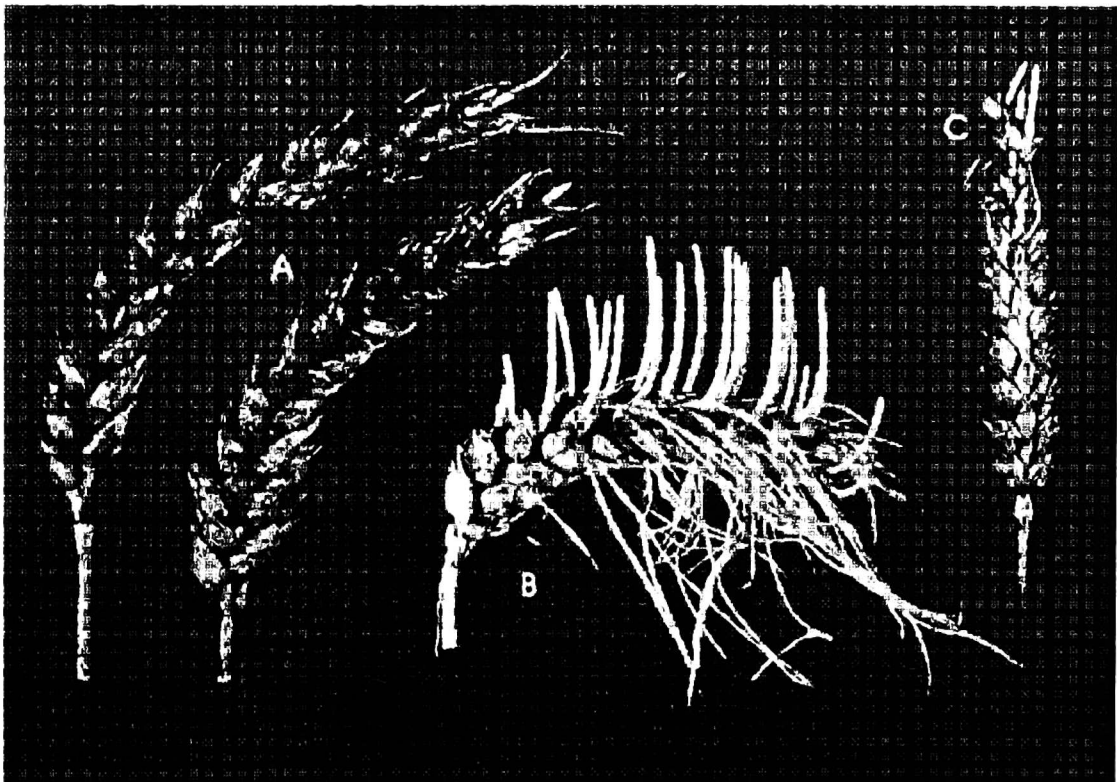


STANISŁAW WEIDNER
Akademia Rolniczo-Techniczna w Olsztynie

II. PRZEDSPRZĘTNE PORASTANIE ZIARNIAKÓW ZBÓŻ I JEGO REGULACJA

Zboża są głównym pośrednim lub bezpośrednim źródłem żywności dla większości ludzi na świecie. Roczna produkcja podstawowych zbóż, takich jak: kukurydza, pszenica i ryż jest szacowana na blisko 1 bilion ton. Również inne zboża, takie jak: jęczmień, owies, sorgo, żyto i proso mają ważny udział w światowej gospodarce żywnościowej.

Ziarniaki zbóż takich jak: pszenica, żyto i pszenżyto są zdolne do kiełkowania, znajdując się jeszcze w kłosach. Ziarniaki oplewione, np. jęczmień i owies, charakteryzują się zwykle znacznie mniejszą zdolnością do porastania. Kiełkowanie czasami występuje zaraz po sprzęcie, gdy powiązane snopki zostają silnie zmoczone przez deszcz. We wszystkich tych przypadkach, gdy porastanie ma miejsce na roślinach znajdujących się jeszcze na polu, nazywane jest przedsprzętnym porastaniem. Jest ono zjawiskiem, które w niektórych latach jest przyczyną wielkich strat w przemyśle rolno-spożywczym. Zaawansowane stadium porastania ziarniaków pszenicy w kłosach jest przedstawione na rys. 1.



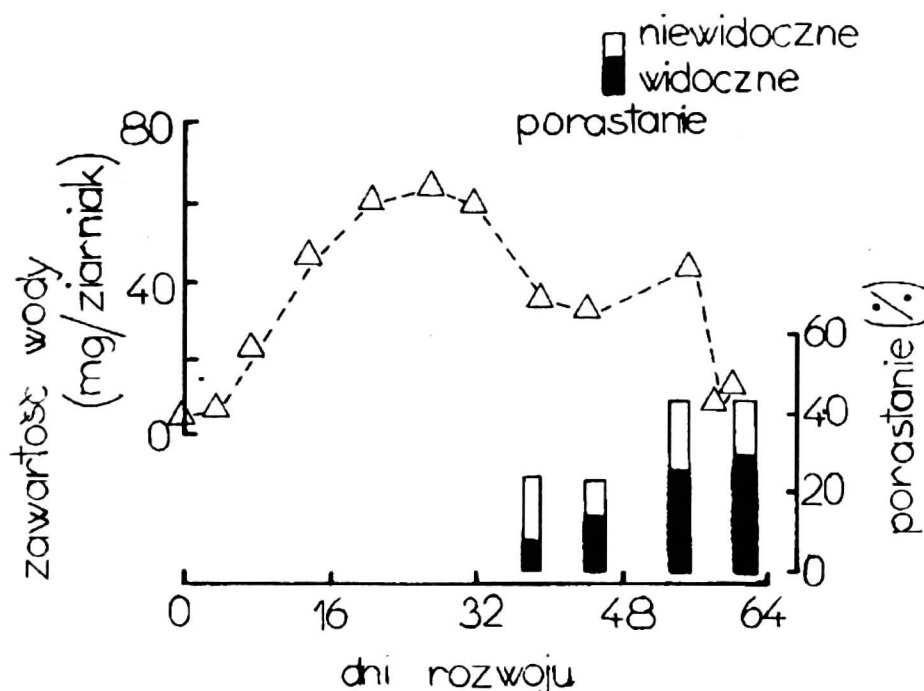
Rys. 1. Porastanie pszenicy w kłosach. Kłos B wykazuje bardzo zaawansowany przypadek porastania, indukowany w laboratorium. Kłos ten byłby również podatny na porastanie w warunkach polowych, lecz proces kiełkowania nie byłby tak rozległy. Kłos po prawej stronie (C) wykazuje porastanie, jakie często spotyka się na polu. W celu porównania zamieszczono dwa nieporośnięte kłosy (A).

Okres i warunki, w których występuje porastanie przedsprętne

Porastanie przedsprętne występuje w warunkach wilgotnych – deszczowych w wielu regionach świata – Europa, Północna i Południowa Ameryka, Australia i Nowa Zelandia.

Rozmiar porastania różni się w zależności od gatunku, odmiany, czynników środowiskowych i troficznych. W wielu krajach rutynowo klasyfikuje się odmiany zbóż w zależności od podatności na porastanie w warunkach lokalnych. Należy się spodziewać, że zboża w rejonach, gdzie podczas rozwoju i dojrzewania ziarniaków jest ciepło i sucho, nie będą ulegać porastaniu, ale w rejonach chłodnych i wilgotnych istnieje takie ryzyko. Ze względu na to, iż warunki meteorologiczne zmieniają się z roku na rok, zbiory w niektórych latach mogą całkowicie być pozbawione szkód wywołanych porastaniem, podczas gdy w innych latach straty mogą być bardzo duże.

