

JÓZEF STANISŁAW SZOPA

*Katedra Mikrobiologii Technicznej, Pracownia Surowców Przemysłu
Spożywczego Politechniki Łódzkiej*

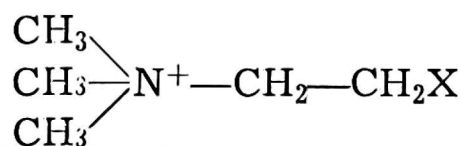
CHLOREK TRÓJMETYLOCHLOROETYLOAMONIOWY (CCC) I NIEKTÓRE INNE POCHODNE AMONIOWE JAKO REGULATORY WZROSTU ROŚLIN

Do stosunkowo dużej grupy regulatorów wzrostu roślin zaliczono ostatnio czwartorzędowe pochodne amoniowe.

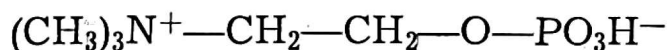
Fakt ten wynika z ich wyjątkowej i specyficznej roli oraz niewątpliwego znaczenia praktycznego. Już w 1908 r. Schreiner i Reed zauważyli, że rośliny hodowane na pożywkach w obecności bromku etylotrójmetyloamoniowego wykazywały pewne charakterystyczne reakcje. Rośliny te odznaczały się skróconą łodygą, większą powierzchnią liści, a niekiedy występowała na nich chloroza.

Wirwille i Mitchell w 1950 r. opisali sześć pochodnych amoniowych z podstawnikiem aromatycznym wywodzącym się bądź od tymolu, bądź karwakrolu, przy kationie amoniowym $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+$. Wśród tych związków na największą uwagę zasługuje chlorek 2-izopropylo-4-trójmetyloamino-5-metylo-fenilo-1-piperidynokarboksyłowy, powszechnie znany jako AMO-1618.

W 1960 r. Tolbertowi (23) znanych było około 100 związków wywodzących się od czwartorzędowych pochodnych amoniowych o ogólnej strukturze:



Zajmując się analizą związków fosforowych i ich procentową zawartością w niektórych organach roślin, Tolbert (25) stwierdził, że 30% fosforu rozpuszczalnego w korzeniach roślin, a niekiedy i w liściach, reprezentowane jest głównie w postaci fosforocholiny:



W celu zablokowania aktywności choliny w roślinach zastąpiono grupę OH atomem chloru. W ten sposób nowa cząsteczka nie mogła być estryfikowana przez grupę fosforanową. Nowy związek $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+ - \text{CH}_2 - \text{CH}_2\text{Cl}$.

• Cl^- — analog choliny otrzymał uproszczoną nazwę chlorek chlorocholiny, nazywany jest także CCC.

Jako analog choliny związek ten uważać można jako hipotetyczną esterazę podobną do tej, która występuje u zwierząt pod nazwą cholinesterazy. Jak dotąd, enzymu o podobnej strukturze nie znaleziono u roślin. Przypuszcza się jednak, że właściwości chemiczne, a z tym związana także aktywność biologiczna tych związków, uzależniona jest od obecności kationu amoniowego zawierającego trzy grupy metylowe, a ponadto od podstawnika przy łańcuchu węglowym.

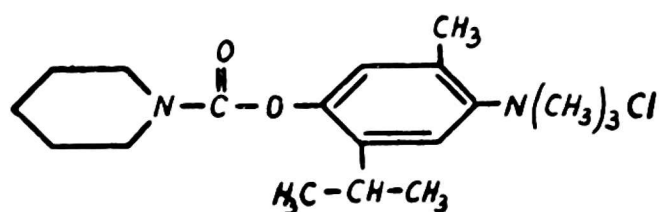
Związki, które dawały najkorzystniejsze efekty, miały podstawnik (X) albo w postaci atomu chloru, bromu, lub też grupę $=\text{CH}_2$. Własności ich zmieniały się z chwilą, gdy grupa $-\text{CH}_2\text{X}$ była karboksylową, jak w betainie, alkoholową, jak w cholinie, lub estrową, jak w fosforocholinie.

Chloropochodna choliny — chlorek trójmetylochloreoetyloamoniowy — jest obok AMO-1618 i Fosfonu D (8) przedmiotem licznych badań w zakresie oddziaływania na wzrost i związane z nim zmiany zarówno fizjologiczne, jak i biochemiczne.

