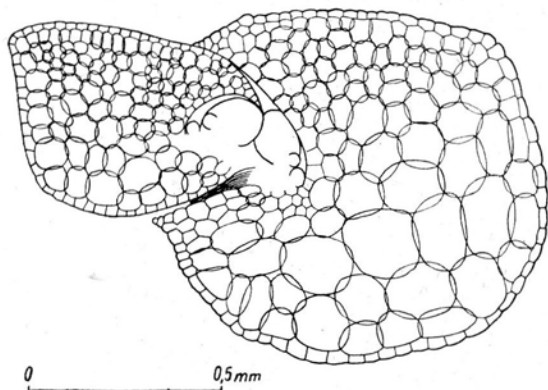


MARIAN CZOPEK

EKOLOGICZNO-FIZJOLOGICZNE BADANIA NAD ZAKWITANIEM GATUNKÓW Z RODZINY LEMNACEAE

Rodzina *Lemnaceae* jest interesująca z wielu względów; przedstawiciele jej mają bardzo uproszczoną budowę, odznaczają się stosunkowo rzadkim kwitnieniem w naturze, rozmnażają się natomiast prawie wyłącznie wegetatywnie, a wreszcie są to jedne z najmniejszych roślin kwiatowych w ogóle



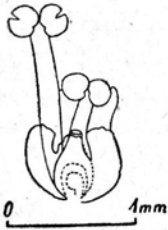
Ryc. 1. Przekrój podłużny przez pęd *Wolffia arrhiza* (wg Hegelmaiera 1868).

Wolffia punctata Gris. (Ameryka Północna) długości 0,3—0,8 mm jest najmniejszą rośliną kwiatową. W skład 4 rodzajów rodziny *Lemnaceae* (*Lemna*, *Spirodela*, *Wolffia* i *Wolffiella*) wchodzi 25—30 gatunków (w tym w Ameryce największa liczba, w przybliżeniu 15—20), tworzących szereg odmian fizjologicznych, uwarunkowanych różnymi czynnikami środowiska. *Lemnaceae* są szeroko rozpowszechnione na całej kuli ziemskiej, najrzadziej występują w obszarach arktycznych. W Polsce rośnie 5 gatunków: *Lemna gibba* L., *Lemna minor* L., *Lemna trisulca* L., *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleiden oraz *Wolffia arrhiza* (L.) Wimm. (Szafer, Kulczyński, Pawłowski 1953).

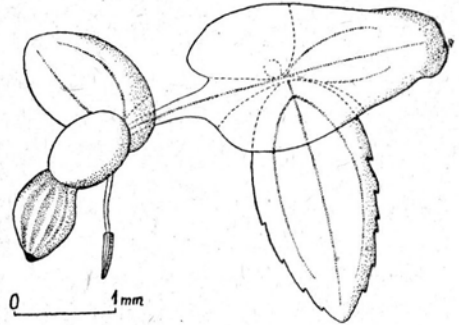
Cechą charakterystyczną rodziny *Lemnaceae* jest daleko posunięte uproszczenie budowy morfologicznej i anatomicznej (ryc. 1). Pędy rzęś są bezlistne, soczewkowato spłaszczone, bogato zaopatrzone w przestwory powietrzne.

Pływają one swobodnie po powierzchni wód lub są zanurzone w wodzie. Od dolnej strony pędu wyrasta pęk korzeni (rodzaj *Spirodela*) lub też jeden korzeń (rodzaj *Lemna*). Natomiast *Wolffia* i *Wolffiella* nie tworzą korzeni w ogóle.

Kwiaty rzęsy wykazują również daleko idące uproszczenie. Są one jednopłciowe, występujące zwykle razem na jednym pniu. Pochwa obejmująca kwiatostan jest zredukowana do minimum. Znajdujące się w jej obrębie kwiaty męskie składają się po prostu z 1—2 pręcików, kwiaty żeńskie z je-



Ryc. 2. Schemat budowy kwiatostanu *Lemna trisulca* (wg Hegelmaiera 1868).



Ryc. 3. *Lemna trisulca* kielkująca z nasienia (wg Hegelmaiera 1868).

dnego słupka (ryc. 2). Kwiaty są zapylane przez ślimaki, małe owady lub wodę. U większości gatunków owoce nie wytwarzają się. *Lemna gibba* i *Lemna perpusilla* wytwarzają najczęściej owoce w naturze, co może przemawiać za istnieniem samozapylenia. W owocu znajdują się dwa podłużne nasiona (ryc. 3).

Obserwacje ekologiczne

Charakterystyczną cechą rodziny *Lemnaceae* jest rzadkość kwitnienia w naturze. Rzęsy rozmnażają się głównie na drodze wegetatywnej. Kwitnące okazy rzęsy pojawiają się wśród pędów wegetatywnych i są do nich zazwyczaj bardzo podobne. O ile jednak pędy płonne są żywozielone, pędy kwitnące mają zabarwienie żółtozielone, żółte lub czerwono-fioletowe (Vuyck 1895, cyt. wg Luthra 1948). Tylko u *Lemna trisulca* pędy kwiatonośne są wyraźnie mniejsze i pływają na powierzchni wody, podczas gdy znacznie większe pędy płonne są zawsze zanurzone.

Dla stwierdzenia, jak przedstawia się zakwitanie okazów rzęsy na ziemiach polskich, przeglądnięto zbiory zielnikowe rodziny *Lemnaceae* w Krakowie, Łodzi, Poznaniu, Toruniu, Warszawie i Wrocławiu. W zielnikach polskich autor znalazł dwukrotnie kwitnące okazy (*Lemna gibba* i *Spirodela polyrrhiza*) zebrane w latach dziewięćdziesiątych zeszłego stulecia.

Tabela I

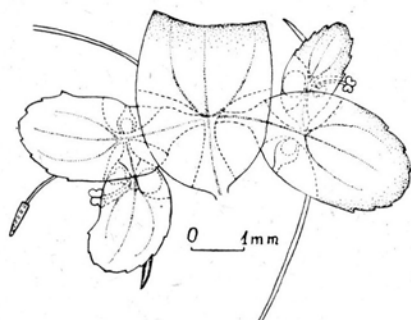
Liczba stanowisk gatunków z rodziny *Lemnaceae* na terenie Polski (opracowane przez autora na podstawie zbiorów zielnikowych z lat 1679—1955). Przy okazach kwitnących podano stanowisko i rok zbioru

Gatunek	Liczba stanowisk	Okazy kwitnące
<i>Lemna gibba</i>	15	Tuchola — 1882
<i>Lemna minor</i>	31	—
<i>Lemna trisulca</i>	37	—
<i>Spirodela polyrrhiza</i>	27	Woroniec — 1887
<i>Wolffia arrhiza</i>	2	—

