

Z Katedry Fizjologii Roślin Wydziału Rolniczego WSR w Lublinie
Kurator: doc. dr Kazimierz Matusiak

Eugeniusz GAWROŃSKI

Wpływ trygoneliny na wzrost izolowanych korzeni wyki

Влияние тригонеллина на рост изолированных корней вики

The Influence of Trigonelline on the Growth of Isolated Roots of Vetch

WSTĘP

Wyniki poprzedniej pracy (8) wykazały, że konieczny do wzrostu izolowanych korzeni kwas nikotynowy może być zastąpiony całkowicie trygoneliną. W ten sposób stwierdzono, że trygonelina jest substancją wzrostową korzeni. Ponieważ jednak w badaniach tych (8) czas wzrostu transplantantów korzeni trwał stosunkowo krótko (9 dni), więc należało z kolei wyjaśnić, czy działanie trygoneliny jako czynnika wzrostowego korzeni wyki jest krótkotrwałe, czy długotrwałe. W tym celu podjęto specjalne badania, których wyniki przedstawia niniejsza praca.

MATERIAŁ, METODA I WARUNKI DOŚWIADCZEŃ

Badania prowadzono z odmianą wyki (*Vicia sativa* L.) stosowaną w poprzedniej pracy (8). Sterylizacja nasion, kiełkowanie i pobieranie transplantantów korzeni wykonano ściśle wg metody już opisanej (8) oraz wg Gauthereta (12). Hodowlę korzeni prowadzono w 100 ml erlenmajerkach z zawartością 35 ml odpowiedniej płynnej pożywki, przygotowanej wg White'a (17). Doświadczenie obejmowało 3 modyfikacje pożywki: a) z dodatkiem amidu kwasu nikotynowego, b) z dodatkiem trygoneliny, c) bez tych składników.

Transplantacje korzeni wykonano 2-krotnie, po upływie 11 dni w pierwszym okresie wzrostu i po 9 dniach w drugim okresie wzrostu. Te okresy czasu wzrostu transplantantów nazwano „krótkotrwałymi”. Po upływie drugiego okresu wzrostu część erlenmajerek każdej modyfikacji z rosnącymi nietkniętymi korzeniami pozostawiono do dalszego wzrostu na okres 60 dni (wzrost „długotrwały”). Podczas wzrostu korzeni pożywek nie zmieniano i nie uzupełniano. Kultury korzeni rosły w termostacie w całkowitej ciemności w temp. 26°.

Tab. 1. Długość i świeża masa izolowanych korzeni wyki
Length and fresh weight of the isolated roots of vetch