Okres, w którym porastanie może występować, jest szeroki, ciągnie się od 2–3 tygodnia po zapyleniu, aż do sprzętu [65]. Dlatego porastanie nie jest ograniczone do suchych ziarniaków, ale występuje również, gdy zawartość w nich wody jest jeszcze wysoka. Było to widoczne np. podczas zbiorów w 1977 roku w Wielkiej Brytanii (rys. 2), gdzie wysoki poziom porastania był obserwowany w tzw. fazie dojrzałości



Rys. 2. Okres występowania procesu porastania ziarniaków pszenicy w kłosach – południowo-wschodnia Anglia 1977 rok. Na rysunku przedstawiono również zawartość wody w ziarniakach (Δ ----- Δ). W tekście wyjaśniono terminy – porastanie widoczne oraz niewidoczne. Według Mitchella i wsp. [38].

woskowej – przy zawartości wody w ziarniakach ok. 45 %. Na rysunku przedstawiono dwa rodzaje porastania – widoczne (ciemne pola) oraz niewidoczne (jasne pola). Pierwsza kategoria dotyczy ziarniaków, w których występuje wzrost zarówno korzeni, jak i koleoptyli – jest to typowe kiełkowanie ziarniaków. W porastaniu

niewidocznym nie występuje wzrost korzenia zarodkowego i choć obserwuje się elongację koleptyla, nie jest on w stanie wydostać się spod okrywy owocowo-nasiennej i wzrasta pod nią. Dlatego nie jest natychmiast widoczne, że ziarniaki wykiełkowały, i tylko dokładne badanie ujawnia występowanie zjawiska.

Porastanie ziarniaków jest zjawiskiem negatywnym i takie ziarniaki nie zostaną zakupione do przemiału, chociaż mogą być przeznaczone na paszę. Główną wadą porośniętych ziarniaków jest stosunkowo wysoka zawartość enzymu α -amylazy. Enzymatyczna hydroliza skrobi przez ten enzym postępuje w porośniętych ziarniakach, ale ponieważ enzym znajduje się również w mące wyprodukowanej z tych ziarniaków, proces hydrolizy jest kontynuowany podczas fermentacji ciasta i wypieku, co powoduje wytwarzanie niepożądanego ilości monosacharydów. Jakość mąki pod kątem jej przydatności do wypieku chleba jest poważnie obniżona, ponieważ bochenek ma kleisty miękisz i ciemno zabarwioną skórę, co jest wynikiem karmelizacji monosacharydów. Powszechne w zachodniej Europie i USA linie produkcyjne do masowej produkcji chleba krojonego są zatrzymywane, gdy tnące ostrza nie mogą sobie poradzić z gumowato-kleistą strukturą chleba. Zrozumiałe jest, dlaczego w młynach odrzuca się ziarniaki nawet w niewielkim stopniu porośnięte. Pewne odmiany pszenicy mają jednak wysoki poziom α -amylazy, nawet gdy nie są wrażliwe na porastanie. Cecha ta może być wykryta podczas przeprowadzania rutynowych testów nadchodzących partii ziarniaków oferowanych do zakupu.

Występowanie porastania przedsprzętnego na świecie oraz związane z nim straty

Rozmiar problemu zostanie zilustrowany kilkoma przykładami. W Australii, gdzie w uprawie przeważają białoziarniste odmiany pszenicy, np. w 1969 r. tylko w północnej Nowej Południowej Walii zostało uszkodzone przez porastanie 1,8 miliona ton ziarniaków. Chociaż większość uszkodzeń porostowych w USA występuje na terenach, gdzie uprawia się białoziarniste odmiany pszenicy, czyli na północno-zachodnim wybrzeżu i w stanie Idaho (czego rezultatem było wstrzymanie importu pszenicy z tych rejonów do Japonii w 1977 r.), to czasami występuje również w stanach położonych na terenach równinnych od Teksasu do Północnej Dakoty. Na przykład w Nebrasce w 1977 r. około 12% pszenicy czerwonoziarnistej i 19% pszenicy durum uległo uszkodzeniom porostowym. Przedsprzętne porastanie uważane jest za najważniejszy problem dla hodowców pszenicy w północnych rejonach Brazylii i powoduje wielkie straty. W Europie niekorzystny był rok 1977, w dużym stopniu dotyczyło to południowo-wschodniej Anglii, gdzie średni poziom porastania wynosił ok. 19%. W Polsce porastanie żyta może wynosić średnio 15–20%. Ogólnie u zbóż wg szacunkowej oceny corocznie 5–10% wyprodukowanego ziarna wykazuje mniej lub bardziej zaawansowane uszkodzenia porostowe.

Wymierne straty związane z przedsprzętym porastaniem ziarniaków pszenicy w trzech wybranych krajach europejskich przedstawiono w tabelach 1, 2 i 3.

Tabela 1

Porastanie ziarniaków pszenicy ozimej w Wielkiej Brytanii [14]

Rok	Produkcja (mln ton)	Wartość (mln \$)	Straty (mln \$)
1977	4,7	643,7	25,1
1985	15,0	2925,0	108,9
1987	13,9	2700,0	113,8

Tabela 2

Porastanie ziarniaków pszenicy w Republice Federalnej Niemiec [14]

Rok	Produkcja (mln ton)	Wartość (mln \$)	Straty (mln \$)
1981	8,2	1640,6	48,1
1985	9,8	1951,2	41,6
1987	10,0	1985,4	72,2

Tabela 3

Porastanie pszenicy ozimej i jarej w Finlandii [14]

Rok	Produkcja (mln ton)	Wartość (mln \$)	Straty (mln \$)
A. Pszenica jara			
1978	0,2	112	16,0
1981	0,2	112	9,4
1984	0,4	236	5,7
1986	0,5	261	6,8
1987	0,3	139	21,6
B. Pszenica ozima			
1978	0,04	20,0	0,9
1981	0,03	17,7	16,1
1987	0,03	16,5	12,0

Na podstawie danych przedstawionych przez N. F. Dererę w wykładzie otwierającym Piąte Międzynarodowe Sympozjum nt. Przedsprzętnego Porastania Ziarniaków Zbóż należy sądzić, że straty wywołane porastaniem przedsprzętnym w Polsce są bardzo duże i możliwe do oszacowania. Tylko dla pszenicy straty poniesione przez producentów w ciągu jednego niekorzystnego roku mogą wynosić 92 mln \$, a dla żyta 64 mln \$. Na świecie w ciągu ostatnich 10 lat porastanie przedsprzętne występowało w głównych rejonach uprawy pszenicy 3 lub 4 razy. Należy podkreślić, że rok 1987 był wyjątkowo niekorzystny we wszystkich badanych regionach. Przeciwdziałać temu zjawisku można między innymi przygotowując takie odmiany zbóż, które wytrzymają wilgotne warunki klimatyczne w końcowym okresie dojrzewania ziarniaków. Szczególnie ważne jest to np. dla północnej Japonii czy północnej Skandynawii, regionów, w których uprawa zbóż odbywa się na granicy warunków klimatycznych możliwych do ich uprawy.

Występowanie porastania przedsprzętnego ziarniaków zbóż zostało przedstawione na mapie świata (rys. 3). Autorowi (N. F. Derera) nie udało się jednak uzys-



Rys. 3. Mapa świata pokazująca regiony występowania przedsprężnego porastania ziarniaków zbóż [14].

kać informacji na temat porastania ze wszystkich rejonów uprawy zbóż na świecie. Najważniejsze braki dotyczą Chin, Rosji, Ukrainy i Argentyny, gdzie, jak możemy przypuszczać, porastanie ziarniaków zbóż nie jest problemem w sensie ekonomicznym.

