1
	—	+	-6	-3	-10	-2	-2	-3
7 — EDTA + składniki popielne preparatu $KH_3$ EDTA + ash components of $HA_3$	+	—	18	10	17	2	2	3
	—	+	19	8	24	4	5	5

\* Stężenie  $KH$  i  $EDTA$  0,1 mg/cm<sup>3</sup>. Składniki popielne podawano w ilości odpowiadającej dawce  $KH$  0,1 mg/cm<sup>3</sup>. Czas infiltracji 20 min. Czas nasycania 30 godz.

\*\* Znaki minus przy cyfrach oznaczają odciąganie metali z nasion do środowiska.

\*  $HA$  and  $EDTA$  concentrations 0.1 mg/cm<sup>3</sup>. Ash components were given in a dose corresponding to  $HA$  0.1 mg/cm<sup>3</sup>. Infiltration time 20 min. Soaking time 30 hrs.

\*\* Minus before figures indicates binding of native metals of seeds.

nych czerwienią, nie uszkodzonych korzeni grochu, rosnących w obecności IAA ( $5 \cdot 10^{-5}$  M). A zatem światło czerwone nie zawsze wpływa hamująco na wzrost korzeni. Warto dodać, że roztwory składników popielnych preparatów KH oraz roztwór EDTA nie wykazywały wyraźniejszego wpływu na wzrost wydłużeniowy siewek, tak w próbach indukowanych, jak nie indukowanych czerwienią.

Tab. 5. Wpływ KH, składników popielnych z KH oraz EDTA na wzrost siewek sałaty

The influence of HA, ash components from HA and EDTA on the growth of lettuce seedlings

Roztwór * — Solution *	Ciemność Darkness	Światło Light	Długość — Length mm		
			Korzeń Root	Hypokotyl Hypocotyl	Całość Whole
Woda destylowana Distilled water	+	—	24,0±0,093	19,6±0,040	43,6
	—	+	32,0±0,166	17,7±0,115	49,7
Preparat KH <sub>M</sub> HA <sub>M</sub>	+	—	31,1±0,247	19,5±0,061	50,6
	—	+	42,3±0,177	20,3±0,269	62,6
Składniki popielne preparatu KH <sub>M</sub> Ash components of HA <sub>M</sub>	+	—	24,2±0,116	20,0±0,084	44,2
	—	+	33,1±0,154	18,2±0,092	51,3
Preparat KH <sub>3</sub> HA <sub>3</sub>	+	—	36,0±0,993	20,1±0,060	56,1
	—	+	49,4±0,162	21,0±0,028	70,4
Składniki popielne preparatu KH <sub>3</sub> Ash components of HA <sub>3</sub>	+	—	23,7±0,784	18,8±0,544	42,5
	—	+	32,8±0,566	17,9±0,996	50,7
EDTA	+	—	26,4±0,812	19,7±0,866	46,1
	—	+	34,8±1,192	20,6±0,924	55,4
EDTA+składniki popielne preparatu KH <sub>3</sub> EDTA+ash components of HA <sub>3</sub>	+	—	28,2±0,406	19,4±2,267	47,6
	—	+	36,7±1,567	19,6±0,406	56,3

\* Stężenie KH i EDTA 0,1 mg/cm<sup>3</sup>. Składniki popielne podawano w ilości odpowiadającej dawce KH 0,1 mg/cm<sup>3</sup>.

\* HA and EDTA concentrations 0.1 mg/cm<sup>3</sup>. Ash components were in a dose HA = 0.1 mg/cm<sup>3</sup>.

Ogólnie można stwierdzić, że nagromadzenie się kationów metali w tkankach kiełkujących nasion poddanych działaniu KH (tab. 4) stymuluje kiełkowanie nasion (tab. 3) i zwiększa wzrost siewek sałaty (tab. 5). Prawdopodobnie przenikanie metali jest spowodowane wpływem KH na przepuszczalność tkanek nasion. W połączeniu z KH pierwiastki śladowe Cu, Mn, Fe i Mo przenikają łatwiej do kiełkujących nasion w formie fizjologicznie aktywnego kompleksu.