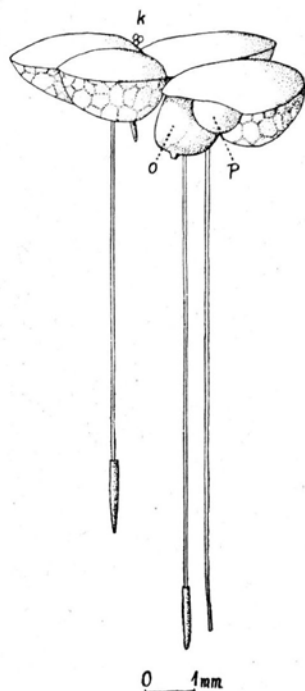
Przyczyny i warunki tak rzadkiego kwitnienia w naturze stanowią przedmiot badań naukowych. Zaobserwowano, że gatunki *Lemna* kwitną na tym samym stanowisku przez kilka lat następujących po sobie, i że kwitnienie związane jest z ciepłymi okresami lata (Krogerus 1924, Nordhagen 1940, cyt. wg Luthra 1948). Między innymi Nelson (1933, cyt. wg Luthra 1948) zauważył, że na kwitnienie rzęś wpływają pobudzająco duże ilości substancji organicznych rozpuszczonych w wodzie. Natomiast Luther (1948) badając kwitnienie rzęś na terenie Finlandii stwierdził, że kwitnące okazy rosły na płytkiej, bogatej w sole mineralne (szczególnie w jony wapnia) wodzie, w miejscach odsłoniętych, silnie nagrzewających się w lecie. Wg Hicksa (1932) odpowiedzialnym za kwitnienie jest skład mineralny wody, podwyższona temperatura wody i otoczenia oraz światło. Ponieważ Seager (1929, cyt. wg Kandelera 1955) znajdował kwitnące okazy rzęś tylko w określonych stawach, przypuszcza on, że na kwitnienie wywiera decydujący wpływ chemiczny zestaw wody siedliskowej. Z obserwacji wynika, że nie wszystkie jednak rzęsy wymagają jednakowych warunków do kwitnienia. Jest to w dużym stopniu uzależnione od warunków lokalnych. Jak wykazała analiza wody (Landolt 1957), rzęsy kwitną przy pH 4,7—8,2 i stężeniu soli mineralnych równoważnym roztworowi KCl 0,06—0,0005 mola. Stąd wniosek, że pH wody i stężenie soli mineralnych nie posiada wpływu na kwitnienie; to byłoby sprzeczne z poprzednimi obserwacjami innych autorów. Natomiast wymagana jest wyższa temperatura jak 25°C (zwłaszcza dla *Lemna minor*), chociaż *Wolffiella lingulata* kwitnie w wodach Kalifornii nawet w grudniu (Landolt 1957). Podobnie jest z zapotrzebowaniem światła u różnych gatunków. Najczęściej kwitnie na słońcu *Lemna gibba* (Landolt 1957), *Lemna minor* (Hicks 1932, Landolt 1957) oraz *Lemna trisulca* (Hicks 1932) (ryc. 4, 5). W miejscach zacienionych natomiast stale kwitnie *Lemna cyclostasa* (Landolt

1957) oraz często *Spirodela* (Gillman 1881, cyt. wg Landolta 1957). Tak więc w przyrodzie czynnikiem wywołującym kwitnienie byłoby współdziałanie czynników edaficznych, temperatury i światła.

Najczęściej zakwita w Europie środkowej *Lemna gibba* (Hegelmaier 1868). Landolt (1957) stwierdził kwitnienie *Lemna gibba*, *Lemna perpusilla*, *Lemna cyclostasa* oraz *Wolffiella lingulata*. Natomiast nie obserwował on kwitnienia *Lemna minor* i *Spirodela polyrrhiza*. Wg Hicksa (1932) w wodach Ameryki Północnej najczęściej kwitnie *Lemna gibba* i *Spirodela*. U *Wolffia* są trudności ze znalezieniem kwiatów, ze względu na jej mikroskopijną wielkość.



Ryc. 4. Kwitnący pęd *Lemna trisulca*
(wg Hegelmaiera 1868).



Ryc. 5. Pęd *Lemna gibba* z kwiatami (*k*) i owocem (*o*), ponad którym wyrasta pęd potomny (*p*)
(wg Hegelmaiera 1868)

Badania fizjologiczne

I. Wstęp

Badania fizjologiczne nad gatunkami z rodziny *Lemnaceae* bardzo ułatwia możliwość otrzymania sterylnych kultur zupełnie pozbawionych mikroorganizmów. Kultury takie otrzymuje się przez sterylizację roślin za pomocą 0,1% sublimatu i 50% alkoholu. Poszczególne rośliny zanurza się przez 45 sek. w sublimacie, przemywa sterylną wodą destylowaną, a następnie zanurza się przez 30 sek. w alkoholu i przemywa dwukrotnie sterylną pożywką. Tak wysterylizowane rośliny przenosi się na pożywkę syntetyczną z dodatkiem 1% sacharozy i 0,01% asparaginy, jako sprawdzianu braku bakterii i grzybów. Wszystkie manipulacje przeprowadza się w sterylnej komorze do szczepień. Hodowlę kultur przeprowadza się w termostacie świetlnym w temperaturze 28°C i intensywności oświetlenia około 1200 luksów (Czopek 1959a).

Po takiej sterylizacji pędy macierzyste giną po kilku dniach, ale równocześnie regenerują pędy potomne, z których następnie rozwijają się sterylne człony pędowe. W tych warunkach rośliny szybko się rozmnażają dając sterylne populacje roślin (Kandeler 1955, Czopek 1959a). Dzięki tej możliwości hodowania roślin w kulturach sterylnych na pożywkach syntetycznych, problem powstawania kwiatów (podobnie jak szereg innych problemów fizjologicznych tej rodziny) można badać w ściśle ustalonych warunkach laboratoryjnych, działając czynnikami takimi jak intensywność światła, długość dnia, temperatura, substancje chemiczne itp.

Jak wykazały doświadczenia Hicksa (1932), do tworzenia się kwiatów trzeba spełnienia trzech warunków:

1) Rośliny powinny być dojrzałe i zdrowe, wykazywać wzrost wegetatywny i zawierać odpowiednią ilość substancji zapasowych.

2) Zespół czynników zewnętrznych mających wywołać kwitnienie powinien podziałać jako szok na rośliny rozmnażające się wegetatywnie.

3) W niektórych gatunkach, takich jak *Lemna trisulca*, która ulega wyraźnym przemianom morfogenetycznym w czasie kwitnienia, do badań trzeba wybierać takie rośliny, które swoim pokrojem przypominają pędy generatywne (krótkie międzywęzła i kolor jasnozielony).

Zachowując wyżej wymienione warunki udało się laboratoryjnym działaniem czynników omówionych dalej uzyskać kwitnienie szeregu gatunków rzęs oraz porównać budowę i rozwój kwiatów otrzymanych tą drogą z morfologią kwiatów znajdujących w naturze.

Kandeler (1955) na podstawie własnych doświadczeń wyróżnia 5 stadiów rozwojowych w tworzeniu się kwiatów.