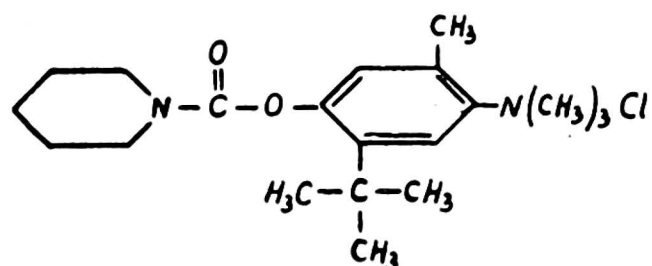
Czwartorzędowymi amoniowymi pochodnymi o podobnych właściwościach są także:

- bromek trójmetylobromoetyloamoniowy,
- bromek trójmetylobromometyloamoniowy,
- bromek trójmetylo-2-3-n-propyloamoniowy,
- bromek trójmetyloetyloamoniowy.

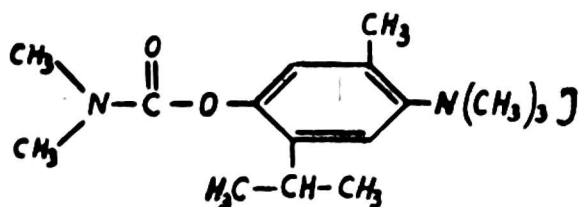
Z grupy związków o podstawniku aromatycznym przy kationie amoniowym na uwagę zasługują:



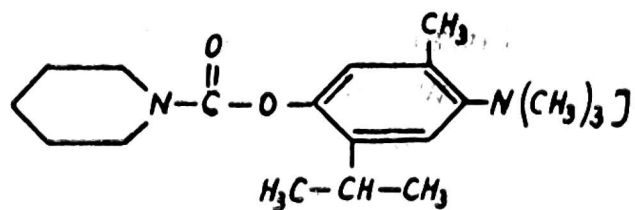
*chlorek 2-izopropyl-4-trójmetylo-
-amino-6-metylo-fenyl-1-piper-
-dynokarboksylowy - AMO-1618*



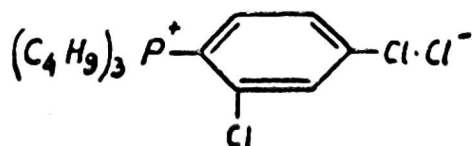
*chlorek 2-tetra-butyl-4-trójmetylo-
-amino-5-metylo-fenyl-1-piper-
-dynokarboksylowy*



*jodek 2-izopropyl-4-trójmetylo-
-amino-5-metylo-fenyl-N,N-dwu-
-metylokarbaminianu*



jodek 3-izopropyl-4-trójmetylo-
-amino-6-metylo-fenyl-1-piperi-
-dynokarbonylowy -AMO-1619



chlorek 2,4-dwuchlorobenzyl-
trybutylfosforanu - Fosfon D

W roku 1960 Halevy i Cathey (3) donieśli o nowych związkach zbliżonych budową do AMO-1618, które indukowały wzrost organów u ogórków (*Cucumis sativus* L.). Najciekawszymi z nich, w sensie wpływu na wzrost, były:

chlorek 2-izopropyl-4-trójmetyloamino-5-metylo-fenyl-N, N-dwumetylokarbaminianu;

chlorek 3-izopropyl-4-trójmetyloamino-6-metylo-fenyl-N, N-dwumetylokarbaminianu;

chlorek 2-izopropyl-4-trójmetyloamino-5-metylo-fenyl-1-morfolinokarbonylowy;

chlorek 3-izopropyl-4-trójmetyloamino-6-metylo-fenyl-1-morfolinokarbonylowy.

Związki te hamowały wydłużanie się hypokotyli u ogórków, stymulowały natomiast rozwój systemu korzeniowego zarówno na świetle, jak i w ciemności.

Jak dotąd, najczęściej prac poświęcono wpływowi chlorku trójmetylochloroetyloamoniowego (CCC), który w przeciwieństwie do innych związków amoniowych oddziałuje na większą liczbę gatunków roślin.

Najbardziej charakterystycznymi cechami roślin wywołanymi przez CCC są: skrócone międzywęzła łodyg, zgrubiałe części nadziemne, ciemnozielone liście o dużych rozmiarach. Wzrost aktywowany przez CCC jest przeciwny do tego, który dają gibereliny. Nie wyklucza się jednak, że niektóre rośliny, do których dodano zarówno giberelinę, jak i CCC, będą dawały reakcję addytywną (25).