Przejsciowe działanie czerwieni i dalekiej czerwieni (tab. 6). Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń stwierdzono, że między próbami nasion poddanych działaniu różnych warunków świetlnych podczas nasycania wodą, roztworami składników popielnych KH i roztworem EDTA nie ma wyraźniejszych różnic w kiełkowaniu. Natomiast roztwór EDTA z dodatkiem składników popielnych preparatu KH<sub>3</sub> w stosowanych warunkach świetlnych wykazuje zaledwie nieznaczną tendencję do przyspieszania kiełkowania nasion. Z kolei nasiona nasycane roztworem KH wykazują stymulowanie kiełkowania pod wpływem czerwieni i jego hamowanie daleką czerwienią w porównaniu z pozostałymi próbami. W obecności KH działanie dalekiej czerwieni, następujące natychmiast po indukcji czerwienią (seria R+FR oraz R+FR+R+FR), nie cofa efektu kiełkowania stymulowanego czerwienią do poziomu kiełkowania nasion nasycanych wodą, roztworem składników popielnych KH

Tab. 6. Stymulowanie i hamowanie kiełkowania fotowrażliwych nasion sałaty, poddanych działaniu czerwieni i dalekiej czerwieni podczas nasycania \*  
Stimulation and inhibition of germination of photosensitive lettuce seeds irradiated with red light and far-red during soaking \*

Światło — Light	Kiełkowanie — Germination %				
	H <sub>2</sub> O	KH HA	Składniki popielne KH <sub>3</sub> Ash components of HA <sub>3</sub>	EDTA	EDTA + składniki popielne KH <sub>3</sub> EDTA + ash components of HA <sub>3</sub>
O	23	36	24	24	26
R	64	76	65	64	68
FR	26	35	28	27	28
R+FR	26	37	27	26	29
R+FR+R	67	82	72	70	72
R+FR+R+FR	39	51	37	37	42
Ciągłe białe światło jarzeniowe 2000 luks. Continuous cool white light 2000 lux	96	97	95	94	95

\* Stężenie preparatu KH<sub>3</sub> i EDTA 0,1 mg/cm<sup>3</sup>. Składniki popielne podawano w ilości odpowiadającej ich zawartości w dawce KH<sub>3</sub> = 0,1 mg/cm<sup>3</sup>. Procent skiejkowanych nasion liczono po 20 godz. od rozpoczęcia nasycania.

\* HA<sub>3</sub> and EDTA concentrations 0.1 mg/cm<sup>3</sup>. Ash components were added in a dose = HA<sub>3</sub> 0.1 mg/cm<sup>3</sup>. The percentage of germinated seeds was counted after 20 hrs of soaking.



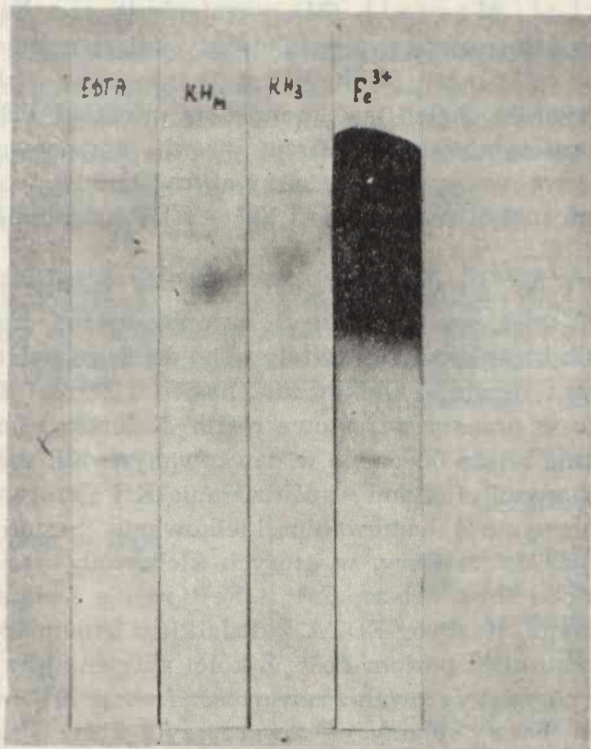
i roztworem EDTA. Zaznacza się natomiast wyraźny wpływ roztworu KH na osłabienie hamowania kiełkowania daleką czerwienią. Stymulowanie oraz hamowanie kiełkowania nasion nasycanych KH i poddanych działaniu na przemian czerwieni i dalekiej czerwieni wskazuje na możliwość współdziałania KH z układem fitochromu.

Na temat współdziałania światła i związków chelatujących metale w stymulowaniu procesów wzrostu i rozwoju roślin istnieją nieliczne dane. Haertl i Martell (21) wzmiankują, że  $\text{Fe}^{3+}\text{EDTA}$  jest wrażliwy na światło i może być zredukowany światłem słonecznym. Według badań Burströma (6)  $\text{Fe}^{2+}$  jest fizjologicznie aktywniejsze od formy  $\text{Fe}^{3+}$ . Czynniki chelatujące metale, na przykład EDTA i światło, mają zdolność pośredniczenia w utrzymywaniu równowagi mineralnej w środowisku zewnętrznym rośliny, przy czym ułatwiają roślinom dostęp aktywnych form metali (na przykład  $\text{Fe}^{2+}$ ). EDTA spełniałby rolę przenośnika metali (6).