Fizjologia i biochemia porastania przedsprężnego ziarniaków zbóż

Porastanie przedsprężne występuje, ponieważ ziarniaki zbyt łatwo ulegają kiełkowaniu. Podczas rozwoju nasion okres spoczynku ma miejsce zwykle pomiędzy rozwojem zarodków i samym kiełkowaniem. Czynniki regulujące, które narzucają spoczynek, są jednak mało poznane.

Należy podkreślić, że prawdziwego postępu w rozwiązywaniu problemu porastania możemy oczekiwać wtedy, gdy będziemy dysponować pełniejszą wiedzą na temat biochemicznych podstaw spoczynku. Dopiero gdy zrozumiemy mechanizm spoczynku, możliwa będzie jego regulacja.

Do tej pory mechanizm, dzięki któremu nasiona uwalniane są ze stanu spoczynku, nie został poznany, choć znanych jest wiele czynników stymulujących np.: niskie temperatury, zmieniające się temperatury, światło, suche przechowywanie nasion po zbiorze, hormony roślinne oraz wiele innych związków. Zostały one zidentyfikowane jako czynniki przerywające spoczynek. Zaproponowano wiele hipotez powiązanych z działaniem wymienionych czynników. Do hipotez tych należy zaliczyć – równowagę pomiędzy stymulatorami i inhibitorami [2], aktywację cyklu fosforanów pentoz [52], stymulację oddychania alternatywnego [18, 19, 20, 73] oraz wywoływa-

nie zaburzeń w błonach [10]. W ostatnich latach nastąpił znaczny postęp w badaniach dotyczących wyżej wspomnianych hipotez. Część zagadnień została wyjaśniona, np. wykazano, że wapń pośredniczy w stymulacji kiełkowania wywołanego przez światło, udowodniono na podstawie studiów genetycznych hamującą rolę kwasu abscyzynowego oraz potwierdzono rolę zmian struktur błonowych i ich funkcji w procesie przerywania spoczynku nasion [10, 30, 59, 64]. Powstały też nowe hipotezy oraz niektóre – jak np. aktywację cyklu fosforanów pentoz – odrzucono [10]. Hipoteza ta została szczegółowo opisana we wcześniejszej publikacji [64]. Z badań Weidnera [66] wynika również, że usunięcie zewnętrznego *pericarpium* silnie stymuluje procesy kiełkowania niedojrzałych ziarniaków, natomiast niewielki wpływ stymulujący wywołuje nacinanie ziarniaków w pobliżu zarodka, co świadczy, że hipoksja, czyli niedotlenienie zarodka, nie jest lub nie jest główną przyczyną spoczynku ziarniaków zbóż.

	ROZWÓJ			KIEŁKOWANIE	WZROST
„HISTO- RÓŻNICOWANIE”	DOJRZE- WANIE	ODWODNIENIE	SUCHE NASIONA		
PODZIAŁY KOMÓRKOWE		ZMNIJSZONY METABOLIZM	SPOCZYNEK WZGLĘDNY (dojrzałe suche nasiona)	WZNOWIONY METABOLIZM (oddychanie, synteza kwasów nukleinowych i białek)	ROZPAD SUBSTANCJI ZAPASOWYCH
	ROZRAS- TANIE SIĘ KOMÓREK			ELONGACJA KOMÓREK	
					PODZIAŁY KOMÓREK
	AKUMULACJA SUBSTANCJI ZAPASOWYCH		SPOCZYNEK BEZ- WZGLĘDNY (czasami)		
STAN BRAKU TOLERANCJI NA ODWODNIENIE					STAN BRAKU TOLERANCJI NA ODWOD- NIENIE
		STAN TOLERANCJI NA ODWODNIENIE			

Rys. 4. Zmiany fizjologiczne związane z rozwojem nasion, kiełkowaniem i wzrostem.

Zmiany fizjologiczne podczas rozwoju nasion, kiełkowania i wzrostu przedstawiono na rys. 4. Pierwsza faza, różnicowanie się tkanek (lub początkowa morfogeneza) rozpoczyna się od zapylenia i gwałtownego podziału komórek prowadzącego do sformowania osi zarodkowej i tkanek, których zadaniem jest akumulacja materiałów zapasowych [1]. Następnie występuje faza dojrzenia lub ekspansji – rozrastania się komórek, podczas której następuje znaczny wzrost masy nasion. Elongacja komórek występuje w okresie, gdy ma miejsce akumulacja materiałów zapasowych. Trzecią i ostatnią fazą jest odwodnienie, które charakteryzuje się ogólnym zmniejszeniem aktywności metabolicznej w nasionach na skutek zmniejszenia zawartości wody. Następnie nasiona przechodzą w stan spoczynku względnego, a czasami w stan spoczynku bezwzględnego. Należy podkreślić, że ostatnia faza jest charakterystyczna dla roślin klimatu umiarkowanego, lecz niekoniecznie musi występować u roślin tropikalnych.

Po imbibicji wody przez dojrzałe nasiona następuje reaktywacja systemów metabolicznych i wznowienie syntezy nowych związków, co prowadzi do ekspansji (elongacji korzenia zarodkowego) i podziałów komórkowych oraz powstania siewki. Mobilizacja materiałów zapasowych jest przygotowaniem do późniejszych procesów oraz ilościowych i jakościowych zmian enzymów katabolicznych, szczególnie w organach zapasowych (np. bielmo, obielmo, liścień).

Podczas rozwoju nasion metabolizm wielu komórek jest ukierunkowany na intensywną syntezę materiałów zapasowych, takich jak białka, tłuszcze i sacharydy, podczas gdy odwrotny proces – katabolizm materiałów zapasowych, prowadzi do kiełkowania. U większości nasion okres odwodnienia występuje pomiędzy rozwojem i kiełkowaniem (rys. 4). Logiczny wydaje się wniosek, że utrata wody w nasionach odgrywa pewną rolę w „przełączeniu” aktywności komórkowej z programu związanego z rozwojem na program z kiełkowaniem i wzrostem.

Istotność odwodnienia dla nabycia cech zdolności do kiełkowania została dobrze udokumentowana w badaniach przeprowadzonych na ziarniakach zbóż [37]. Już w 1852 roku Duchartre [15] zauważył korzystny wpływ suszenia na późniejsze kiełkowanie ziarniaków żyta, pszenicy oraz jęczmienia. Harlan i Pope [21] wykazali, że ziarniaki jęczmienia mogą kiełkować już w 5 dni po kwitnieniu, jeżeli poddane zostaną suszeniu. Podobne wyniki uzyskano, kiedy poddano kiełkowaniu niedojrzałe ziarniaki żyta i pszenicy [59, 68, 69, 70].

Okazuje się, że nasiona nie tolerują odwodnienia we wszystkich stadiach swego rozwoju. W szczególnym okresie swojego rozwoju (rys. 4) mogą one ulegać przejściu ze stanu braku tolerancji na odwodnienie do stanu tolerancji.

Jakie zmiany występują w obrębie nasienia podczas krótkiego okresu rozwoju, gdy następuje przejście od stanu braku tolerancji na odwodnienie do stanu tolerancji? Sugeruje się, że błony odgrywają kluczową rolę w tym przejściu [12, 53]. Szczególnie związane z nabyciem tolerancji na odwodnienie są zmiany w ich strukturze i składzie chemicznym (np. stopień nienasylenia kwasów tłuszczowych).