Ogólnie przyjęła się sugestia, że chlorek chlorcholiny (jak i inne czwartorzędowe amoniowe związki) ogranicza wzrost roślin na długość. Wiele jest jednak jeszcze niejasności co do samego mechanizmu działania tych regulatorów i wywoływanych przez nie procesów fizjologicznych i biochemicznych.

Nie można się zgodzić z poglądem, że amoniowe pochodne są typowymi inhibitorami. Tolbert (25) uważa, co także potwierdzają wyniki uzyskane

przez innych autorów (1, 9), że regulatory te podawane w niskich koncentracjach mogą stymulować wzrost roślin. Nawet tzw. karłowacenie roślin nie można uznać za inhibicję wzrostu, jeżeli nie rozpatrzy się efektów indukowanych przez te związki w innych organach roślin.

Niskie stężenia CCC, które wywoływały zmiany „negatywne” we wzroście pszenicy (24), nie przyczyniły się do obniżenia wagi roślin.

Z doświadczeń Halevego i Kesslera (5) z *Chrysanthemum morifolium* wynika, że rośliny traktowane chlorkiem trójmetylochloroetyloamoniowym i hodowane w niskich temperaturach miały obrzęknięte łodygi i liście. Wykazano przy tym, że wyraźny wpływ na stan fizjologiczny roślin ma uwodnienie podłoża. Rośliny rosnące na podłożu glebowym z dodatkiem CCC powodowały wysuszenie gleby, a jednocześnie same wykazywały wyższą świeżę i suchą masę. Przy małej wilgotności podłoża przyrost suchej masy jest jeszcze większy.

Wykazano, że sposób podawania regulatorów, takich np. jak kinetyna, wymaga bardzo często ustalonej procedury (17). Związki takie, jak CCC, czy chociażby znane powszechnie auksyny, użyte do opryskiwania roślin mogą być dla niektórych gatunków toksyczne; dopiero podane do kultur wodnych lub do namaczania dają wyraźną „odповідź”.

Liczne testy wskazują, że hamowaniu towarzyszą zmiany nie tylko morfologiczne, ale i cytologiczne (2). W przekroju poprzecznym łodygi *Lilium longiflorum* var. *Georgia* zauważono zwiększenie się rozmiarów komórek skórki, warstwa tkanki miękkiszowej była grubsza, a sklerenchyma zredukowana i wymieszana z warstwą korową. Prawdopodobnie działalność merystemu bocznego w organach nadziemnych jest większa niż wierzchołkowego. Kelly i Postlethwait w swych doświadczeniach z *Pteridium aquilinum* spostrzegli zwiększenie podziałów komórkowych w przedroślach, które rosły na pożywce syntetycznej z CCC.

Trudne są natomiast do interpretacji wyniki uzyskane przez Stuart (21), która w doświadczeniach z różanecznikiem (*Rhododendron obtusum*) zaobserwowała, że niska temperatura lub krótki fotoperiod i dodanie CCC powodują szybsze ukazywanie się pączków kwiatowych oraz zakwitanie. Długi fotoperiod powodował podobny efekt, z tym że rośliny były mniej karłowate. Wszystkie rośliny potraktowane CCC odznaczały się dużą ilością kwiatów, większą niż hodowane w normalnych warunkach.

To praktyczne znaczenie stosowania chlorku trójmetylochloroetyloamoniowego podkreślają Wittwer i Tolbert (27, 28) oraz Lindstrom i Tolbert (10) w swych pracach nad hodowlą pomidorów i chryzantem.

Chryzantemy w hodowlach wazonowych z CCC charakteryzowały się wzrostem rozetkowym, dużymi kwiatami, gęstymi ciemnozielonymi liśćmi i skróconą łodygą. Pomidory miały cechy podobne, z tym że miały bardziej rozwinięty system korzeniowy, więcej kwiatów, więcej owoców

wcześniejszym dojrzewających. Liście ponad drugim węzłem zarówno u chryzantem, jak i u pomidorów, miały większą powierzchnię.

Zwiększenie powierzchni liści jest skorelowane z długością międzywęzła w hodowlach poddanych działaniu CCC (6). Jeżeli następowało skrócenie międzywęzła, zwiększała się powierzchnia liści. Zmiany te obserwowano tylko w długim fotoperiodzie.

Chlorek trójmetylochloroetyloamoniowy wpływa, jak to już wykazano, również i na części podziemne roślin. Ponadto Supniewska (22) wskazuje, że użyty do takich upraw jak marchew (*Daucus carota* L.) może przynieść korzyści wynikające ze zwyczajki plonów.