Formy Fe w preparatach KH. W świetle przytoczonych wyników badań własnych oraz innych autorów można przypuszczać, że KH jako czynnik kompleksujący metale współdziała ze światłem i poprzez układ fitochromu reguluje kiełkowanie nasion i wzrost siewek sałaty, a więc ingeruje w procesy wzrostowe roślin. Należało zatem stwierdzić, czy istotnie forma żelaza obecnego w dawkowanych KH ma jakiś bliższy związek z uzyskanymi efektami współdziałania KH i czerwieni w odwracalnym stymulowaniu i hamowaniu kiełkowania nasion sałaty. Jak stwierdzono (ryc. 1), roztwory, w których kiełkowały nasiona, wykazywały obecność obu form żelaza,  $\text{Fe}^{2+}$  i  $\text{Fe}^{3+}$  różnie związanego z organicznymi ligandami. Roztwór EDTA z dodatkiem składników popielnych wykazywał bardzo niski poziom  $\text{Fe}^{2+}$ . Z kolei aktywniejszy fizjologicznie preparat  $\text{KH}_3$  charakteryzowała zawartość frakcji KH, której sądząc z intensywności barwy plamy — towarzyszyło  $\text{Fe}^{2+}$ . Frakcja ta wraz z  $\text{Fe}^{2+}$  migrowała nieco energiczniej i lokalizowała się wyżej na chromatogramie w porównaniu z preparatem  $\text{KH}_M$ , który również zawierał  $\text{Fe}^{2+}$ . Natomiast roztwór składników popielnych bez dodatku organicznych ligandów wykazywał stosunkowo znaczną zawartość żelaza fizjologicznie nieaktywnego, występującego w formie  $\text{Fe}^{3+}$ . Składniki popielne tylko nieznacznie stymulowały kiełkowanie nasion i wzrost siewek sałaty. Dlatego też należy sądzić, że efekty stymulacji tych procesów zależały przynajmniej częściowo od składu frakcyjnego KH z metalami i od formy, w jakiej występowały metale w podawanych roślinom roztworach KH.

Wydaje się prawdopodobne, że związki chelatujące typu EDTA mogą działać na układ fitochromu pośrednio, to znaczy przez wpływ na przepuszczalność (25). Warto przypomnieć, że wielokrotnie stwierdzono wpływ związków humusowych na przepuszczalność (2, 3, 22, 23, 29, 30,

31, 33). Stąd można było oczekiwać, że preparaty KH jako kompleksy z odpowiednimi metalami w podobny sposób do EDTA mogą oddziaływać na kontrolowane układem fitochromu kiełkowanie nasion sałaty. Za przyjęciem tej hipotezy przemawiają badania Hillmana (24) wykazujące ingerencję jonów Cu i EDTA w regulowane fitochromem zakwitanie *Lemna perpusilla*, indukowane światłem w różnych fotoperiodach.



Ryc. 1. Formy żelaza; EDTA + składniki popielne preparatu  $KH_3$ , roztwór preparatu  $KH_M$ , roztwór preparatu  $KH_3$ , roztwór składników popielnych preparatu  $KH_3$   
 Forms of iron; EDTA + ash components of  $HA_3$ ,  $HA_M$  solution,  $HA_3$  solution, solution of ash components of  $HA_3$

Wpływ KH jako związku kompleksowego na przepuszczalność może ułatwiać przenikanie do tkanek wody i rozpuszczonych w niej składników, powodując szybsze nasytanie nasion. Dzięki temu procesy metabolizmu poprzedzające kiełkowanie przebiegają sprawniej. Ponadto KH zmienia lepkość roztworów wodnych (40), a przypuszczalnie także napięcie powierzchniowe cieczy. W tym ostatnim przypadku KH, podobnie jak detergenty, może działać jako związek powierzchniowo czynny. Właściwość ta jest szczególnie ważna przy redukcji  $Fe^{3+}$  do  $Fe^{2+}$ , która zda-

niem Brown a i współprac. (4, 38) może przebiegać stosunkowo łatwo właśnie na powierzchni korzeni.