1. W bocznej «kieszni» pędowej, która już wytworzyła pęd potomny, tworzy się obok stożka wzrostu zahamowanego w swym rozwoju, drugi stożek — jest to pierwszy widoczny znak zawiązku kwiatostanu.

2. W zawiązku kwiatostanowym można wyróżnić dwa zawiązki pręcików, a także zawiązek słupka; wszystkie zawiązki kwiatów są jeszcze w pełni tkanką merystatyczną.

3. Zawiązki pręcików wykazują pierwsze różnicowanie na pylniki i nitkę pręcikową, a następnie zaczyna się wyróżniać wolno rosnąca załącznia z załączkami. Pręciki i słupek zostają otoczone przez pochwę kwiatostanową złożoną z jednej warstwy komórek.

4. Szyjka słupka wyrasta, wykrzywia się i wystaje na zewnątrz z tej osłony, jaką stanowi pochwa kwiatostanowa. Załączki są już dobrze wykształcone.

5. Oprócz szyjki słupka pojawiają się dojrzałe pręciki — jest to już stadium pełnego kwitnienia.

II. Czynniki wywołujące kwitnienie

W ściśle ustalonych warunkach laboratoryjnych przebadano zespół czynników wywierających wpływ na kwitnienie, jak intensywność światła, długość dnia, temperatura, substancje chemiczne itp.

Światło

W 1932 roku po raz pierwszy Hicks uzyskał pomyślne wyniki w badaniach nad otrzymaniem kwiatów na drodze eksperymentalnej. Naświetlając hodowlę promieniami ultrafioletowymi z lamp kwarcowo-rtęciowych (110 V, 75 cm odległości 8—87 minut działania promieniami i 38 cm odległości, 5—20 minut naświetlania) osiągnięto kwitnienie już po 13 dniach u *Lemna minor*, *Lemna trisulca*, *Lemna cyclostasa*, *Lemna minima* i *Wolffia columbiana*. Natomiast *Spirodela polyrrhiza*, *Wolffia punctata* i *Wolffia floridiana* nie kwitły mimo zastosowania tej metody. Najwyższy procent kwitnienia uzyskano w wypadku *Lemna trisulca* (55%) i *Lemna minor* (50%). Jednakże wyniki doświadczeń Hicksa (1932) nie zostały do dzisiaj potwierdzone przez innych autorów.

Wangermann i Lacey (1952) badając wpływ promieni ultrafioletowych na *Lemna minor*, stwierdzili, że nie wywołują one kwitnienia, lecz działają zabójczo na roślinę. Możliwe jest więc, że promienie ultrafioletowe działają jedynie stymulująco na rozwój istniejących zawiązków kwiatowych (Kandeler 1955).

Zależność kwitnienia od długości dnia. Z dalszych badań nad wpływem światła okazało się, że *Lemnaceae* zakwitają w zależności od długości dnia. Stwierdzono przy tym, że jedne z gatunków należą do typowych roślin dnia długiego, jak np. *Lemna gibba*, inne do roślin dnia krótkiego, np. *Lemna perpusilla*.

Fizjologią zakwitania *Lemna gibba*, jako typową rośliną dnia długiego zajmuje się Kandeler (1955, 1956). Kandeler w swych badaniach prowadzi hodowlę kultur na pożywce Pirsona i Seidela (1950), stosując stałą intensywność oświetlenia 3000 luksów przy pomocy świetlówek (światło dzienne) i stałą temperaturę 30°C. Wstępne doświadczenia Kandelera (1955) wskazują, że pierwsze stadium kwitnienia zostaje osiągnięte przy ciągłym oświetleniu w 12 lub 13 dniu hodowli.

W czasie właściwych doświadczeń rośliny przechodziły tzw. kulturę wstępną, czyli były hodowane w warunkach, które wykluczały tworzenie się kwiatów (na krótkim dniu). Przy wyłączeniu stymulującego wpływu starej pożywki (patrz dalej: Stymulujący wpływ starej pożywki), udało się wywołać kwitnienie *Lemna gibba* na długim dniu, ale tylko wtedy, gdy używano oświetlenia mającego widmo od długiego ultrafioletu (360 μ) aż po daleką podczerwień, które przypomina naturalne światło dzienne. Tego rodzaju źródło

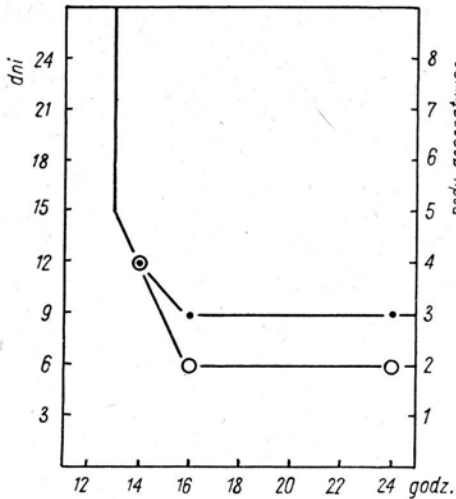
światła uzyskał Kandeler (1955) przez kombinacje niebieskich świetlówek i niebieskich żarówek (zestaw obejmował: 2 żarówki 40 W, 2 żarówki 60 W, 2 świetlówki niebieskie 20 W, 2 żarówki magnezo-wolframowe 20 W). Przy ciągłym oświetleniu tym światłem (3000 luksów i temperaturze 30°C) uzyskał Kandeler po 6 dniach pierwsze stadium kwitnienia, a przy dalszej hodowli dobrze wykształcone kwiaty. Przy zastosowaniu oświetlenia samymi świetlówkami (światło dzienne) efektu kwitnienia nie udało się uzyskać. Jest więc oczywiste, że na kwitnienie u *Lemna* poza długością dnia wywiera ważny wpływ spektralny rozkład energii świetlnej.

Lemna gibba jest rośliną dnia długiego. Krytyczna długość dnia przy temperaturze 30°C leży między 12—14 godzin światła dziennie (ryc. 6). Stosowanie krótszego okresu naświetlania dziennie, nawet o wyższej intensywności światła, nie wywołuje kwitnienia.

Lemna perpusilla szcep 6746 (Hillman 1958) zachowuje się jako roślina typowo krótkiego dnia na pożywce świeżej Hutnera z dodatkiem kwasu etylenodwuaminoczworoocowego (EDTA) w stałej temperaturze od 26—28°C. Podczas badań kultury *Lemna perpusilla* naświetlano od 6—16 godz. dziennie przez 4 doby. Procent kwitnienia przy 6-, 8-, i 10-godzinym okresie naświetlania dochodzi do 47%, a następnie spada, przy czym przy 16 godzinach nie otrzymano już kwitnienia (ryc. 7). Powyższe dane osiągnięto nie tylko przy białym świetle, lecz również identyczne wyniki uzyskano przy czerwonym świetle. Doświadczenia, w których długość dnia była niższa od 6 godzin, pozwalają przypuszczać, że kwitnienie mogłoby mieć miejsce w stałej ciemności, lecz jest ono stosunkowo nieznaczne, ponieważ wzrost w ciemności jest ograniczony na skutek braku czynnika edaficznego. Te doświadczenia wskazują więc, że *Lemna perpusilla* 6746 będzie kwitła przy wszystkich długościach dnia od 0—15 godzin dziennie, lecz nie będzie kwitła przy dłuższych okresach światła.