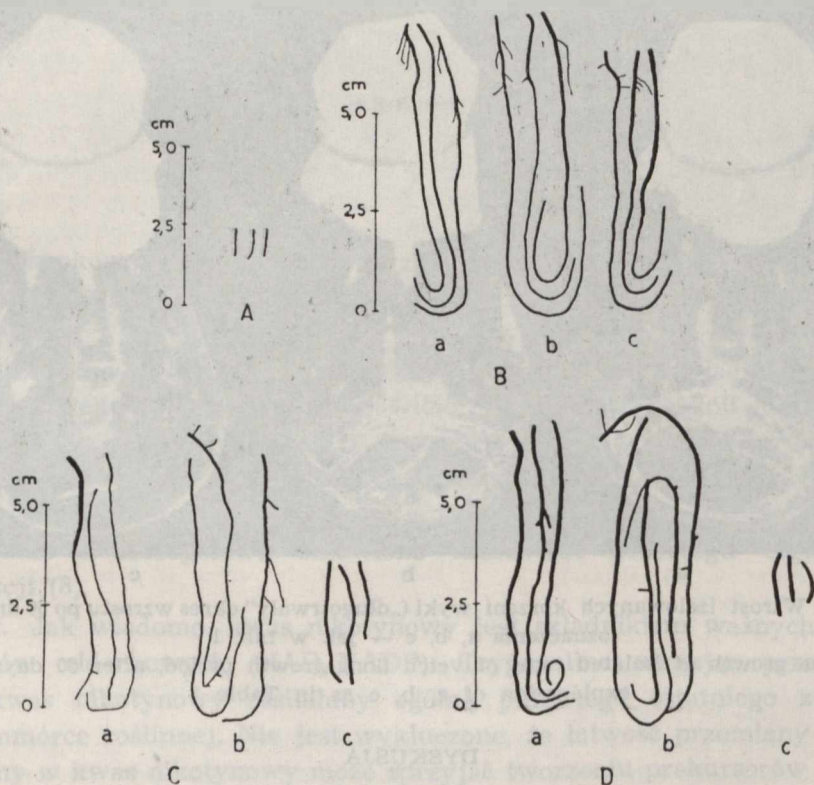
Liczba doświadczeń Number of experiments	Liczba badanych korzeni Number of examined roots	Transplantacje Transplantations		a		b		c	
		Kolejność transplantacji Sequence of transplantations	Czas wzrostu transplantantów (dni) Time of growing transplanted roots (days)	Długość mm Length in mm	Świeża masa mg Fresh weight in mg	Długość mm Length in mm	Świeża masa mg Fresh weight in mg	Długość mm Length in mm	Świeża masa mg Fresh weight in mg
3	45	Korzenie wyjściowe Outset roots	11	72,1—74,3 ±2,83—±3,93 73,2 ±3,52	19,5—20,5 ±1,29—±1,54 19,9 ±1,37	76,8—82,1 ±4,14—±6,44 78,7 ±4,99	21,8—22,9 ±1,44—±2,28 22,4 ±1,81	60,9—68,6 ±4,29—±5,34 65,6 ±4,80	16,4—17,8 ±1,26—±2,01 17,3 ±1,65
		Transplantacja pierwsza 1st plantation	9	62,3—65,1 ±3,70—±5,83 67,1 ±4,80	12,8—14,9 ±1,10—±1,68 11,9 ±1,41	73,8—80,8 ±3,78—±6,46 76,2 ±5,23	16,6—17,6 ±1,72—±1,85 17,0 ±1,80	24,8—28,1 ±0,97—±1,54 26,8 ±1,29	3,9—4,6 ±0,26—±0,41 4,3 ±0,33
3	45	Transplantacja druga 2nd plantation	9	62,8—71,2 ±4,10—±6,21 67,4 ±5,41	11,3—14,2 ±0,94—±1,90 13,1 ±1,48	72,2—85,0 ±3,39—±3,13 80,8 ±5,00	14,4—15,7 ±0,90—±1,73 14,9 ±1,35	11,5—13,6 ±0,49—±0,76 12,7 ±0,64	1,5—1,7 ±0,09—±0,11 1,6 ±0,10
		60	240,5—359,5 ±33,85—±76,41 307,2 ±58,41	48,3—87,4 ±7,59—±15,65 68,8 ±12,62	404,5—483,8 ±49,05—±69,16 438,8 ±59,80	93,3—114,1 ±10,82—±17,12 105,7 ±14,00	11,3—13,5 ±0,48—±0,84 12,6 ±0,60	1,4—1,7 ±0,08—±0,12 1,6 ±0,10	

Oznaczenia: a — transplantanty korzeni rosące na pożywce z amidem kwasu nikotynowego (0,5 mg/l), b — transplantanty korzeni rosące na pożywce z trygoneliną (0,5 mg/l), c — kontrola
Explanation: a — transplanted roots growing on nutrient solution with nicotinic acid amide (0.5 mg/l), b — transplanted roots growing on nutrient solution with 0.5 mg/l. of trigonelline, c — control

Pomiary długości korzeni rosnących w okresach „krótkotrwałych” i oznaczanie ich świeżej masy wykonywano po upływie 11 i 9 dni pobierając równocześnie transplantanty, a w przypadku korzeni pozostawionych do wzrostu na okres „długotrwały” po upływie 60 dni.