Jak można sądzić na podstawie wyników badań, KH spełnia podobną rolę do EDTA, z tą różnicą, że aktywność fizjologiczna KH i EDTA jako związków zespolonych z metalami — typu chelatujących nie jest identyczna, choćby ze względu na różnice w budowie chemicznej i właściwościach fizykochemicznych. Oprócz tego cząsteczki KH dzięki obecności różnych grup funkcyjnych mają zdolność do przyłączania i sorpcji różnych metali, a więc mogą być bardziej reaktywne niż EDTA. Efekty aktywności fizjologicznej preparatów KH nie mogą być zatem równoznaczne i całkowicie zgodne z wynikami dotyczącymi EDTA.

Stymulowanie działaniem KH kiełkowania nasion indukowanych czerwienią i znoszenie inhibicji wywołanej daleką czerwienią może być tłumaczone różnie. Prawdopodobnie w obecności KH w ciemności następuje zwolnienie procesu rewersji aktywnej formy fitochromu  $P_{FR}$  do formy nieaktywnej  $P_R$ . Nie jest wykluczone, że KH działa ochronnie na aktywną formę fitochromu i hamuje jego rozkład w ciemności. Działanie to mogłoby realizować się pośrednio przez zahamowanie lub blokowanie bliżej nie zbadanej substancji, wykrytej przez Furuya i Hillmana (11), która w ciemności przyspiesza rozkład aktywnej formy fitochromu  $P_{FR}$  i reguluje jego poziom w tkankach. Przyjmując hipotezę Furuya Hopkinsa i Hillmana (10), że proces rozkładu w ciemności aktywnej fizjologicznie formy fitochromu  $P_{FR}$  zależy od metali, a być może także od stopnia ich utlenienia, łatwiej będzie wytłumaczyć możliwość współdziałania KH z układem fitochromu w stymulowaniu kiełkowania fotowrażliwych nasion sałaty.

#### WNIOSKI

1. Stwierdzono, że preparaty KH różnego pochodzenia wykazują niejednakową zdolność do wiązania metali. Dwukrotna demineralizacja wyjściowych preparatów KH za pomocą żywie jonowymiennych nie usuwa licznych pierwiastków metali, które pozostają związane z komponentami organicznymi cząsteczek KH.

2. Zwiększanie aktywności fizjologicznej przez preparaty KH różnego pochodzenia zależy od składu chemicznego pierwiastków i zawartości kationów metali tworzących kompleksy z organicznymi ligandami cząsteczek KH. Preparat  $KH_3$  zasobniejszy w metale i wykazujący fizjologicznie aktywną formę  $Fe^{2+}$ , towarzyszącą energicznie migrującej frakcji KH, przekazywał więcej metali kiełkującym nasionom.

3. Nasiona infiltrowane i nasycane roztworem preparatu  $KH_3$ , bogatszym w składniki mineralne i pierwiastki śladowe, wykazywały wyż-

szą energię kiełkowania. Stwierdzono lepszy wzrost korzeni siewek wydanych przez te nasiona.

4. W naturalnych kompleksach KH żelazo jest stabilizowane w formie fizjologicznie aktywnej w większym stopniu niż w EDTA.

5. Efekty stymulacji kiełkowania nasion i wzrostu siewek sałaty wywołane działaniem preparatów KH wykazują zależność od poziomu pierwiastków metali w KH. Obecność większej liczby i ilości metali w tkankach kiełkujących nasion sałaty świadczy o ich lepszym przenikaniu w formie związanej z KH.

6. Preparaty KH stymulują w ciemności kiełkowanie fotowrażliwych nasion sałaty pośrednio przez wpływ na przepuszczalność. Indukcja nasion czerwienią podwyższa procent kiełkowania nasion nasycanych roztworami KH. Stymulowanie wzrostu siewek sałaty wydanych przez nasiona indukowane czerwienią jest zjawiskiem wtórnym, wynikającym z wcześniej zapoczątkowanych procesów wzrostowych w fazie poindukcyjnej kiełkowania.