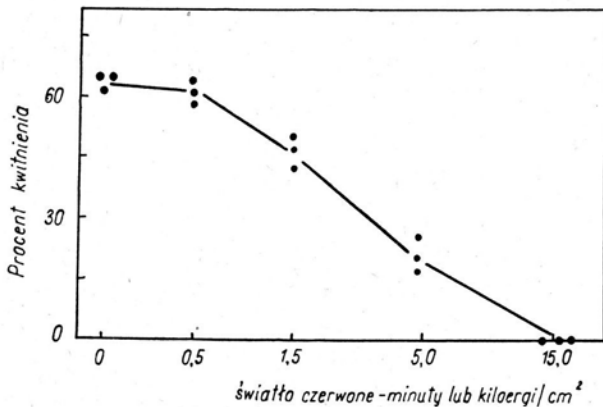
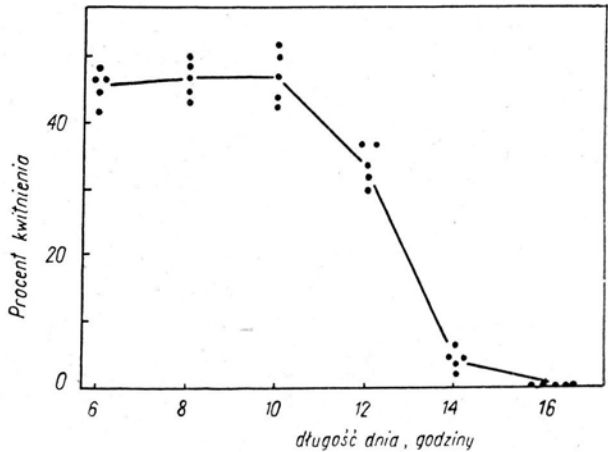
Wpływ światła czerwonego na przerwanie nocy. Hillmanowi (1959a) udało się ponadto stwierdzić, że przy kwitnieniu *Lemna perpusilla* 6746 czynnikiem krytycznym jest nie tyle krótki dzień, ile odpowiedni okres ciemności. Tak więc wykazał on, że światło czerwone przerywające okres ciemności działa jako inhibitor kwitnienia.

Aby się przekonać, ile energii potrzeba na zahamowanie kwitnienia hodowle *Lemna perpusilla* naświetlano światłem czerwonym, indukującym kwitnienie przez 10 godzin dziennie. 14-godzinny okres ciemności przerywano mniej więcej w połowie, stosując naświetlenie światłem czerwonym o energii 1 kiloerg/cm²/min. w 4 kombinacjach: 0,5 minuty, 1,5 minuty, 5 i 15 minut. Stwierdzono, że 15-minutowa dawka światła czerwonego (= 15 kiloergów) powstrzymuje całkowicie kwitnienie, zaś w zakresie intensywności 0—0,5 kiloerga przerwanie okresu ciemności nie odbija się na wytwarzaniu kwiatów (ryc. 8). Ponieważ Kandeler (1956) w swych badaniach stwierdził, że silne



Ryc. 6. Wpływ długości dnia na kwitnienie u *Lemna gibba*. Na osi rzędnych na lewo liczba dni koniecznych do osiągnięcia pierwszego stadium kwitnienia, na prawo liczba pędów generatywnych. Na osi odciętych liczba godzin światła w ciągu doby (wg Kandelera 1955)

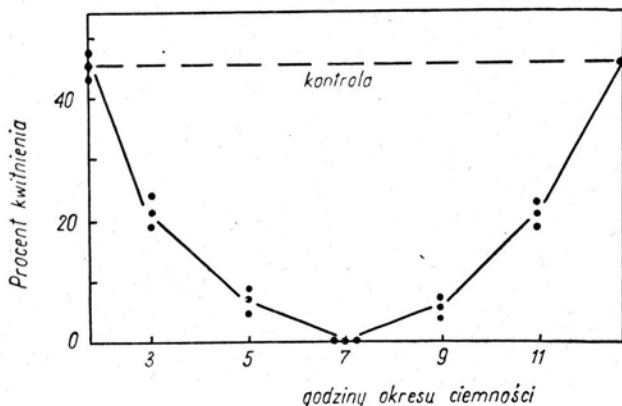
Ryc. 7. Wpływ długości dnia na kwitnienie u *Lemna perpusilla* 6746. Okresy świetlne stosowano przez 4 doby, a następnie kultury trzymano przez 3 dalsze doby na stałym świetle. Każdy punkt oznacza jedną kulturę (wg Hillmana 1959a)



Ryc. 8. Działanie światła czerwonego podczas okresu długiej nocy na zahamowanie kwitnienia *Lemna perpusilla* 6746. Przerwanie stosowano w środku każdego 14-godzinnego okresu ciemności przez 4 następujące po sobie doby, kultury trzymano w stałym świetle dodatkowo przez 3 dni. Każdy punkt oznacza jedną kulturę (wg Hillmana 1959a).

światło czerwone hamuje kwitnienie *Lemna gibba*, a podczerwień (700—900m μ) przyspiesza ten proces, Hillman usiłował odwrócić ten hamujący wpływ światła czerwonego w okresie ciemności za pomocą podczerwieni. Próby te skończyły się niepowodzeniem, stwierdzono tylko, że podczerwień daje ten sam efekt hamujący co światło czerwone.

Hillman (1959a) zajął się następnie zbadaniem, w jakim momencie okresu ciemności dawka światła czerwonego hamująca kwitnienie (9 kilogerów/cm²/sek), działa najbardziej skutecznie. W tym celu przeprowadzono doświadczenie, w którym rośliny kontrolne naświetlano białym światłem 10 godzin dziennie, zaś przez pozostałe 14 godzin znajdowały się one w abso-



Ryc. 9. Działanie krótkotrwałego światła czerwonego na kwitnienie *Lemna perpusilla* 6746 stosowanego w różnym czasie podczas 14-godzinnej okresu ciemności. Światło czerwone stosowano przez 3 doby, przez następne 4 doby kultury trzymane na długim dniu. Każdy punkt oznacza jedną kulturę (wg Hillmana 1959a)

lutnej ciemności. W przypadku roślin badanych przerywano okres ciemności światłem czerwonym o wyżej wspomnianej intensywności (czas działania 7 minut) w 3, 5, 7, 9, i 11 godzinie po rozpoczęciu ciemności. Wyniki przedstawione na ryc. 9 wskazują, że maksymalne zahamowanie kwitnienia przypada w połowie okresu ciemności, czyli w 7 godzinie po jego rozpoczęciu.