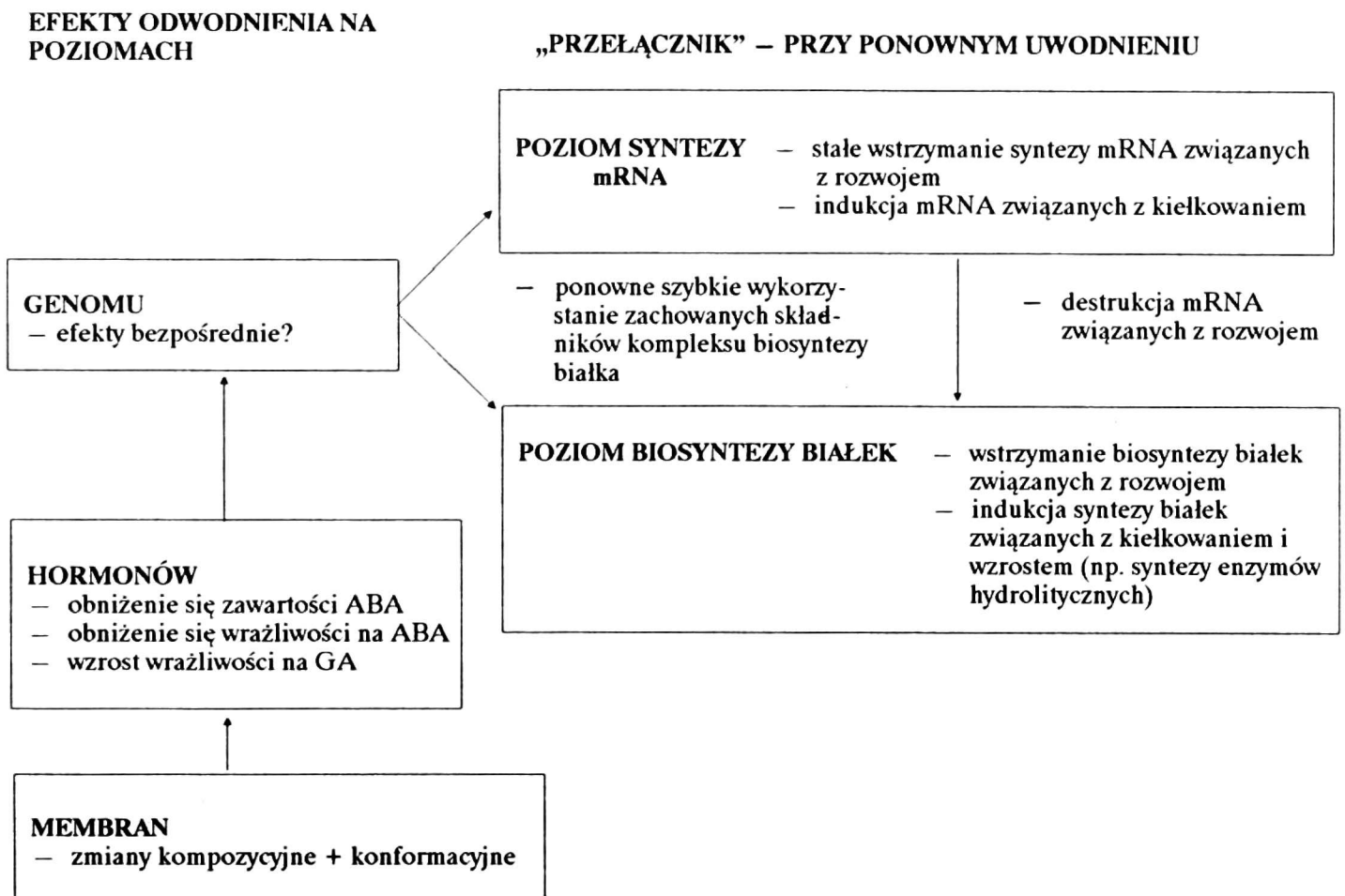
Wytwarzanie α -amylazy przez warstwę aleuronową w ziarniakach zbóż nie może wystąpić w odpowiedzi na działanie kwasu giberelinowego, aż do okresu dojrzewania ziarniaków połączonego z ich odwodnieniem lub gdy w sposób sztuczny zmniejszona zostanie zawartość wody w niedojrzałych ziarniakach [3, 6, 60]. Wrażliwość na kwas giberelinowy jest osiągnięta tylko wtedy, gdy warstwa aleuronowa rozwijających się ziarniaków pszenicy jest odwodniona do zawartości wody $<25\%$ [3]. Zdaniem Normana i wsp. [46] w celu wyjaśnienia natury wymagań odnośnie do odwodnienia ziarniaków (do wspomnianej krytycznej zawartości wody) należy odwołać się do mechanizmu związanego ze zmianami chemicznymi w błonach oraz najprawdopodobniej zmianami receptorów hormonalnych w tych błonach.

Jest więc oczywiste, że naturalne lub sztuczne odwodnienie niedojrzałych ziarniaków może odgrywać istotną rolę w zmianie metabolizmu związanego z rozwojem na metabolizm kiełkowania.

Kwas abscyzynowy (ABA), syntetyzowany w obrębie samego zarodka lub otaczających go tkankach, w dużym stężeniu odgrywa istotną rolę w hamowaniu procesów kiełkowania przez umożliwienie zachodzenia przemian związanych z rozwojem

lub dojrzewaniem nasion [11, 35, 58, 62, 63]. Odwodnienie może wpływać na zmianę równowagi pomiędzy stymulatorami i inhibitorami w nasionach. Naturalne odwodnienie ziarniaków zbóż wzmacnia w nich rozpad kwasu abscyzynowego [31]. Mniejszą wagę przywiązuje się jednak do wpływu dehydratacji na poziom hormonów niż do wrażliwości nasion na ABA [62], czego efektem jest utrata zdolności reagowania na ten hormon (prawdopodobnie na skutek zmian w konformacji lub poziomie receptorów hormonalnych).

Do zmian w błonach odwoływano się często próbując wyjaśnić wrażliwość warstwy aleuronowej ziarniaków zbóż na kwas giberelinowy po odwodnieniu [30]. Odwodnienie pozwala na indukcję syntezy α -amylazy. Według Normana i wsp. [46] początkowo błony w odpowiedzi na odwodnienie (w celu utrzymania stanu funkcjonalnego) podlegają przestrzennemu dostosowaniu do ich lipidów. Następnie zachodzą trwałe zmiany w konformacji składników błon. Przemiany, które nie są możliwe podczas stadium braku tolerancji na odwodnienie w okresie rozwoju, prowadzą do zmian we wrażliwości na hormony (np. na GA₃ – prawdopodobnie przez przyłączenie lub odsłonięcie odpowiedniego miejsca receptorowego), co pozwala na ujawnienie ich stymulującej działalności. „Hipoteza membranowa” może być zastąpiona „hipotezą – ABA”, jeżeli receptor(y) dla tego hormonu jest związany z błoną. Aktualnie w związku ze zbyt małą liczbą badań trudno jest całkowicie odrzucić jedną lub drugą hipotezę. Podsumowanie możliwych poziomów regulacji przez odwod-



Rys. 5. Możliwe poziomy regulacji przejścia nasion z fazy rozwoju do fazy kiełkowania wywołane przez przedwczesne lub naturalne odwodnienie rozwijających się nasion [30].

nienie (konsekwencją czego jest „przełączenie” metabolizmu nasion z rozwoju na kiełkowanie) przedstawiono na rys. 5.

W ostatnich latach badania nad rolą ABA w regulacji rozwoju i dojrzewania zarodka oraz zapobieganiu przedwczesnemu kiełkowaniu morfologicznie dojrzałych, lecz niedojrzałych fizjologicznie ziarniaków zbóż zostały w znacznym stopniu rozwinięte [21, 39, 67].