#### PIŚMIENICTWO

1. Block R. J., Durrum E., Zweig G.: *Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis*. 2nd ed., Academic Press INC. Publishers. New York 1958.
2. Błagowieszczenskij A. W., Prozorowskaja A. A.: Über den Einfluss der Huminsäure auf die Aufnahme von Mineralsalzen durch die Pflanzen. *Biochem. Z.*, **273**, 341—345 (1934).
3. Błagowieszczenskij A. W., Prozorowskaja A. A.: Zur Frage des Einflusses der Huminsäure auf die Assimilation der Pflanze, *Biochem. Z.*, **282**, 99—103 (1935).
4. Brown J. C., Tiffin L. O., Holmes R. S.: Competition between Chelating Agents and Roots as Factor Affecting Absorption of Iron and Other Ions by Plant Species. *Plant Physiol.*, **25**, 878—886 (1960).
5. Burges A.: Physico-Chemical Investigations of Humic Acid. 7th Internat. Congress of Soils Sci., Madison, Wisc., USA, II-18, 128—133 (1960).
6. Burström H.: Growth Action of EDTA in Light and Darkness. *Physiol. Plant.*, **14**, 354—377 (1961).
7. DeKock P. C.: Influence of Humic Acids on Plant Growth. *Science*, **121**, 473—474 (1955).
8. Evans L. T., Russel E. W.: The Adsorption of Humic and Fulvic Acids by Clays. *J. Soil. Sci.*, **10**, 119—132 (1959).
9. Furuya M., Torrey J. G.: The Reversible Inhibition by Red and Far-Red Light of Auxin-induced Lateral Root Initiation in Isolated Pea Roots. *Plant Physiol.*, **39**, 987—991 (1964).
10. Furuya M., Hopkins W. A., Hillman W. S.: Effect of Metal-Complexing and Sulfhydryl Compounds on Nonphotochemical Phytochrome Changes *in vivo*. *Arch. Biochem. Biophys.*, **112**, 180—186 (1965).
11. Furuya M., Hillman W. S.: Rapid Destruction of the P<sub>FR</sub> Form Phyto-

- chrome by a Substance in Extracts of *Pisum* Tissue. *Plant Physiol.*, **41**, 1242—1244 (1966).
12. Gawroński E.: Aktywność biologiczna preparatów kwasów huminowych z ekskrementów dżdżownic *Allolobophora caliginosa* S.a.v., *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio C*, **28** (1963), 9, 189—215 Lublin 1964.
  13. Gawroński E.: Wpływ kwasu huminowego na kiełkowanie światłoczułych nasion sałaty. Część I. Przebieg kiełkowania w zależności od stężenia KH, czasu nasycania i naświetlania, pH środowiska oraz działania kinetyny i kwasu gibberelowego ( $GA_3$ ). *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio C*, **24** (1969), 26, 373—394, Lublin 1969.
  14. Gawroński E., Gliński J.: Metallic Elements in Soil Humic Acids Preparation and Its Fraction. *Polish J. Soil Sci.*, **3** (1969).
  15. Gliński J.: Oznaczanie pierwiastków śladowych w ekstraktach glebowych spektrograficzną metodą dodatków. *Roczn. Glebozn.*, **15**, dod., 283—287 (1965).
  16. Gliński J., Turski R.: Zależność między zawartością miedzi a składem frakcyjnym kwasów huminowych w glebach. *Roczn. Glebozn.*, **15**, dod., 311—314 (1965).
  17. Gumińska Z.: Utlenione związki próchniczne jako stymulatory kiełkowania nasion. *Acta Soc. Bot. Pol.*, **27**, 501—522 (1958).
  18. Gumińska Z., Sulej J.: Wpływ humianu sodowego i wersenianu sodowego na kiełkowanie nasion. *Biuletyn IHAR*, **3** (60), 29—31 (1964).
  19. Gumiński S., Gumińska Z., Sulej J.: Effect of Humate, Agar-Agar, and EDTA on the Development of Tomato Seedlings in Aerated and Non-Aerated Water Cultures. *J. Exp. Bot.*, **16**, 46, 151—162 (1965).
  20. Gumiński S., Sulej J.: La relation entre certaines qualités physicochimiques des composés humiques et leur activité biologique. *Acta Soc. Bot. Pol.*, **36**, 109—122 (1967).
  21. Haertl E. J., Martell A. E.: Metal Chelates in Plant and Animal Nutrition. *J. Agr. Food. Chem.*, **4**, 26—32 (1956).
  22. Heinrich G.: Huminsäure und Permeabilität. *Protoplasma*, **58**, 402—425 (1964).
  23. Heinrich G.: Die Wirkung von ein und mehrwertigen Ionen und von Basischen Farbstoffen auf die Pflanzenzelle in Anwesenheit von Huminsäure. *Phyton*, **11**, 207—217 (1966).
  24. Hillman W. S.: Red Light, Blue Light, Copper Ion in the Photoperiodic Control of Flowering in *Lemna perpusilla* 6746. *Plant and Cell Physiol.*, **6**, 499—506 (1965).
  25. Hillman W. S.: The Physiology of Phytochrome. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **18**, 301—324 (1967).
  26. Ikuma H., Thimann K. V.: Analysis of Germination Processes of Lettuce Seed by Means of Temperature and Anaerobiosis. *Plant Physiol.*, **39**, 756—767 (1964).
  27. Kumada K., Sato O.: Chromatographic Separation of Green Humic Acid from Podzol Humus. *Soil Sci. Plant Nutrition*, **8**, 31—33 (1962).
  28. Mortensen J. L.: Complexing of Metals by Soil Organic Matter. *Soil. Sci. Soc. Am. Proc.*, **27**, 179—186 (1963).
  29. Niklewski B., Wojciechowski J.: Wpływ związków próchnicznych na rozwój roślin. *Acta Soc. Bot. Pol.*, **15**, 6—109 (1938).
  30. Niklewski B., Wojciechowski J.: Wpływ związków próchnicznych na rozwój roślin. *Acta Soc. Bot. Pol.*, **15**, 111—151 (1938).