Natomiast w przypadku *Lemna gibba* do zahamowania kwitnienia potrzebna była stosunkowo duża ilość energii, przy czym hamujący wpływ przerywania nocy zaznaczył się najwyraźniej w pierwszych godzinach okresu ciemności (Kandeler 1956).

Promienie czerwone i podczerwień działają antagonistycznie na inne procesy fizjologiczne u roślin, między innymi i na takie, które mogą wywierać wpływ na indukcje kwitnienia. Hillman i Galston (1957) stwierdzili, że światło czerwone wywiera wyraźny wpływ na aktywność oksydazy kwasu indoloocetowego u pewnych roślin. Np. u etiolowanych kiełków grochu światło czerwone osłabia aktywność tej oksydazy, tym samym zwiększa stężenie

auksyn. Działanie światła czerwonego można odwrócić promieniami podczerwonymi. Liverman i Bonner (1953) przypuszczają, że wysoki poziom auksyn w okresie ciemności w liściu powstrzymuje syntezę hipotetycznego hormonu kwitnienia — florigenu. Światło czerwone powstrzymuje więc kwitnienie przez obniżenie aktywności oksydazy kwasu indoloocetowego, a zwiększa stężenie auksyn, natomiast podczerwień wywołuje kwitnienie przez wzmożenie aktywności oksydazy kwasu indoloocetowego, a co za tym idzie, obniżenie poziomu auksyn, co sprzyja syntezie florigenu i prowadzi do kwitnienia.

Światło czerwone wywiera również wpływ na szybkość rozmnażania vegetatywnego rzęs. Hillman (1957) badając szybkość rozmnażania się członów *Lemna minor* rosnących w ciemności na pożywce Gorhama z dodatkiem sacharozy, stwierdził, że przez zastosowanie kilkuminutowego naświetlania roślin światłem czerwonym, można uzyskać znaczne przyspieszenie rozmnażania się vegetatywnego członów. Efekt światła czerwonego można było zniwelować działaniem promieni podczerwonych. Autor ten przypuszcza że w tym przypadku również istnieje pewien odwracalny układ świetlny czynny jak wiadomo w fotoperiodyzmie, deetiolacji i kiełkowaniu nasion.

Czynniki chemiczne

Oprócz światła na kwitnienie wywiera również wpływ chemiczny skład pożywki oraz niektóre substancje chemiczne dodane do pożywki. Hicks (1932) przebadał wpływ około 60 substancji chemicznych dodawanych do pożywki, lecz z negatywnym rezultatem, z wyjątkiem jednego wypadku. Otrzymał on kwiaty u *Lemna minor* i *Lemna trisulca* przy pomocy rozcieńczonego NaOH. Największy procent kwitnących roślin otrzymał dla *Lemna trisulca* (30%), przy czym *pH* pożywki podczas kwitnienia wynosiło od 7,2—7,6. Lecz tak on, jak i inni autorzy nie mogli powtórzyć tych doświadczeń.

Hillman (1958, 1959) i Landolt (1957) przeprowadzając badania nad kwitnieniem rzęs stosują pożywkę Hutnera (1953), która odznacza się wysoką zawartością mikroelementów. Oprócz pożywki Hutnera stosuje Hillman (1959) pożywkę używaną przez Gorhama (1950) do hodowli *Lemna* i *Spirodela*. Lepszy wzrost na tej pożywce osiągnięto przez 3-krotne zwiększenie stężenia KNO_3 i 5-krotne KH_2PO_4 . Tak zmodyfikowaną pożywkę nazwano pożywką L (Hillman 1959b). Wszystkie pożywki zawierały 1% sacharozy. Pożywka Hutnera zawierała $1,7 \times 10^{-3}$ M kwasu etylenodwuaminoczworocetowego (EDTA), podczas gdy inne pożywki nie zawierały tego złożonego związku chemicznego. Żelazo było dodawane w ilości 5 mg/l litr pożywki w formie winianu żelazowego. Stosowano intensywność oświetlenia około 600 ft.-c. (tj. około 6500 luksów) i temperaturę od 25—30°C.

Tabela II

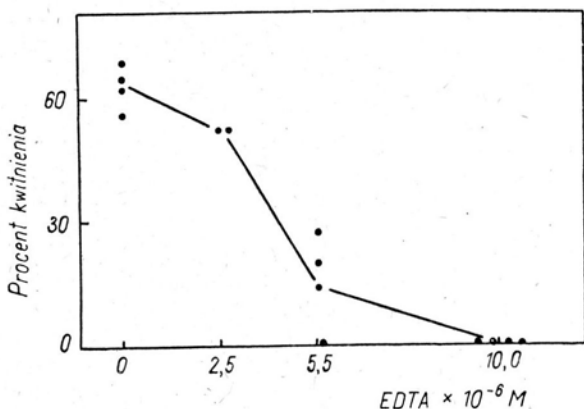
Kwitnienie *Lemna perpusilla* 6746 na pożywce Hutnera normalnej i rozcieńczonej, z dodatkiem lub bez sacharozy, przy 8 i 16-godzinnym okresie światła. Procent wartości kwitnienia podano w nawiasie, przy czym za kwitnące uważano pędy, w których można rozpoznać jakiegokolwiek stadium rozwijającego się kwiatu. Znak + oznacza kwiaty widoczne, znak — oznacza brak widocznych kwiatów, natomiast nie wyklucza obecności wczesnych zawiązków kwiatowych. Każda wartość kwitnienia odnosi się do pojedynczej kultury (wg Hillmana 1959b)

A. 8 godz. okres światła	Dni hodowli		
	7	8	9
Pożywka			
Hutnera	—	—	+
Hutnera, 1% sacharozy	—	+	+(80,82)
1/5 × Hutnera	—	—	+
1/5 × Hutnera, 1% sacharozy	—	+	+

B. 16 godz. okres światła	Dni hodowli		
	14	19	23
Pożywka			
Hutnera	— (0)	— (1,2)	— (11,11)
Hutnera, 1% sacharozy	— (0)	— (4,7)	— (9,12)
1/5 × Hutnera	— (0)	— (8,10)	— (16,17)
1/5 × Hutnera, 1% sacharozy	— (0)	+(28,32)	+(44,49)