Doświadczenia z zastosowaniem preparatu CCC do kiełkowania nasion (1,16) wskazują, że nie wywiera on istotnych zmian w energii kiełkowania. Tylko w warunkach suszy fizjologicznej (16) energia kiełkowania nasion była większa.

W ostatnich latach (Austria i NRF) przeprowadzono szereg doświadczeń polowych z pszenicą jara i ozimą, dodając do nawożenia tych upraw CCC.

Prace Linsera i Kühna (12) dowiodły, że istnieją wszelkie podstawy ku temu, aby uważać CCC jako specyficzną substancję wzrostową. Uzyskano bowiem przy odpowiednim nawożeniu zwyczajkę plonów ziarna przy nieznacznej tylko obniżce w zbiorze słomy.

Podobne rezultaty otrzymali w hodowli wazonowej z pszenicą jara Linser, Mayr i Bodo (11).

Tabela 1
Przeciętny zbiór, waga 1000 ziarn i długość źdźbła pszenicy
letniej według Linsera, Mayra i Bodo (w przeliczeniu
na 1 wazon)

CCC	Słoma	Ziarno	Waga 1000 ziarn	Długość źdźbła
mg	g	g	g	cm
0,00	54,8	37,6	33,4	83
0,79	55,6	43,0	33,7	80
7,90	55,1	41,5	33,0	72,5
79,00	52,5	40,7	32,9	63

CCC oprócz zwyczajki plonów powoduje zgrubienie źdźbła, co czyni je bardziej odpornym na wszelkie mechaniczne bodźce. Ma to szczególne znaczenie w uprawach zbożowych, w których notuje się corocznie znaczne straty w plonach na skutek wylegania.

Jak donosi Mulder, straty spowodowane wyleganiem zbóż w Holandii wynosiły w latach 50-ych około 50%, w ZSRR (wg Palewa, cyt. Mayr i wsp.) od 25 do 30%. Z dokładnych badań statystycznych przepro-

wadzonych przez Rodgera wynika, że straty te tylko dla dwu upraw, jęczmienia i owsa, w Stanach Zjednoczonych wynoszą 63—66%.

Zastosowanie preparatu o takich własnościach, jak zdolność do wywoływania korzystnych zmian morfologicznych przy jednoczesnym zwiększeniu plonów nie jest bez znaczenia.

Na efektywność działania chlorku trójmetylochloroetyloamoniowego wpływają jednak pewne elementy, takie jak struktura, klasa gleby oraz nawożenie (13).

Na glebach lekkich o małej zawartości substancji humusowych i przy nawożeniu ogólnie przyjętym dla upraw, pszenica jara w obecności 150 mg CCC na wazon dawała plon niższy o około 20% zarówno w ziarnie, jak i słomie. Pszenica ozima w identycznych warunkach wykazywała wyższą plonu o około 4%, oraz taką samą obniżkę w plonie słomy.

Na glebach bogatych w substancje humusowe zbiór ziarna pszenicy ozimej był o około 5% wyższy, a zbiór słomy nieznacznie tylko przewyższał zbiór w próbach nietraktowanych CCC.

Mayr i współpracownicy (14, 15) przeprowadzili doświadczenia polowe z pszenicą ozimą odmiany Tassilo dodając do nawożenia CCC. Różne dawki nawozów azotowych, jak i CCC, przyniosły w każdym wariancie doświadczeń zwiększenie ilości ziarn w kłosach, a w związku z tym wyższą plonów.

Z danych (tabela 2) wynika, że wszystkie koncentracje CCC stosowane w doświadczeniach zwiększały plon ziarna pszenicy, procent wzrostu uzależniony był od ilości wysianych nawozów azotowych. Małe dawki CCC powodowały zwiększenie wagi 1000 ziarn pod warunkiem, że ilość nawozów azotowych była nie mniejsza niż 120 kg na hektar. Przy zastosowaniu optymalnych dawek CCC wydajność w plonie słomy utrzymywała się na poziomie zbiorów na poletkach bez dodatku preparatu.

Chlorek trójmetylochloroetyloamoniowy zwiększał też ilość kłosów na jednym metrze kwadratowym.

Na podstawie tych danych trudno się zgodzić z sugestią autorów, jakoby czwartorzędowe pochodne amoniowe miały charakter antygiberelin. Wprawdzie poszczególne wyniki mogłyby wskazywać na taki sposób działania tych związków, to jednak wydaje się, że wiele danych przemawia za tym, aby nie uważać ich za antygibereliny w sensie fizjologicznym i biochemicznym.