31. Niklewski B., Wojciechowski J.: Wpływ kwasów próchnicznych na rozwój roślin. *Acta Soc. Bot. Pol.*, **18**, 65—90 (1947).
32. Okuda A., Hori S.: Identification of Amino Acids in Humic Acid. *Soil and Plant Food*, **1**, 39—40 (1955).
33. Prát S.: Permeability of Plant Tissues to Humic Acids. *Biologia Plant.*, **5**, 279—283 (1963).
34. Scheffer F., Ulrich B., Histermann P.: Bedeutung der Chelatisierung in der Agrikulturchemie und Bodenkunde. *Z. Pfl-Ernähr. Düng. Bodenk.*, **76** (121), 146—155 (1957).
35. Scheffer F., Ulrich B.: *Lehrbuch der Agrikulturchemie und Bodenkunde*. III. Teil. Humus und Humusdüngung. Bd. 1. Morphologie, Biologie, Chemie und Dynamic des Humus. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1960.
36. Schnitzer M., Desjardins J. G.: Molecular and Equivalent Weights of the Organic Matter of a Podzol. *Soil. Sci. Soc. Am. Proc.*, **26**, 362—365 (1962).
37. Schitzer M., Poapst P. A.: Effects of a Soil Humic Component on Root Initiation. *Nature*, **213**, 598—599 (1967).
38. Tiffin L. O., Brown J. C., Krauss R. W.: Differential Absorption of Metal Chelate Components by Plant Roots. *Plant Physiol.*, **35**, 362—367 (1960).
39. Titowa N. A.: Zelezo-gumusowyje kompleksy niekatorych poczw, *Poczwowied.* **12**, 38—43 (1962).
40. Visser S. A.: A Physico-Chemical Study of the Properties of Humic Acids and Their Changes During Humification. *J. Soil Sci.*, **15**, 202—219 (1964).

## РЕЗЮМЕ

Проведены химические элементарный и спектральный анализы содержащихся в двух препаратах гуминовых кислот (ГК) элементов металлов, имеющих разное происхождение. Для установления влияния ГК и ЭДТА на проникновение в ткани прорастающих семян присутствующих в них в форме комплексных соединений металлов был проведен спектральный анализ зольных компонентов, полученных из испелённых, прорастающих семян салата, которые насыщались раствором исследуемых препаратов. Изменение форм присутствующего в растворах ГК и ЭДТА железа, которыми насыщали прорастающие семена, определялось методами бумажной хроматографии и качественного химического анализа.

В отдельных экспериментах сравнивалось влияние препаратов ГК и ЭДТА, а также зольных компонентов, полученных из обзоленных препаратов ГК, на прорастание светочувствительных семян и сеянцев салата (грунтовый сорт AS 44, партия 145).

Обсуждается возможность взаимодействия ГК как комплексных соединений с металлами, красным светом при стимулировании контролируемого прорастания фитохромовой системой. Проведенные исследования позволяют сделать следующие выводы:

1. Установлено, что препараты ГК разного происхождения обна-

руживают неодинаковую способность к связыванию металлов. Двукратное деминерализование исходных препаратов ГК при помощи ионообменных смол не ликвидирует многочисленных элементов металлов, которые и в дальнейшем остаются связанными с органическими компонентами частиц ГК.

2. Приобретение биологической активности гуминовой кислотой разного происхождения зависит от элементарного химического состава и содержания металлов, образующих комплексы с органическими лигандами частичек ГК. Препарат ГК, более богатый металлами и обнаруживающий физиологически активную форму железа  $Fe^{2+}$ , сопровождающую энергично передвигающуюся фракцию ГК, был более эффективным в физиологическом действии и хорошо снабжал металлами прорастающие семена.