Wpływ ABA na niedojrzałe ziarniaki jest dwojakiego rodzaju. Po pierwsze hormon wstrzymuje ekspresję genów „specyficznych dla kiełkowania”, mianowicie tych, które ulegają ekspresji w obecności GA [72], co może zapobiegać przedwczesnemu kiełkowaniu. Po drugie ABA indukuje ekspresję genów „embriogenicznych”. Niektóre z nich mogą być niezbędne dla dojrzewania zarodków [72]. Pomędzy zidentyfikowanymi białkami, które akumulują się w zarodku w odpowiedzi na ABA, możemy wyróżnić aglutyniny zarodka pszenicy [56], lektyny ryżu [48] oraz globulinowe białka zapasowe 7S [72]. Jednakże ani miejsce lokalizacji tych białek w zarodku, ani miejsce(a) czy też poziom(y) działania ABA nie zostały zdefiniowane. Ten dwojaki wpływ ABA może być również obserwowany w warstwie aleuronowej izolowanej z dojrzałych ziarniaków, gdzie omawiany hormon nie tylko hamuje ekspresję genów kodujących białka indukowane przez GA, włączając w to (1–3, 1–4) – β -glukanazę i α -amylazę, ale również podnosi poziom indukowanych przez ABA specyficznych białek [26, 34, 42, 44, 61]. Jednym z indukowanych przez ABA białek w warstwie aleuronowej jęczmienia jest inhibitor endogennej α -amylazy [43, 45, 71]. Białko to hamuje aktywność α -amylazy, która może być syntetyzowana podczas kiełkowania niedojrzałych ziarniaków. Jak z tego wynika, aktywność α -amylazy może być regulowana przez ABA nie tylko na poziomie transkrypcyjnym. ABA wpływa również na aktywność istniejących enzymów. Nie zidentyfikowano innych białek indukowanych przez ABA w warstwie aleuronowej. Mogą to być inhibitory kluczowych enzymów w procesie kiełkowania i białka związane z dojrzewaniem warstwy aleuronowej lub ochroną ziarniaków przed czynnikami chorobotwórczymi.

Obecnie przedstawiane mechanizmy spoczynku w ziarniakach zbóż oparte są na regulacji kiełkowania przez inhibitory działające samodzielnie lub w kombinacji. Inhibitory, które narzucają spoczynek ziarniakom, skupione są głównie w okrywie owocowo-nasiennej. Oprócz ABA wymienia się również inne inhibitory, np. fenole, aminokwas tryptofan i kumaryny [5, 32, 41, 47, 64]. Jednakże korelacja pomiędzy koncentracjami inhibitorów w nasionach i spoczynkiem okazała się nieuchwytna.

Ponieważ ABA hamuje transkrypcję wielu genów uaktywnianych przez GA, względne poziomy ABA i GA mogą regulować spoczynek nasion. Jednakże dowody otrzymane w badaniach nad mutantami wykazującymi deficyt ABA i GA kwestionują tę hipotezę [28]. Mutanty z deficytem GA wytwarzają spoczynkowe nasiona i usunięcie tego spoczynku (podobnie jak w dzikich odmianach nasion) wymaga przedłużonego okresu przechowywania lub chłodzenia poddanych imbibicji nasion [28].

ABA jest konieczny do indukcji spoczynku w nasionach. Mutanty *Arabidopsis* z deficytem ABA w zarodku lub niewrażliwe na ABA podczas rozwoju wytwarzają nasiona niezdolne do spoczynku [27, 28]. Gdy ABA jest usunięty z pożywki, na której poddaje się hodowli izolowane zarodki zbóż, obserwuje się proces przedwczesnego kiełkowania [49, 63]. Inne dowody wskazujące na to, że ABA w zarodkach musi być obecny w celu indukcji spoczynku, zostały dostarczone wraz z zastosowa-

niem inhibitora blokującego akumulację ABA w zarodkach (fluridone) podczas rozwoju zarodków kukurydzy [25].

Rola ABA w utrzymywaniu spoczynku jest mniej pewna. Egzogeny ABA może hamować kiełkowanie izolowanych zarodków z dojrzałych ziarniaków pszenicy, a szczególnie zarodków pochodzących z ziarniaków będących w spoczynku. Wymagana koncentracja ABA w celu zablokowania kiełkowania zarodków musi być jednak 10 do 100 razy większa dla zarodków pochodzących z ziarniaków, w których spoczynek ustąpił, niż dla zarodków pochodzących ze spoczynkowych ziarniaków [40, 57]. Nie oznacza to jednakże, że poziomy ABA w dojrzałych nasionach koreluje ze spoczynkiem nasion. W wielu badaniach wykazano, że poziomy ABA są podobne w dojrzałych nasionach będących i nie będących w spoczynku [32, 57]. Kiedy osie zarodkowe ziarniaków będących w spoczynku poddane zostaną imbibicji, występuje przedłużona i aktywna synteza indukowanych przez ABA białek [51]. Przedłużona synteza indukowanych przez ABA białek nie jest obserwowana w kiełkujących zarodkach. Ostatnie badania przeprowadzone przez Morrisa i wsp. [39] potwierdziły obecność pięciu rodzin mRNA występujących obficie w zarodkach pszenicy poddanych imbibicji, lecz zablokowanych w rozwoju przez spoczynek. Poziomy tych mRNA są utrzymywane i nawet wzrastają w zarodkach spoczynkowych ziarniaków poddanych imbibicji, lecz znikają z chwilą uruchomienia procesów kiełkowania. Wszystkie zidentyfikowane geny ulegają ekspresji pod wpływem ABA. Kawakami i Noda [29] w podobnych badaniach wykazali dwa rodzaje zmian w poziomach mRNA podczas imbibicji:

- 1) poziomy pewnej grupy mRNA nie zmieniły się podczas imbibicji spoczynkowych ziarniaków, lecz zmniejszyły się gwałtownie z chwilą ustąpienia spoczynku;
- 2) poziomy innej grupy mRNA wzrosły podczas dojrzewania ziarniaków i malały podczas imbibicji.

Podsumowując te dane należy stwierdzić, że w okresie spoczynku w poddanych imbibicji ziarniakach pszenicy obserwuje się przedłużoną ekspresję genów indukowanych przez ABA oraz, że obecność powstałych transkryptów jest ściśle związana ze stanem spoczynku.

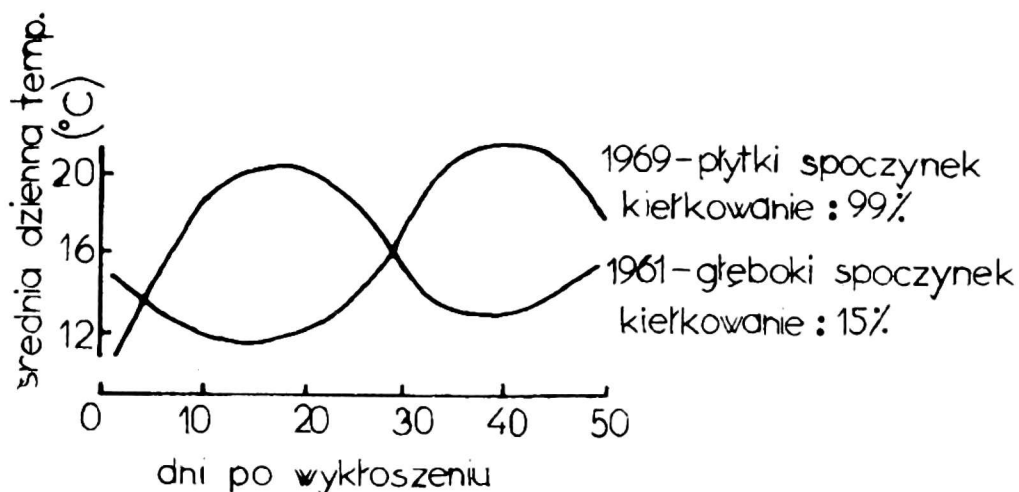
W związku z tym, że aktywność α -amylazy w ziarniakach zbóż jest powszechnie uważana za marker dla określania zjawiska przedsprętnego porostania, należy wspomnieć o różnych α -amylazach obecnych w rozwijających się, dojrzewających i kiełkujących ziarniakach. Aktywność amylolityczna została stwierdzona we wszystkich częściach rozwijających się ziarniaków w różnych stadiach rozwoju [33] i różnych formach izoenzymowych.