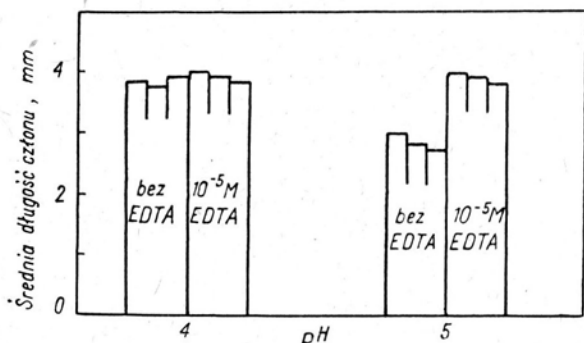
Aby zbadać, czy u rzęs kwitnienie jest wynikiem substancji inicjującej kwitnienie, wytwarzanej przez rośliny, czy też powoduje je jakiś składnik pożywkowy, przeprowadzono doświadczenie na normalnej i rozcieńczonej pożywce Hutnera. W warunkach krótkiego dnia (tab. IIA) rośliny zakwitają szybko zarówno w rozcieńczonej, jak i normalnej pożywce Hutnera z dodatkiem lub bez sacharozy. Sacharoza nieznacznie przyspiesza proces kwitnienia, gdyż wpływa ona dodatkowo na wzrost. W warunkach długiego dnia (tab. IIB) w 14 dniu nie znaleziono żadnych kwiatów. Dopiero w 19 dniu na rozcieńczonej pożywce Hutnera z dodatkiem sacharozy kwitnienie wynosi około 30%, podczas gdy na normalnej pożywce Hutnera z dodatkiem sacharozy procent kwitnienia był niski. W pożywce rozcieńczonej człony stają się w 19 dniu żółtozielone, a w 23 — zupełnie żółte. Pędy w tych kulturach znajdują się w mniejszej ilości, nie pokrywają powierzchni pożywki, podczas gdy pędy w normalnej pożywce z dodatkiem sacharozy w tym czasie są silnie zagęszczone, zajmując całkowicie powierzchnię pożywki. Stąd można wyciągnąć przypuszczenie, że kwitnienie na starej pożywce i długim dniu jest raczej spowodowane przez chemiczny składnik pożywkowy niż przez akumulację substancji

indukującej kwitnienie, produkowanej przez rośliny. Dodatek 10^{-5} M EDTA do pożywki Gorhama lub pożywki L zupełnie powstrzymuje kwitnienie na długim dniu. Po 6 dniach wzrostu i 16-godzinny okresie światła średni procent kontrol — 62 spada stopniowo do zera wraz ze wzrostem stężenia EDTA (ryc. 10).



Ryc. 10. Kwitnienie *Lemna perpusilla* 6746 na długim dniu (16 godz.) na pożywce L z dodatkiem sacharozy i jego zahamowanie przez EDTA. Każdy punkt oznacza jedną kulturę (wg Hillmana 1959b)

Przez dodanie EDTA do pożywki Gorhama i pożywki L uzyskuje się nie tylko powstrzymanie kwitnienia na długim dniu, lecz także przyśpieszenie wegetatywnego wzrostu, przy czym pędy stawały się większe i ciemnozielonego koloru. Przeciętny procent kwitnienia w obu wypadkach przy $pH = 4$ i $pH = 5$ bez EDTA wynosi 60. Natomiast dodatek 10^{-5} M EDTA powstrzymuje zupełnie kwitnienie w obu warunkach, przy czym przy $pH = 4$ nie ma zmian w długości członów, zaś przy $pH = 5$ ich długość zwiększa się o około 30% (ryc. 11).



Ryc. 11. Wpływ EDTA na długość członów *Lemna perpusilla* 6746 przy 2 różnych pH . W każdej kulturze mierzono 10 dojrzałych członów. Doświadczenia wykonano w 3 powtórzeniach (wg Hillmana 1959b)

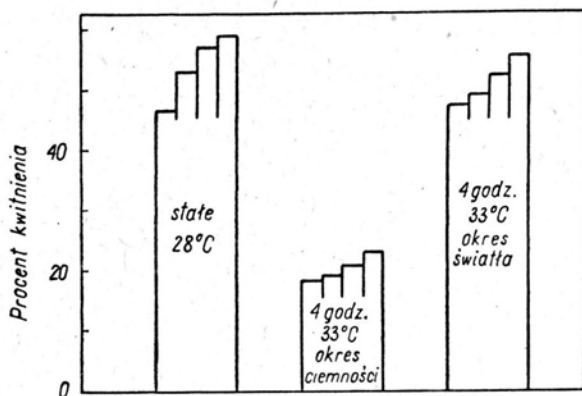
Oprócz EDTA istnieją jeszcze inne substancje chemiczne powstrzymujące kwitnienie na długim dniu, jak kwas cytrynowy lub winowy, który dodany do pożywki L powstrzymuje zupełnie kwitnienie w stężeniu $1-3 \times 10^{-3}$ M.

Stymulujący wpływ starej pożywki. Kandeler (1955) badając fizjologię kwitnienia *Lemna gibba* zauważył, że stara pożywka wywiera stymulujący wpływ na kwitnienie. Mogłoby to przemawiać za wydzielaniem przez rośliny bliżej nieznannej substancji indukującej kwitnienie. Kwitnienie u większości szczepów rzęs rozpoczyna się po 14 dniach, przy czym następuje ono przeważnie najpierw w starych kulturach. Jeśli przenieść tak kwitnącą roślinę do świeżej pożywki, to nowo utworzone pędy wegetatywne nie kwitną zaraz, lecz po upływie takiego samego czasu (około 15 dni), kiedy powierzchnia pożywki jest całkowicie pokryta. Stąd wynika wniosek, że w pożywce zachodzą pewne, bliżej nieznanne zmiany, które dopiero pozwalają na kwitnienie. Badania wykazały, że tym czynnikiem nieznanym nie jest zmiana pH pożywki podczas wzrostu. Czynniki ten nie został dotychczas wykryty. W badaniach dla wyeliminowania jego wpływu, stosowano metodę przeszczepiania roślin w warunkach sterylnych co 3 dni na świeżą pożywkę. Do przeszczepienia brano tylko jeden pęd potomny, podczas gdy roślinę macierzystą i ewentualne inne pędy odrzucano, przez co wprowadzano fizjologiczną jednolitość materiału. Na świeżej pożywce udało się uzyskać kwitnienie u *Lemna gibba* (Kandeler 1955), gdy używano oświetlenia mającego widmo od długiego ultrafioletu aż po daleką podczerwień (patrz: Zależność kwitnienia od długości dnia).

Niekwitnące szczepy kultur pomieszane z kwitnącymi są pobudzane do wytwarzania kwiatów i tak np. *Lemna gibba* kwitnie doskonale z mieszanymi kulturami kwitnącej *Lemna minor*.

Temperatura

Optymalna temperatura, w jakiej kwitną rzęsy, wynosi od 25–30°C. Stałe temperatury powyżej 31°C powstrzymują zupełnie kwitnienie *Lemna perpusilla* na pożywkach Gorhama i pożywce L przy 8- i 16-godzinnym okresie światła. Jeśli zmodyfikowano doświadczenia prowadzone na krótkim dniu przy temperaturze 28°C działaniem wyższej temperatury (33°C) w ciemności, kwitnienie zostało zahamowane o około 50%. Działanie zaś wysokiej temperatury (33°C) na świetle nie posiada żadnego wpływu na kwitnienie (ryc. 12). Przeprowadzone doświadczenia wskazują więc na wysoką wrażliwość indukcji fotoperiodycznej na temperaturę w okresie ciemności dla roślin krótkiego dnia.