3. Семена, насыщенные раствором препарата ГК<sub>3</sub>, более богатыми минеральными компонентами и микроэлементами, обнаруживали более высокую энергию прорастания. Установлен лучший рост корешков сеянцев этих семян.

4. В природном комплексе ГК железо стабилизировано в более активной физиологической форме, чем ЭДТА.

5. Обнаружена прямая зависимость эффекта стимуляции прорастания семян и роста сеянцев салата, вызванного действием препаратов ГК, от актуального присутствия в них многочисленных элементов металлов. Присутствие большого числа и количества металла в тканях прорастающих семян салата свидетельствует о их лучшем проникновении в связанной с ГК форме.

6. Препараты ГК в темноте стимулируют прорастание фоточувствительных семян салата непосредственно путем влияния на проницаемость. Индукция семян красным светом увеличивает процент прорастания семян, насыщенных раствором ГК. Стимулирование роста сеянцев салата путем индукции семян красным светом является вторичным явлением, вытекающим из ранних ростовых процессов в фазе прорастания.

## S U M M A R Y

Chemical elementary analysis and spectral analysis of metals of two humic acid (HA) preparations of different origin was performed. In order to elucidate the influence of HA and EDTA on the penetration of metals (appearing in HA and EDTA in form of chelative or complex bonds) spectral analysis of ash components obtained from ashed germinating lettuce seeds soaked with the investigated preparations of HA and EDTA was performed. The alterations in Fe forms occurring in HA and EDTA

were analysed by paper chromatography and quantitative analysis. In separate experiment there was compared the influence of HA and EDTA and ash components obtained from ashed HA preparations on the germination of seeds and on the growth of lettuce seedlings (ground variety AS 44, lot 145). There was discussed the possibility of the existence of a concurrence between HA containing metals in the form of chelative or complex bonds and red light, in the stimulation of seed germination controlled by the phytochrome system. The results of the experiments pointed out that:

1. HA preparations of different origin exhibit various capacity for binding metals. Twice-repeated demineralization of crude HA preparations by means of ion exchange resins does not remove numerous metals. These metals remain linked with some organic ligands of HA.

2. Physiological activity of HA of different origin depends on the basic chemical composition and on the content of metals forming complexes with the organic ligands of HA particles. The HA preparation containing more metals with the physiologically active form of  $Fe^{2+}$ , migrating with the faster fraction of HA, was physiologically more active. It exhibited a greater effectiveness in transferring metals for germinating seeds.

3. Seeds soaked with  $HA_3$  containing more minerals and trace elements, exhibited a higher germination energy. Roots of seedlings obtained from these seeds showed better growth.

4. The natural HA complex, stabilizes iron in an active physiological form to a greater degree than EDTA.

5. The stimulatory effect of HA on seed germination and growth of seedlings is simply related to the actual prevalence of metals in it. The presence of greater quantity and higher levels of metals in the tissues of germinating lettuce seeds points to a better penetration of metals in the form of complexes with HA.

6. HA preparations stimulate the germination of photosensitive lettuce seeds indirectly by their influence on the permeability. Red light induction increases the percentage of germination of HA-soaked seeds. The growth stimulation of the lettuce seedlings obtained from seeds induced by red light is a secondary phenomenon. It is caused by an earlier initiation of the growth processes in the germination phase.



ANNALES  
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE - SKŁODOWSKA  
LUBLIN — POLONIA