W badaniach na pszenicy wykazano, że istnieją przynajmniej trzy drogi, dzięki którym, może powstać wysoki poziom α -amylazy w mące [22]. Po pierwsze występuje aktywność w niedojrzałych niekiełkujących ziarniakach, po drugie aktywność jest wzbudzana, gdy ziarniaki kiełkują w następstwie zaniku spoczynku (gdy sprzęt jest opóźniony w związku z wilgotnymi warunkami atmosferycznymi) i po trzecie występuje aktywność pochodząca z przedsprętnego porostania, które ma miejsce przed wystąpieniem spoczynku. W ekspresji aktywności α -amylazy biorą udział trzy różne loci. Alfa-Amy-1 i alfa-Amy-2 kontrolują odpowiednio aktywność związaną z kiełkowaniem i wczesnym rozwojem (głównie w *pericarpium*). Alfa-Amy-3 kontrolują niedawno opisaną trzecią grupę, którą po raz pierwszy można obserwować około

11 dni po kwitnieniu (znowu głównie w *pericarpium*), a następnie zanika gwałtownie [13]. Nie jest niespodzianką, że tkanki ziarniaków różnią się ekspresją, ponieważ występują różnice w kompozycji genetycznej oraz funkcji biologicznej zarodka, bielma, zewnętrznych warstw *pericarpium* oraz okrywy nasiennej (*testa*). Nie jest również zaskoczeniem, że amylazy są obecne w każdej tkance w różnych okresach rozwoju ziarniaków. Na przykład granule skrobi w zewnętrznej przezroczystej warstwie *pericarpium* znikają już we wczesnym rozwoju ziarniaków [36], przypuszczalnie w rezultacie aktywności amylolitycznej. To samo bez wątpliwości dotyczy granul skrobi obecnych w chloroplastach w wewnętrznej zielonej warstwie *pericarpium*. Badania z użyciem mikroskopu świetlnego i elektronowego potwierdzają, że w komórkach bielma, po rozpadzie tarczki (*scutellum*) podczas wzrostu zarodka [55], są obecne aktywne enzymy amylolityczne w celu hydrolizy granul skrobiowych [16]. Zdaniem Duffusa [17] aktywność α -amylazy może nie być jedynym czynnikiem pogarszającym jakość mąki i właściwości wypiekowe. Należy brać również pod uwagę inne enzymy hydrolityczne, takie jak: lipazy, proteazy, β -amylazę, a także enzymy katalizujące rozszczepienie wiązań α -1,6 (występujące w miejscach rozgałęzień łańcucha) w amylopektynie.

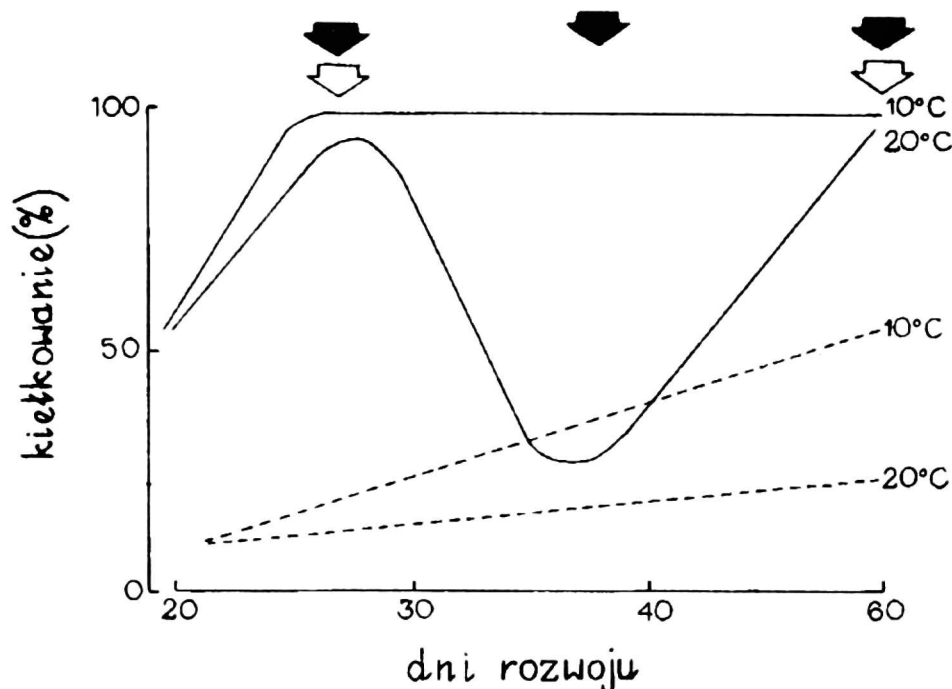
Wpływ czynników środowiskowych na występowanie porastania przedsprężonego

Głębokość spoczynku jest niewątpliwie zależna od czynników środowiskowych występujących podczas rozwoju nasion, a szczególnie od temperatury. Ziarniaki pszenicy, jęczmienia i dzikiego owsa mają głębszy spoczynek w dojrzałości pełnej, gdy rozwój odbywa się w stosunkowo niskich temperaturach (np. 10–20°C) niż gdy ma miejsce w wyższych temperaturach (np. 20–28°C). Szczególnie ważne wydają się być temperatury występujące w późniejszym okresie dojrzewania ziarniaków (rys. 6). To wyjaśnia, dlaczego podatność na porastanie dojrzałych ziarniaków jest mniejsza, gdy temperatury podczas dojrzewania są niskie.



Rys. 6. Temperatury podczas rozwoju ziarniaków jęczmienia i ich wpływ na spoczynek dojrzałych ziarniaków. Średnie dzienne temperatury podczas rozwoju i dojrzewania ziarniaków przedstawiono dla dwóch zbiorów jęczmienia. Zdolność kiełkowania określano 3 tygodnie po sprężeniu [50].

Gdy ziarniaki pszenicy badano w pewnych odstępach podczas ich rozwoju, obserwowano „profil” spoczynku różniący się w zależności od temperatury (rys. 7).



Rys. 7. Diagram obrazujący „profil” spoczynku ziarniaków pszenicy (cv. *Sappo*.) Rośliny z rozwijającymi się ziarniakami przeniesiono do dwóch różnych warunków temperaturowych: – 16 h podczas dnia w 25°C i 8 h podczas nocy w 20°C – 16 h podczas dnia w 10°C i 8 h podczas nocy w 10°C. Podczas rozwoju i dojrzewania ziarniaki w pewnych odstępach czasu usuwano z kłosów i testowano na zdolność kiełkowania w dwóch temperaturach 10°C i 20°C. Strzałki wskazują podatność na porastanie: czarne strzałki – przy kiełkowaniu w temperaturze 10°C; białe strzałki – przy kiełkowaniu w temperaturze 20°C [7].

Przede wszystkim należy wyjaśnić, dlaczego płytki spoczynek ziarniaków jest osiągnięty, jeżeli podczas rozwoju występują wyższe temperatury (20°C). Takie ziarniaki rzeczywiście wchodzi w okres spoczynku (pomiędzy 30 a 40 dniem rozwoju kiełkowanie jest niskie, gdy test przeprowadza się w temp. 20°C), który szybko przechodzi, gdyż w kłosach następuje dojrzewanie posprzętne nasion. Dojrzewanie to zachodzi, ponieważ zawartość wody w 40-dniowych ziarniakach jest niska (ok. 30–35%), a wyższa temperatura wzmacnia ten proces. Z drugiej strony ziarniaki rozwijające się i dojrzewające w temperaturze 10°C mają małą zdolność kiełkowania w wczesnym okresie rozwoju (ok. 25 dnia rozwoju) i wykazują jedynie ograniczone dojrzewanie posprzętne. Nawet w 60. dniu rozwoju wykazują one znaczny spoczynek i nie kiełkują nawet w temperaturze 10°C.