Tak więc zarówno gibereliny, jak i niektóre pochodne amoniowe oddziałują na siłę ssącą nasion (16) w sposób analogiczny. Ponadto zwiększają ilość barwników antocjanowych, jak również chlorofilu. Humphries wykazał, że u siewek gorczycy (*Sinapis alba* L.) poddanych działaniu CCC zwiększa się ilość azotu ogólnego. Zwiększenie azotu ogólnego w zarodkach kiełkującego ziarna kukurydzy, moczzonego uprzednio w roztworze

Tabela 2

Analiza zbioru pszenicy ozimej odmiany Tassilo przy nawożeniu azotowym według Mayra, Primosta i Rittmeyera (14)

CCC kg/ha	Ziarno q/ha	Liczba ziarn w kłosie	Procent kontroli	Waga 1000 ziarn w g
I. 80 kg/ha N				
kontrola	38,30	26,0	100	49,26
4,0	45,42	30,6	118	48,28
8,0	46,01	30,7	118	47,44
12,0	46,64	33,1	127	47,85
16,0	44,31	28,8	111	46,07
II. 120 kg/ha N				
kontrola	34,39	23,1	100	46,15
4,0	48,57	30,4	132	47,65
8,0	47,08	31,4	136	45,85
12,0	46,79	30,6	132	46,63
16,0	49,31	32,7	142	45,99
III. 160 kg/ha N				
kontrola	37,45	23,2	100	47,08
4,0	46,32	28,1	121	47,78
8,0	47,78	31,8	137	46,89
12,0	47,63	29,9	129	46,73
16,0	47,28	31,1	134	46,83
IV. 200 kg/ha N				
kontrola	38,18	25,4	100	45,30
4,0	49,01	32,2	127	45,80
8,0	47,98	34,2	135	45,03
12,0	48,90	33,8	133	44,93
16,0	47,45	34,0	134	44,79

CCC, zauważyli również Bachman i Szopa (1), stwierdzając, że zwiększenie w azocie ogólnym była powodowana przez zwiększenie ilości wolnych aminokwasów.

Halevy (4) i Monselise (18) donoszą, że inna pochodna amoniowa, AMO-1618, zwiększała aktywność katalazy i peroksydazy w kiełkujących nasionach ogórków. Przy stężeniu 1000 ppm aktywność katalazy w korzeniach była większa o około 80%, a peroksydazy o około 280%.

Wy tłumaczenie mechanizmu działania tych związków w chwili obecnej, ze względu na szczupły materiał doświadczalny, jest niemożliwe. Halevy (3) uważa, że związki amoniowe przez zmianę w swej strukturze podczas kiełkowania nasion stają się specyficznymi stymulatorami. Można również reakcje roślin indukowane przez sam kation amoniowy tłumaczyć analogicznie jak funkcję choliny, która bierze udział w procesach metylacji.