WYNIKI BADAŃ I ICH OMÓWIENIE

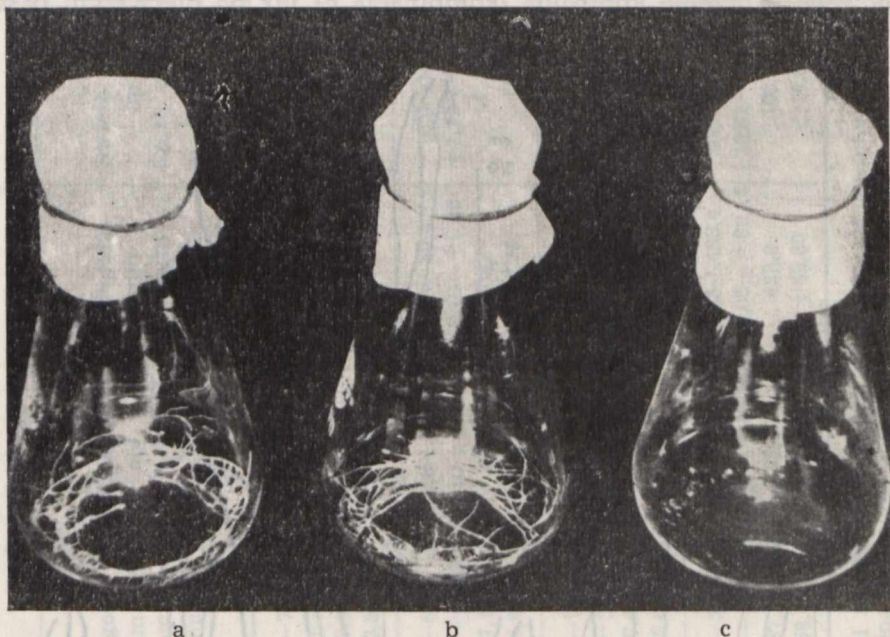
Wyniki badań zestawiono w tab. 1 oraz przedstawiono na ryc. 1 i 2. Jak widać w obecności trygoneliny we wszystkich okresach wzrostu pasażowanych korzeni zaznaczają się nieco wyższe wartości przyrostów długości i świeżej masy na 1 korzeń niż w obecności amidu kwasu nikotynowego. Korzenie kontrolne (kombinacja c) już po pierwszym pasażu



Ryc. 1. Wzrost izolowanych korzeni wyki („krótkotrwałe” okresy wzrostu 11 lub 9 dni); A — odcinki wyjściowe, B — kultura wyjściowa (po 11 dniach wzrostu), C — kultura po pierwszej transplantacji (po 9 dniach wzrostu), D — kultura po drugiej transplantacji (po 9 dniach wzrostu; oznaczenia a, b, c — jak w tab. 1 The growth of isolated roots of vetch (short-growth period, after 11 or 9 days); A — outset segments, B — outset culture (after 11 days of growing), C — culture after 1st transplattation (after 9 days of growing), D — culture after 2nd transplattation (after 9 days of growing); explanation of a, b, c as in Table 1

wykazywały częściowe zahamowanie wzrostu; po drugim pasażu przedstawiały rosnąć całkowicie (pojawiały się na nich ciemne, nekrotyczne plamy) i stopniowo ginęły.

Korzenie pozostawione na okres 60 dni (ryc. 2) w obecności amidu kwasu nikotynowego i trygoneliny przedłużały swój wzrost aż do całkowitego zużycia pożywki i wyparowania wody. Również i w tym wypadku w obecności trygoneliny korzenie wykazywały nieco wyższe wartości przyrostów na długość i świeżej masy w porównaniu z korzeniami rosnącymi na pożywce z amidem kwasu nikotynowego. Korzenie kontrolne w tym czasie w ogóle nie rosły.



Ryc. 2. Wzrost izolowanych korzeni wyki („długotrwały” okres wzrostu po 60 dniach); oznaczenia a, b, c — jak w tab. 1

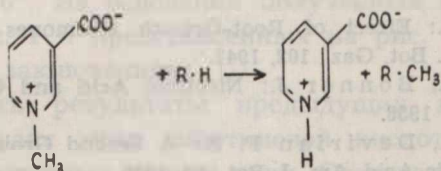
The growth of isolated roots of vetch (long-growth period, after 60 days); explanation of a, b, c as in Table 1

DYSKUSJA

Jak wykazały badania Blaima i współprac. (5, 6, 15), trygonelina tworzy się w liściach, a następnie jest transportowana w kierunku korzeni. Substancja ta występuje bardzo powszechnie w roślinach (7). Niektóre nasiona w procesie kiełkowania przemieniają ten związek w kwas nikotynowy (4, 7). Wielu autorów stwierdziło niezbędność kwasu nikotynowego dla wzrostu izolowanych korzeni (1, 2, 3, 9, 11, 13, 17).