Należy podkreślić, że w naturze takie ekstremalne różnice temperatur, jakie przytoczono wyżej, nie występują, niemniej jednak indukowane temperaturą różnice w spoczynku mogą się pojawiać w mniejszym lub większym stopniu. Dlatego przedsprzętne porastanie ziarniaków zbóż zależy w dużym stopniu od indukowanego w zależności od temperatury spoczynku oraz od czynników pociągających za sobą uwolnienie nasion ze spoczynku (niskie temperatury i dojrzewanie posprzętne), co daje efekt nawet wtedy, gdy ziarniaki znajdują się jeszcze w kłosach.

Pewne kroki mogą być podjęte w celu zmniejszenia występowania procesu porastania przedsprzętne. Biorąc pod uwagę prognozę warunków atmosferycz-

nych, można czasami przewidzieć wystąpienie porastania. Można więc uniknąć późnego kiełkowania w kłosach przez sprzęt zbóż wcześniej niż zwykle. Dalej postęp hodowli może doprowadzić do wytworzenia odmian zbóż z głębszym spoczynkiem ziarniaków. Chociaż tego rodzaju ochrona przed porastaniem może mieć niepożądane konsekwencje, gdyż może to przeszkodzić w testowaniu nasion po zbiorze lub opóźnić kiełkowanie w warunkach polowych, które jest szczególnie niekorzystne dla odmian ozimych, wysiewanych jesienią. Należy więc wyraźnie podkreślić, że prawdziwego postępu odnośnie do problemów porastania możemy oczekiwać po pełnym wyjaśnieniu biochemicznych podstaw spoczynku.

Na koniec należy jeszcze wspomnieć o hipotezie, która ostatnio zyskała pewien rozgłos [17]. Zakłada ona, że podatność na porastanie i synteza α -amylazy zależy od stężenia sacharozy w zarodku oraz że mechanizm koncentrujący sacharozę w zarodku (nieobecny w towarzyszącym bielmie) jest głównym mechanizmem zabezpieczającym zarodek przed niekorzystnymi warunkami środowiska.

Przyjmuje się, że rola sacharozy polega na ochronie błon biologicznych [8]. Jednakże taka ochrona może być utracona po wykryształowaniu sacharozy, na przykład w konsekwencji powolnego suszenia. W przypadku obecności oligosacharydów, takich jak rafinoza, nie występuje krystalizacja sacharozy i fosfolipidy błon zachowują właściwości stanu uwodnionego. Ilość występującej sacharozy może również być związana z zapobieganiem uszkodzeniu błon i na przykład trawy wykazujące tolerancję na odwodnienie akumulują znacznie większe ilości cukrów niż trawy wykazujące brak tolerancji na odwodnienie [54].

W ostatnio przeprowadzonych badaniach [17] wykazano, że stężenie sacharozy występujące w dojrzewającym zarodku różni się znacznie od stężenia występującego w bielmie w tym samym stadium dojrzałości. Na przykład, w warunkach braku kiełkowania w rozwijających się ziarniakach, zarodki pszenicy akumulują sacharozę do poziomu około 10 razy większego (w przeliczeniu na suchą masę) niż bielmo i około dojrzałości pełnej zarodki zawierają w przybliżeniu 2% sacharozy. Taką samą tendencję wykazują dojrzewające zarodki kukurydzy, gdzie sacharoza akumulowana jest do poziomu aż ok. 10% końcowej suchej masy zarodka [23]. Biorąc pod uwagę zawartość wody w tkankach, koncentracja sacharozy w dojrzałych ziarniakach pszenicy jest następująca: w bielmie ok. 15 mM, a w zarodku ok. 120–150 mM [17]. Sugeruje to, tak jak wspomniano wcześniej, że tylko w zarodku (a nie w bielmie) występuje mechanizm koncentrujący sacharozę.

Poziom sacharozy, która jest dostarczana do zarodka, może być również czynnikiem regulującym kiełkowanie zarodka [16]. Oznacza to, że kiełkowanie może być powstrzymywane przez duże stężenie sacharozy.

W badaniach przeprowadzonych na rozwijających się zarodkach kukurydzy [23] oraz jęczmienia [9] wykazano, że wymagany jest dopływ energii w celu pobrania i utrzymania odpowiedniego poziomu sacharozy.

Dowody uzyskane w badaniach nad wpływem środowiska na wzrost ziarniaków [17] w pewnym stopniu popierają hipotezę, że poziom asymilatów może być czynnikiem regulującym porastanie przedsprętne. Jest więc prawdopodobne, że sacharoza jako czynnik ochrony błon biologicznych (gdy znajduje się w roztworze), może

w jakimś stopniu wpływać na inicjację procesu porastania poprzez regulację integralności systemów błon zarodkowych.

Inne problemy i hipotezy, związane z przedsprętnym porastaniem ziarniaków zbóż, omawiano w poprzedniej pracy przeglądowej pod tym samym tytułem [64]. W jeszcze wcześniejszej publikacji [61] przedstawiono aktualne poglądy dotyczące mechanizmu działania kwasu abscyzynowego w tkance roślinnej.

Literatura

- [1] Adams C. A., Rinne R. W.: *Int. Rev. Cytol.* 68, 1–8, 1980.
- [2] Amen R. D.: *Botan. Rev.* 34, 1–31, 1968.
- [3] Armstrong C., Black M., Champan J. M., Norman M. A., Angold K.: 1982. *Planta* 154, 573–577, 1982.
- [4] Bewley J. D., Black M.: *Physiology and Biochemistry of Seeds. 2. Viability, Dormancy and Environmental Control.* Springer-Verlag, Berlin, 1982.
- [5] Bewley J. D., Black M.: *Seeds: Physiology of Development and Germination.* Plenum Press, New York, 190–192, 1985.
- [6] Bilderback D. E.: *Plant Physiol.*, 48, 331–334, 1971.
- [7] Butler R., Black M.: In: *Seeds: Physiology of Development and Germination.* (Bewley J. D., Black M., eds.). Plenum Press, New York, 334–343, 1985.
- [8] Caffrey M., Fonseca V., Leopold A. C.: *Plant Physiol.* 86, 754–758, 1988.
- [9] Cameron-Mills V., Duffus C. M.: *Ann. Bot.* 43, 559–569, 1979.
- [10] Cohn M. A.: In: *Seed and Seedbed Ecology of Rangeland Plants.*, (G. W. Frasier, R. A. Evans, eds). USDA-ARS, Washington, DC, 14–20, 1987.
- [11] Crouch M. L., Sussex I. M.: *Planta*, 153, 64–74, 1981.
- [12] Dasgupta J., Bewley J. D., Yeung E. C.: *J. Exp. Bot.* 33, 1045–1057, 1982.
- [13] Daussant J., Renard M. A.: *J. Cereal Sci.* 5, 13–21, 1987.
- [14] Derera N. F.: In: *Fifth International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals* (Ringlund K., Mosleth E., Mares D. J. eds.), Westview Press, Boulder, 3–11, 1990.
- [15] Duchartre P.: *Compt. Rend. Hebd. Seanc. Acad. Sci. (Paris)* 35, 940–942, 1852.
- [16] Duffus C. M.: In: *Enzymes and Their Role in Cereal Technology.* (Kruger J. E., Lineback D., Stauffer C. E., eds.). Amer. Cereal Chem. St. Paul, M. N, 83–116, 1987.
- [17] Duffus C. M.: In: *Fifth International Symposium on Pre-Harvest Sprouting in Cereals* (Ringlund K., Mosleth E., Mares D. J., eds.), Westview Press. Boulder, (USA), 47–56, 1990.
- [18] Esashi Y., Kusuyama K., Tazaki S., Ishihara N.: *Plant Cell Physiol.* 22, 65–71, 1981.
- [19] Esashi Y., Sakai Y., Ushizawa R.: *Plant Physiol.* 67, 503–508, 1981.
- [20] Esashi Y., Wakabayas S., Tsukada Y., Satoh S.: *Plant Physiol.* 63, 1039–1043, 1979.
- [21] Fincher G. B.: *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol.* 305–346, 1989.
- [22] Gale M. D., Flintham J. E.: In: *Hagberg Falling Number and Breadmaking Quality.* (Stevens D. B., Vaideyanathan L. V., Baldwin J. H., eds.). Home-Grown Cereals Authority, Research Review No. 2. London, 63–79, 1988.
- [23] Griffith S. M., Jones R. J., Brenner M. L.: *Plant Physiol.* 84, 472–475, 1987.
- [24] Harlan H. V., Pope M. N.: *J. Her.* 13, 72–75, 1922.
- [25] Hole D. J., Smith J. D., Cobb B. G.: *Plant Physiol.* 91, 101–105, 1989.
- [26] Jacobsen J. V., Chandler P. M.: In: *Plant Hormones and Their Role in Plant Growth and Development.* Martinus Nijhoff, 164–193, 1987.
- [27] Karsen C. M.: Brinkhorst-van der Swan D., Breekland A. E., Koornneef M.: *Planta* 157, 158–165, 1983.