LITERATURA

1. Bachman S. i J. S. Szopa: 1963. Wpływ kwasu B-indoliloctowego, chlorku trójmetylochloeroetyloamoniowego (CCC) i kumaryny na zawartość azotu i pobieranie tlenu w kiełkującym ziarnie kukurydzy. Mat. II Symp. poświęconego regulatorom wzrostu roślin, Toruń, 3—4. VII. 1963.
2. Cathey H. M., and N. W. Stuart: 1961. Comparative plant growth-retarding activity of AMO-1618, Phosfon, and CCC. Bot. Gaz., 123 : 51—57.
3. Halevy A. H., and H. M. Cathey: 1960. Effect of structure and concentration of some quaternary ammonium compounds on growth of cucumber seedlings. Bot. Gaz., 122 : 151—154.
4. Halevy A. H.: 1962. Inverse effect of gibberellin and AMO-1618 on growth catalase and peroxidase activity in cucumber seedlings. Experientia, 18 : 74—76.
5. Halevy A. H., and B. Kessler: 1963. Increased tolerance of bean plants to soil drought by means of growth-retarding substances. Nature, 197 : 310—311.
6. Humphries E. C.: 1963. Effects of (2-chloroethyl) trimethylammonium chloride on plant growth, leaf area, and net assimilation rate. Ann. Bot., 27 : 517—532.
7. Kelly A. G., and S. N. Postlethwait: 1962. Effect of (2-chloroethyl) trimethylammonium chloride on fern gametophytes. Am. Jour. Bot., 49 : 778—786.
8. Krewson C. F., W. W. Wood, W. C. Wolfe, J. W. Mitchell, and P. C. Marth: 1959. Synthesis and biological activity of some quaternary ammonium and related compounds that suppress plant growth. J. Agr. and Food Chem. 7 : 264—268.
9. Kuraishi S., and R. M. Muir: 1963. Mode of action of growth retarding chemicals. Plant Physiol., 38 : 19—24.
10. Lindstrom R. S., and N. E. Tolbert: 1960. (2-chloroethyl) trimethylammonium chloride and related compounds as plant growth substances. IV. Effect on chrysanthemums and poinsettias. Quart. Bull. Mich., Agric. Exp. Sta., 42 : 917—928.
11. Linser H., Mayr H., and Bodo G.: 1961. Über die Wirkung von Chlorcholinchlorid auf Sommerweizen. Bodenkultur, 12(A) : 279—280.
12. Linser H., und H. Kühn: 1962. Lagerungshemmende bzw. standfestigkeitsstarkende Düngemittel auf Basis von gibberellinsäureantagonistischen Stoffen der Gruppe (Chlorcholinchlorid). Z. Pflanzenern., Düng., Bodenkde., 96 : 231—247.
13. Linser H., und H. Kühn: 1963. Zur Frage der Nachwirkung von Chlorcholinchlorid. Bodenkultur, 14(A) : 111—117.
14. Mayr H. H., E. Primost und G. Rittmeyer: 1962. Untersuchungen über die Erhöhung der Standfestigkeit von Getreide. I. Feldversuche mit Chlorcholinchlorid zu Winterweizen. Bodenkultur, 13(A) : 27—45.
15. Mayr H. H. und E. Primost: 1963. Versuche zur Erhöhung der Standfestigkeit von Winterweizen durch Anwendung von Chlorcholinchlorid (CCC) in gelöster Form. Bodenkultur, 14(A) : 209—215.
16. Michniewicz M. i A. Chromiński: 1963. Zwiększenie siły ssącej ziarna pszenicy wywołane działaniem CCC. Materiały II Symp. poświęconego regulatorom wzrostu roślin, Toruń, 3—4. VII. 1963.

17. Mitchell W. D., and S. H. Wittwer: 1962. Response of plants to Root-absorbed chemical growth substances applied in culture solutions. *Nature*, 195 : 725—726.
18. Monselise S. P., and A. H. Halevy: 1962 Effects of gibberellin and AMO-1618 on growth dry-matter accumulation, chlorophyll content and peroxidase activity of citrus seedlings. *Am. Jour. Bot.*, 49 : 405—412.
19. Mulder E. G.: 1954. Effect of mineral nutrition on lodging of cereals. *Plant and Soil*, 5:246—306.
20. Rodger J. B. A.: 1956. The causes of lodging in cereal crops. *Agric. Rev.*, 2:23—26.
21. Stuart N. W.: 1961. Initiation of flower buds in *Rhododendron* after application of growth retardants. *Science*, 134 : 50—52.
22. Supniewska J. H.: 1963. Obserwacje nad działaniem chlorku trójmetylochloroetyloamoniowego na rośliny. *Materiały II Symp. poświęconego regulatorom wzrostu roślin*, Toruń, 3—4. VII. 1963.
23. Tolbert N. E.: 1960. (2-Chloroethyl) trimethylammonium chloride and related compounds as plant growth substances. I. Chemical structure and bioassay. *Jour. Biol. Chem.*, 235 : 475—479.
24. Tolbert N. E.: 1960. (2-Chloroethyl) trimethylammonium chloride and related compounds as plant growth substances. II. Effect on growth of wheat. *Plant Physiol.*, 35 : 380—385.
25. Tolbert N. E.: 1961. Alteration of plant growth by chemicals. *Bull. Torrey Bot. Club*. 88 : 313—320.
26. Wirwille J. W., and J. W. Mitchell: 1950. Six new plant-growth-inhibiting compounds. *Bot. Gaz.*, 111 : 491—494.
27. Wittwer S. H., and N. E. Tolbert: 1960. (2-Chloroethyl) trimethylammonium chloride and related compounds as plant growth substances. III. Effect on growth and flowering of the tomato. *Am. Jour. Bot.*, 47 : 560—565.
28. Wittwer S. H., and N. E. Tolbert: 1960. (2-chloroethyl) trimethylammonium chloride and related compounds as plant growth substances. V. Growth, flowering, and fruiting responses as related to those induced by auxin and gibberellin. *Plant Physiol.*, 35 : 871—877.