VOL. XXIII

SECTIO C

1968

---

1. E. Gašior, N. Grankowski, T. Turkowska, M. Sz waj: Purification of *Escherichia coli* Ribosomes and Fractionation of Ribosomal Protein.  
Oczyszczanie rybosomów *Escherichia coli* i frakcjonowanie białek rybosomowych.
2. J. Łobarzewski, M. Benesz: Kolorymetryczna metoda oznaczania aktywności esterazowej w materiale owadzi m.  
A Colorimetric Method of Estimating Esterase Activity in Insect Material.
3. Z. Uziak: Aminokwasy jako źródło azotu dla niektórych roślin uprawnych.  
Amino Acids as a Source of Nitrogen for some Cultivated Plants.
4. I. Szajer: Produkcja przeciwdrożdżowej substancji antybiotycznej przez szczep *Streptomyces* sp. nr 121.  
The Production of the Antifungal Antibiotic Substance by *Streptomyces* sp. No. 121.
5. I. Szajer: Wpływ przeciwdrożdżowej substancji antybiotycznej ze szczepu *Streptomyces* sp. nr 121 na procesy fizjologiczne drożdży.  
The Effect of the Antifungal Antibiotic Substance from *Streptomyces* sp. No. 121 on the Physiology of Yeasts.
6. I. Szajer: Wpływ przeciwdrożdżowej substancji antybiotycznej ze szczepu *Streptomyces* sp. nr 121 na morfologię drożdży.  
The Effect of the Antifungal Antibiotic Substance from *Streptomyces* sp. No. 121 on the Morphology of Yeasts.
7. T. Baszyński, K. Izdebski, J. Malicki, S. Uziak: Wstępne badania nad produktywnością wybranych ekosystemów łąkowych w okolicy Sobieszyna nad Wieprzem.  
Preliminary Studies of the Yield of Selected Meadow Ecosystems in the Environs of Sobieszyn on the Wieprz.
8. K. Karczmarz: Mchy plejstoceni skie z Lubelszczyzny.  
Pleistocene Mosses from the Lublin Region.
9. K. Izdebski, J. Malicki: Genetyczno-biologiczne typy próchnicy w glebach leśnych Roztocza.  
Genetic and Biological Types of Humus in the Forest Soils of Roztocze.
10. J. Rydzak: Lichens as Indicators of the Ecological Conditions of the Habitat Porosty jako wskaźniki ekologicznych warunków siedliska.
11. B. Sałata, J. Romaszewska-Sałata: Materiały do znajomości grzybów pasożytniczych Lubelszczyzny. Część I. Rdze (*Uredinales*).  
Matériaux pour la connaissance des champignons parasites dans la région de Lublin. I-e Partie. Rouilles (*Uredinales*).

ANNALES  
UNIVERSITÄTIS MARIAE CUR  
LUBLIN — POLO  
VOL. XXIII                      SECTIO C

Biblioteka Uniwersytetu  
MARIJ CURIE-SKŁODOWSKIEJ  
w Lublinie

4053    24

CZASOPISMA  
1959

12. D. Fijałkowski: Zmienność sosny zwyczajnej *Pinus silvestris* L. w województwie lubelskim.  
Variability of *Pinus silvestris* in the Lublin Region.
13. D. Fijałkowski: Badania nad okresami rozwijania się i zrzucania liści u dębu szypułkowego *Quercus robur* L.  
Studies of Periods of Developing and Falling down of Leaves in *Quercus robur* L.
14. K. Kozak: Zbiorowiska roślinne torfowisk przejściowych i wysokich oraz ich powiązania z lasami nadleśnictwa Parczew.  
The Relationship of Plant Communities of Intermediate and High Peat Bogs to the Forest of the Parczew Forest District.
15. J. Hubicka: Krajowe gatunki rodzaju *Meromyza* Mg. (*Diptera*, *Chloropidae*). II. Środowisko występowania i rośliny żywicielskie.  
Espèces du genre *Meromyza* Mg. (*Diptera*, *Chloropidae*) de Pologne. II. Milieu d'apparition et plantes nourricières.
16. J. Wolska: Pasożytnicze pierwotniaki przewodów pokarmowych płazów Polski w ich cyklu życiowym. Część II. *Rana esculenta* L.  
Protozoaires parasites du tube digestif chez les batraciens de Pologne dans leur cycle vital. II-e Partie. *Rana esculenta* L.
17. A. Cmoluchowa: O występowaniu w Polsce *Xylocoris* (*Styctosynechia*) *lativentris* (J. Sahlb.) — *Heteroptera*, *Anthocoridae*.  
Apparition de *Xylocoris* (*Styctosynechia*) *lativentris* (J. Sahlb.) — *Heteroptera*, *Anthocoridae* en Pologne.
18. W. Kowalik: Chrząszcze wodne (*Coleoptera aquatica*) jezior sosnowickich na Pojezierzu Łęczyńsko-Włodawskim.  
Coléoptères aquatiques (*Coleoptera aquatica*) des lacs de Sosnowica dans la région des lacs de Łęczna et Włodawa.
19. Z. Danilkiewicz: Strzebla błotna — *Phoxinus phoxinus* (Pallas 1811) na Pojezierzu Łęczyńsko-Włodawskim.  
*Phoxinus phoxinus* (Pallas 1811) in the Łęczna and Włodawa Lake District.
20. Z. Biliński: Uzupełnienia do znajomości kuczmanów Polski.  
Contribution à la connaissance des *Heleidae* de Pologne.

UNIwersytet MARIJ CURIE-SKŁODOWSKIEJ

Adresse:

BIURO WYDAWNICTW

LUBLIN

Plac Litewski 5

POLOGNE