- [28] Karsen C. M., Lacka E.: In. *Plant Growth Substances* (M. Bopp, ed.). Springer, Berlin, 315–323, 1986.
- [29] Kawakami N., Noda K.: In. *Fifth Inter Symp. on Pre-Harvest Sprouting in Cereals*, (Ringlund K., Mosleth E., Mares D. J., eds.). Westview Press. Boulder, (USA), 47–56, 1990.
- [30] Kermode A. R., Bewley J. D., Dasgupta J., Misra S.: *Hort. Science* 21, 1113–1118, 1986.
- [31] King R. W.: *Planta* 132, 43–51, 1976.
- [32] King R. W.: In. *Preharvest Field Sprouting in Cereals* (NF Derera, ed.), CRC Press. Boca Raton. FL, 27–60, 1989.
- [33] Kruger J. E., Lineback D. R.: In. *Enzymes and Their Role in Cereal Technology*. (Kruger J. E., Lineback D., Stauffer C. E., eds.). Amer. Assoc. Cereal Chem. St. Paul, Mn, 117–139, 1987.
- [34] Lin L.-S., Ho T.-M. D.: *Plant Physiol.*, 82, 289–297, 1986.
- [35] Long S. R., Dale R. M. K., Sussex I. M.: *Planta*, 153, 405–415, 1981.
- [36] MacGregor A. W., Gordon A. G., Meredith W. O. S., Lacroix L.: *J. Inst. Brew.* 78, 174–179, 1972.
- [37] Mitchell B., Armstrong C., Black M., Chapman J.: In. *Seed Production* (P. D. Hebblethwaite ed.), Butterworths, London, 339–356, 1978.
- [38] Mitchell B., Armstrong C., Black M., Chapman J.: In. *Seed Production* (P. D. Hebblethwaite, ed.), Butterworths, London, 339–356, 1980.
- [39] Morris C. F., Anderberg R. J., Goldmark P. J., Walker-Simmons M. K.: *Plant Physiol.* 95, 814–821, 1991.
- [40] Morris C. F., Moffatt J. M., Sears R. G., Paulsen G. M.: *Plant Physiol.* 90, 643–647, 1989.
- [41] Morris C. F., Paulsen G. M.: *Cereal Chem.* 65, 404–408, 1988.
- [42] Mozer T. J.: *Cell* 20, 479–485, 1980.
- [43] Mundy J.: *Carlsberg Res. Commun.* 49, 439–444, 1984.
- [44] Mundy J., Fincher G. B.: *FEBS Lett.* 198, 349–352, 1986.
- [45] Mundy J., Rogers J. C.: *Planta* 169, 51–63, 1986.
- [46] Norman M. A., Black M., Chapman J. M.: *Planta* 154, 578–586, 1982.
- [47] Paulsen G. M., Heyne E. G.: In. *Sixth International Wheat Genetics Symposium* (S. Sakamoto, ed.), Kyoto University, Kyoto, 415–418, 1983.
- [48] Peumans W. J., Stinissen H. M.: In. *Chemical, Taxonomy, Molecular Biology, and Functions of Plant Lectins*, (I. J. Goldstein, M. E. Etzler eds.), New York: Liss, 99–116, 1983.
- [49] Quatrano R. S., Ballo B. L., Williamson J. D., Hamblin M. T., Mansfield M.: *Plant Mol. Biol.* 1, 343–353, 1983.
- [50] Reiner L., Lach U.: *Cereal Res. Commun.* 4, 107–110, 1975.
- [51] Ried J. L., Walker-Simmons M.: *Plant Physiol.* 93, 662–667, 1990.
- [52] Roberts E. H., Smith R. D.: In. *The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination* (A. A. Khan, ed.), Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, 1977.
- [53] Rogerson N. E., Matthews S.: *J. Exp. Bot.* 28, 304–313, 1977.
- [54] Schwab K. B., Gaff D. F.: *J. Plant Physiol.* 125, 257–265, 1986.
- [55] Smart M. G., O'Brien T. P.: *Protoplasma* 114, 1–13, 1983.
- [56] Triplen B. A., Quatrano R. S.: *Dev. Biol.* 91, 491–496, 1982.
- [57] Walker-Simmons M.: *Plant Physiol.* 84, 61–66, 1987.
- [58] Walton D. C.: *Israel J. Bot.* 29, 168–180, 1980/81.
- [59] Weidner S.: *Post. Nauk Roln.* 4/82, 39–52, 1982.
- [60] Weidner S.: *Acta Soc. Bot. Pol.* 53, 257–270, 1984.
- [61] Weidner S.: *Post. Nauk Roln.* 5/86, 25–45, 1986.
- [62] Weidner S.: *Acta Soc. Bot. Pol.*, 56, 287–301, 1987.
- [63] Weidner S.: *Acta Soc. Bot. Pol.*, 56, 469–483, 1987.
- [64] Weidner S.: *Post. Nauk Roln.* 1, 2/87, 13–36, 1987.

- [65] Weidner S.: *Acta Acad. Agricult. Techn. Olst., Agricultura* 45, Supp. B., Wyd. ART-Olsztyn, 1988.
- [66] Weidner S.: *Acta Soc. Bot. Pol.* 57, 481–491, 1988.
- [67] Weidner S., Deckert J., Gwóźdź E.: *Acta Physiol. Plant.* 13, 175–182, 1991.
- [68] Weidner S., Kulka K.: *Acta Soc. Bot. Pol.* 49, 423–433, 433, 1980.
- [69] Weidner S., Zalewski K.: *Hod. Rośl. Aklim.*, 26, 227–243, 1982.
- [70] Wellington P. S.: *Ann Bot.* 20, 105–120, 1956.
- [71] Weselake R. J., MacGregor A. W., Hill R. D.: *Cereal Chem.* 62, 120–123, 1985.
- [72] Williamson J. D., Quatrano R. S.: *Plant Physiol.* 86, 208–215, 1988.
- [73] Yu K. S., Mitchel C. A., Yentur S., Robitaille H. A.: *Plant Physiol.* 63, 121–125, 1979.