Wcześniejsze badania wykazały (8), że konieczny do wzrostu izolowanych korzeni kwas nikotynowy może być zastąpiony całkowicie trygoneliną. W ten sposób stwierdzono, że trygonelina posiada charakter substancji wzrostowej korzeni. Wyniki niniejszej pracy w pełni to potwierdzają, a ponadto wykazują, że działanie trygoneliny na wzrost korzeni wyki jest podobne do działania amidu kwasu nikotynowego, a efekty wzrostowe są długotrwałe.

Mechanizm funkcji fizjologicznych trygoneliny i jej metabolicznego udziału w procesach wzrostu roślin nie jest dokładnie znany. Prawdopodobnie działanie trygoneliny wiąże się z przemianami prowadzonymi poprzez jej demetylację do kwasu nikotynowego (4, 7, 8) wg następującego schematu reakcji:



Stosunkowo lepszy wzrost korzeni w obecności trygoneliny aniżeli w obecności amidu kwasu nikotynowego może być tłumaczony następująco:

1. Procesy przemiany trygoneliny poprzez jej demetylację do kwasu nikotynowego odbywają się o wiele łatwiej od reakcji deaminacji amidu kwasu nikotynowego i jego przemiany w kwas nikotynowy. Być może, reakcje demetylacji i transmetylacji szczególnie sprzyjają procesom wzrostowym korzeni. Na ten fakt zwrócono uwagę już poprzednio i szczegółowo omówiono możliwość przebiegu tego typu reakcji (8).

2. Jak wiadomo, kwas nikotynowy jest składnikiem ważnych koenzymów oddechowych (NAD, NADP). Trygonelina ulegając przemianie w kwas nikotynowy zasilaby ogólną pulę tego ostatniego związku w komórce roślinnej. Nie jest wykluczone, że łatwość przemiany trygoneliny w kwas nikotynowy może sprzyjać tworzeniu prekursorów związków indolowych. Kwas nikotynowy jest bowiem prekursorem tryptofanu (14), z którego tworzy się kwas β -indolilo-3-ocowy, powszechnie znany aktywator wzrostu roślin. Zagadnienie to wymaga jednak osobnego opracowania i dostarczenia odpowiednich dowodów eksperymentalnych.

Należy podkreślić, że funkcje fizjologiczne trygoneliny, jak wynika z przeprowadzonych badań, mają raczej charakter wtórny.

WNIOSKI

1. Potwierdzono wyniki poprzednich badań (8), że trygonelina zastępuje amid kwasu nikotynowego w procesie wzrostu izolowanych korzeni wyki. Trygonelina wykazuje zatem właściwości substancji wzrostowej korzeni.

2. Działanie trygoneliny, podobnie jak amidu kwasu nikotynowego przejawia się stymulacją wzrostu korzeni na długość i przyrostów ich świeżej masy zarówno podczas „krótkotrwałych” okresów wzrostu (11 i 9 dni), jak i w okresach „długotrwałego” wzrostu (60 dni).

3. Działanie trygoneliny jest raczej wtórne, a jej aktywność warunkuje łatwe przejście w kwas nikotynowy poprzez reakcję demetylacji.