Ryc. 12. Wynik działania 4-godzinnej wysokiej temperatury (33°C) na kwitnienie *Lemna perpusilla* 6746 na krótkim dniu, wykazujący wysoką czułość w okresie ciemności. Powyższe wartości otrzymano piątego dnia. Doświadczenia wykonano w 3 powtórzeniach (wg Hillmana 1959b)

III. Optymalne warunki kwitnienia niektórych gatunków *Lemna*

Landolt (1957) uzyskał na drodze laboratoryjnej kwitnienie u 3 gatunków: *Lemna minor*, *Lemna gibba*, *Lemna perpusilla*. Wszystkie kwitnące szczepy, kwitły tylko przy stosunkowo wysokich temperaturach (24 i 30°C) i intensywności światła 2000, 2500 i 9000 luksów. Warunki kwitnienia poszczególnych gatunków są różne.

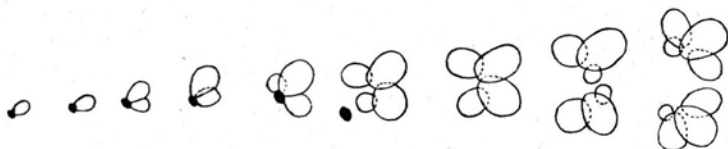
Lemna minor kwitnie najlepiej na pożywce Hutnera z dodatkiem sacharozy przy intensywności oświetlenia 2500 luksów i temperaturze 30°C jako roślina typowo długiego dnia (16 godzin światła), przy czym pędy starsze są zanurzone w pożywce.

Lemna gibba, roślina dnia długiego wymaga do zakwitania stosunkowo dużej intensywności światła (9000 luksów) i temperatury około 24°C. W pożywce bez sacharozy *Lemna gibba* kwitnie obficie, zwłaszcza w starych kulturach. U szczepu 7007 zauważono pojedyncze owoce.

Lemna perpusilla 6746 kwitnie w dużej ilości w różnych warunkach. W pożywce z sacharozą i bez sacharozy tworzy dużo kwiatów przy 16-godzinnym oświetleniu (9000 luksów) i temperaturze 30°C. Kwitnie także przy 10-godzinnym okresie światła (700 luksów) w temperaturze 22–24°C. Landolt (1957) otrzymał także kwiaty *Lemna perpusilla* 6746 w ciemności przy temperaturze 30, 26, 24, 23, 20°C. Pożywka Hutnera zawierała sacharozę, aminokwasy i ekstrakt drożdżowy. Ciemność przerywano kilka razy dziennie przez naświetlanie słabym światłem. Natomiast w zupełnej ciemności nie otrzymano kwiatów.

Rozmnażanie wegetatywne i wytwarzanie turionów

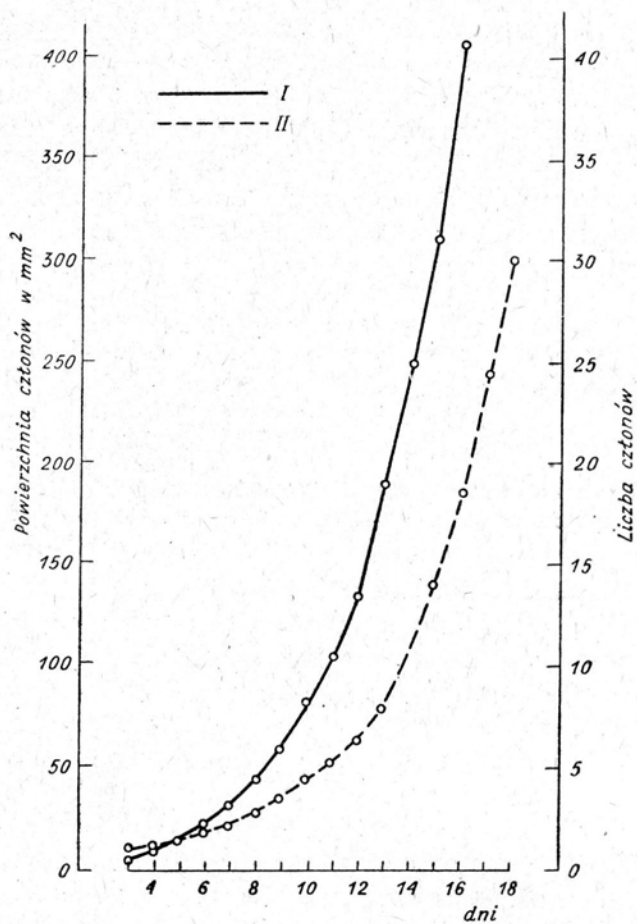
Rzadkość kwitnienia rzęsy, a nawet całkowita utrata zdolności do kwitnienia łączy się z innym interesującym zjawiskiem życiowym — niezwykle intensywnym rozmnażaniem wegetatywnym. Rozmnażaniem tym rzęsy kompensują niejako brak rozmnażania płciowego. Pędy macierzyste tworzą kolejno z tkanki merystematycznej znajdującej się w prawej lub lewej «kieszeni» spłaszczonego pędu nowe człony pędowe (Ashby, Bolas, Henderson 1928). Roślina złożona z kilku członów rozpada się na dwa osobniki (Czopek 1959b), rozmnażające się dalej w opisany powyżej sposób (ryc. 13).



Ryc. 13. Schemat powstawania i rozczłonkowanie się osobnika *Spirodela polyrrhiza* po wykiełkowaniu z turionu (wg Czopka 1959b)

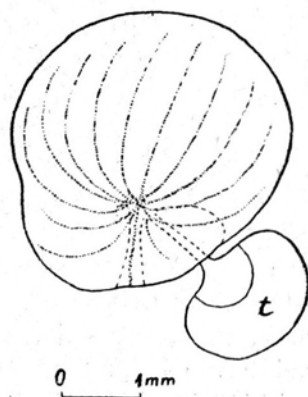
W sprzyjających warunkach szybkość mnożenia się pędów jest niezwykle duża. Człon *Lemna perpusilla* podwaja się w przeciągu 25 godzin. Szybkość ta jest oczywiście znacznie mniejsza niż u roślin niższych (bakteria *Escherichia coli* — 20 minut, drożdże *Willia anomala* — 1,5 godz., zielenica *Chlorella* — 3,5 godz.), stanowi jednak rekord wśród roślin kwiatowych. Zarówno przyrost powierzchni jak i przyrost liczby członów odbywa się w sposób typowo wykładniczy (ryc. 14).