PIŚMIENNICTWO

1. Addicott F. T.: Effect of Root-Growth Hormones on the Meristem of Excised Pea Roots. Bot. Gaz., 102, 1941.
2. Addicott F. T., Bonner J.: Nicotinic Acid and Growth of Isolated Pea Roots. Science, 88, 1938.
3. Addicott F. T., Devirian P. S.: A Second Growth Factor for Excised Pea Roots. Nicotinic Acid. Am. J. Bot., 26, 1939.
4. Blaim K.: Der Abbau von Trigonellin zu Nicotinsäure in keimenden Samen. Naturwiss., 47, 1960.
5. Blaim K.: Einfluss der Wurzeln auf die Trigonellinsynthese bei *Coffea arabica*. Experientia, 16, 10, 1960.
6. Blaim K.: Studia nad procesami biochemicznymi i znaczeniem fizjologicznym trygoneliny. RNR, seria A, t. 85, z. 2, 1962.
7. Blaim K.: O występowaniu betain i choliny w nasionach. RNR, seria A, t. 86, z. 3, 1962.
8. Blaim K., Gawroński E.: Trigonelline as Root Growth Substance. Bull. Acad. Polon. Sc. Sér. sc. biol. cl. V, vol. XI, 8, 1963.
9. Bonner J.: Specificity of Nicotinic Acid as a Growth Factor for Isolated Pea Roots. Plant Physiol., 15, 1940.
10. Bonner J., Addicott F. T.: Cultivation *in vitro* of Pea Roots. Bot. Gaz., 99, 1937.
11. Bonner J., Devirian P. S.: Growth Factor Requirements of Four Species of Isolated Roots. Am. J. Bot., 16, 1939.
12. Gautheret R. J.: La Culture des tissus végétaux. Techniques et réalisations. Masson, Paris 1959.
13. Geissbüchler H.: Untersuchungen über die Korrelative und Hormonale Steuerung der Seitenwurzelbildung. Schweiz. Bot. Gesell. Ber., 63, Ref. 1953.
14. Opieńska-Blauth J., Charęziński M.: Tryptofan i jego przemiany. Post. Biochem., X, 2, 1964.
15. Wanner H., Blaim K.: Ein Beitrag zur Biosynthese und Physiologie von Koffein und Trigonellin bei *Coffea arabica*. Planta, 56, 5, 1961.
16. White Ph. R.: A Handbook of Plant Tissues Culture. The Jacques Catell Press, Lancaster, 1943.
17. White Ph. R.: Vitamin B₆, Nicotinic Acid, Pyridine, Glycine and Thiamin in the Nutrition of Excised Tomato Root. Am. J. Bot., 27, 1940.

РЕЗЮМЕ

Настоящая работа является продолжением исследований над влиянием тригонеллина на рост отрезанных и пассажированных корней вики (*Vicia sativa* L.) во время „кратковременных” периодов роста (11 или 9 дней), а также в период „долговременного” роста (60 дней). Изолированные отрезки корней развивались в 100 мл колбочках Эрленмайера, в которые было прибавлено 35 мл соответственно модифицированной жидкой питательной среды, приготовленной по методу Уайта (17). Применялись следующие модификации питательных сред: с прибавлением 0,5 мг/л амида никотиновой кислоты; с прибавлением 0,5 мг/л тригонеллина, а также без этих прибавлений. Корни культивировались в полной темноте, в термостате, при температуре 26°. На основании полученных результатов, сопоставленных в табл. 1 и представленных на рис. 1 и 2, автор пришел к следующим заключениям:

1. Подтвердились результаты предыдущих исследований, что тригонеллин замещает амид никотиновой кислоты во время процесса роста изолированных корней вики. Следовательно тригонеллин обнаруживает свойства ростового вещества корней.

2. Действие тригонеллина проявляется в стимулировании роста корней на длину и в приростах свежей массы, подобно тому как действует амид никотиновой кислоты во время „кратковременных” периодов роста (11 и 9 дней), и в период „долговременного” роста (60 дней).

3. Действие тригонеллина является скорее вторичным, а его активность обусловлена более легким переходом в никотиновую кислоту через реакцию деметилиции.

SUMMARY

The paper presents further investigations concerning the influence of trigonelline on the growth of isolated and passaged roots of vetch (*Vicia sativa* L.) during a short-growth period (11 or 9 days) and a long-growth period (60 days). Isolated segments of roots were grown in 100 ml Erlenmeyer flasks containing 35 ml. of nutrient solution after White. The following types of nutrient solutions were used: nutrient solution with 0.5 mg/l of nicotinic acid amide, nutrient solution with 0.5 mg/l of trigonelline and nutrient solution free of either of them. The roots were cultured in darkness in a thermostat at a temperature of 26°C. The results obtained and listed in Table 1 and Figs. 1 and 2 may be summarized as follows.

1. The present observations confirm those made in the previous paper (8) that the action of trigonelline is analogous to that of nicotinic acid amide as far as the growth of isolated vetch roots is concerned. Trigonelline may be considered a root growth substance.

2. The activity of trigonelline may be shown by the increase in the length of roots as well as by that of their fresh weight, both during the short-growth period and long-growth period.

3. The activity of trigonelline is rather secondary; it is possible due to an easy transformation of nicotinic acid through the demethylation process.