Niektóre gatunki z rodziny Lemnaceae są zdolne do wytwarzania organów przetrwalnych, tzw. turionów, pozwalających organizmowi na przeżycie w niekorzystnych warunkach zimy. Organa te, powstające w naturze od lipca do późnej jesieni (Jacobs 1947, Henssen 1954, Landolt 1957), są pędami o zwartej budowie anatomicznej, zawierającymi w komórkach bardzo dużo ziarn skrobi (Ludwig 1934, Jacobs 1947, Henssen 1954). Turiony *Spirodela polyrrhiza* (ryc. 15) są soczewkowatymi tworami barwy oliwkowozielonej o powierzchni około 4,5 mm² (pęd wegetatywny tej rośliny ma około 32 mm²) (Czopek 1959b). Wśród naszych gatunków rzęsy także *Lemna minor* i *Wolffia arrhiza* mają zdolność wytwarzania turionów (Landolt 1957). Turiony *Lemna minor* są nieco mniejsze od pędów wegetatywnych, ciemnozielone i mają tylko zaczątek korzenia. Turiony *Wolffia* nie różnią się wielkością od normalnych członów. Organa przetrwalne opadają na dno zbiornika wodnego, gdzie przezimowują. Wiosną, kiedy temperatura wody i intensywność światła wzrastają, turiony zaczynają kiełkować. Badania laboratoryjne nad fizjologią procesu kiełkowania turionów u *Spirodela polyrrhiza* (Czopek 1959b), wskazują, że wytwarzają one 1—3 korzonków skierowanych

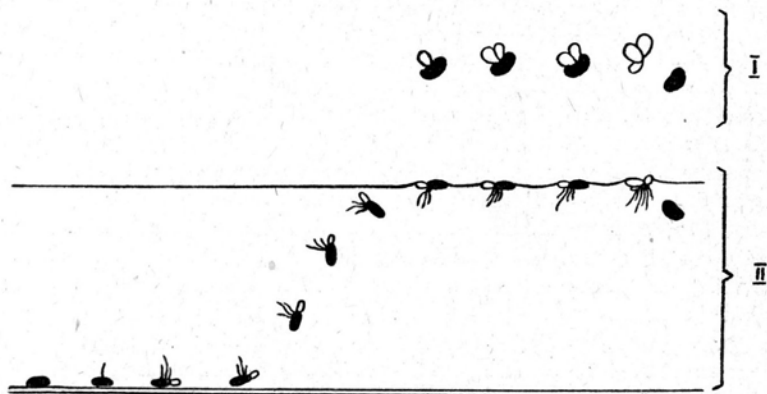


Ryc. 14. Przyrost powierzchni i liczby członów *Spirodela polyrrhiza* jako funkcja czasu. Pomiary rozpoczynano w momencie kiełkowania turionu. I — przyrost powierzchni, II — przyrost liczby członów (wg Czapka 1959b)

Ryc. 15. Pęd *Spirodela polyrrhiza* wytwarzający turion (t) (wg Hegelmaiera 1868)



do góry oraz zaczątek pędu potomnego. W tym czasie średni ciężar właściwy młodej rośliny zmniejsza się na skutek gromadzenia się powietrza w przestworzach komórkowych rozwijającego się członu. W rezultacie tego zjawiska roślina wypływa na powierzchnię wody, obracając się przy tym o 180° (ryc. 16). Dalszy rozwój pędu odbywa się już na powierzchni wody. Kiedy substancje zapasowe turionu zostaną wyczerpane, resztki jego odpadają; w tym czasie roślina zdolna jest już w pełni do fotosyntezy i rozmnaża się dalej na drodze wegetatywnej.



Ryc. 16. Schemat przebiegu kiełkowania turionu *Spirodela polyrrhiza*. I — widok z góry, II — widok z boku (wg Czopka 1959b)

Możliwość wywołania w krótkim czasie na drodze eksperymentalnej kwiatów, łatwość rozmnażania na drodze wegetatywnej oraz wytwarzanie turionów, predestynują rzęsy jako doskonały, łatwy do hodowli materiał fizjologiczny do badań nad rozwojem roślin.

Zakład Fizjologii Roślin Polskiej Akademii Nauk w Krakowie.

LITERATURA

1. Ashby E., Bolas B. D., Henderson F. Y., 1928. The interaction of factors in the growth of *Lemna*. Ann. Bot. 42, 771—782.
2. Czopek M., 1959a. Cultivation of Polish Lemnaceae species in laboratory conditions. Acta Biol. Crac. Ser. Bot. Vol. II, 13—22.
3. Czopek M., 1959b. Researches on the physiology of formation and germination of turions in *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleiden. Acta Biol. Crac. Ser. Bot. Vol. II.
4. Hegelmaier F., 1868. Die Lemnaceen. Eine monographische Untersuchung. Leipzig, 169 s.
5. Henssen A., 1954. Die Dauerorgane von *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleid. in physiologischer Betrachtung. Flora 141, 523—566.
6. Hicks L. E., 1932. Flower production in Lemnaceae. Ohio Jour. Sci. 32, 115—132.
7. Hillman W. S., 1957. Nonphotosynthetic light requirement in *Lemna minor* and its partial satisfaction by kinetin. Science 126, 165—166.
8. Hillman W. S., 1958. Photoperiodic control of flowering in *Lemna perpusilla*. Nature 181, 1275.

9. Hillman W. S., 1959a. Experimental control of flowering in *Lemna*. I. General methods. Photoperiodism in *Lemna perpusilla* 6746. Amer. Jour. Bot. 46, 466—473.
10. Hillman W. S., 1959b. Experimental control of flowering in *Lemna*. II. Some effects of medium composition, chelating agents and high temperatures on flowering in *Lemna perpusilla* 6746. Amer. Jour. Bot. 46, 489—495.
11. Hillman W. S. and Galston A., 1957. Inductive control of indoleacetic acid oxidase activity by red and near infrared light. Plant Physiol. 32, 129—135.
12. Jacobs D. L., 1947. An ecological life history of *Spirodela polyrrhiza* (greater duckweed) with emphasis on the turion phase. Ecol. Monogr. 17, 437—469.
13. Kandeler R., 1955. Über die Blütenbildung bei *Lemna gibba* L. I. Kulturbedingungen und Tageslängenabhängigkeit. Zeit. f. Bot. 43, 61—71.
14. Kandeler R., 1956. Über die Blütenbildung bei *Lemna gibba* L. II. Das Wirkungsspektrum von blühförderndem Schwachlicht. Zeit. f. Bot. 44, 153—174.
15. Landolt E., 1957. Physiologische und ökologische Untersuchungen an Lemnaceen. Ber. Schweiz. Bot. Ges. 67, 271—410.
16. Liverman J. L. and Bonner J., 1953. The interaction of auxin and light in the growth responses of plants. Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. 39, 905—916.
17. Ludwig F. 1934. Familie Lemnaceae. In Kirchner O., Loew E., und Schröter C., Lebensgeschichte der Blütenpflanzen Mitteleuropas. Bd. I. Abt. 3, 57—80, Stuttgart.
18. Luther H. 1948. Die Funde von blühenden Lemnaceen in Finnland. Memor. Soc. pro Fauna et Flora Fennica, 24.
19. Szafer W., Kulczyński S., Pawłowski B., 1953. Rośliny polskie, Warszawa, PWN, 954—956.
20. Wangermann E. und Lacey H. J., 1952. Some effects of ultraviolet radiation on *Lemna minor*, Nature 170, 126—127.