

JANINA H. ROGOZIŃSKA

CYTOKININY I ICH ZNACZENIE W PROCESACH FIZJOLOGICZNYCH ROŚLIN

Cytokininy stanowią grupę substancji wzrostowych, która obok auksyn i gibberelin ma ważne znaczenie we wzroście i rozwoju roślin. Cytokininy są pochodnymi 6-aminopuryny, przy czym do grupy aminowej dołączony jest łańcuch alkilowy lub grupa arylova.

Poza stymulacją cytokinezy, wpływają one na wzrost objętości komórek oraz na tempo i kierunek przemian metabolicznych. Ponadto współdziałają z innymi hormonami w indukowaniu różnicowania i organogenezie oraz kształtowaniu dominacji wierzchołkowej.

Tak więc cytokininy odgrywają doniosłą rolę w wielu procesach ontogenezy roślin, co przedyskutowano w niniejszym przeglądzie.

Koncepcja czynnika podziału komórki

Istnienie specyficznego czynnika podziału komórki roślinnej postulowane było już przez Wiesnera w 1892 roku. Tę ideę podbudowały prace Haberlandta, z których pochodzi koncepcja hormonu przyrannego. Współczesnym dowodem istnienia aktywnego czynnika w tkance przewodzącej (leptohormonu według terminologii Haberlandta) są prace Jablonskiego i Skooga [27]. Wykazali oni, iż podział komórek tkanki rdzenia tytoniu może być indukowany przez umieszczenie jej w kontakcie bezpośrednim lub pośrednim z tkanką przewodzącą.

W próbach izolacji hormonów przyrannych, English i współpracownicy wyizolowali kwas traumatynowy ($\text{COOH}-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_8-\text{COOH}$). Nie został on powszechnie uznany za czynnik podziału komórek, ponieważ nie stymulował tego procesu w tkankach takich roślin, jak klonu, tytoniu, ziemniaka i innych [27, 61]. W końcu efektywność cytokinin, działających w znacznie niższych stężeniach i o zupełnie innej od kwasu traumatynowego budowie chemicznej i właściwościach, stały się dodatkowym argumentem przeciwko jego roli w regulacji podziału komórek.

Naturalne źródła substancji wywołujących podział komórek

Rozwój badań nad substancjami czynnymi został umożliwiony dzięki postępowi w hodowli zarodków i tkanek *in vitro*. W hodowlach tkanek roślinnych zrealizowanych w 1939 r. przez Gauthereta [18], Nobécourta [52] i White'a [90], używano zmodyfikowanej pożywki Knopa lub White'a z pierwiastkami śladowymi, cukrami, witaminami i auksyną. Gautheret [18] wykazał, iż auksyna często była czynnikiem decydującym dla wzrostu tkanek *in vitro*. Pożywki te były odpowiednie dla hodowli tkanek sąsiadujących z kambium, jednakże były niewystarczające dla tkanek bardziej od kambium odległych [19, 91]. Brak było widocznie czynników wymaganych dla podziału komórek.

Van Overbeek i wsp. [86] wykazali, że dodanie do pożywki Tukeya płynnego endospermu orzechów kokosowych, umożliwia wzrost i rozwój niedojrzałych zarodków *Datura*. Podobne efekty otrzymano z ekstraktem słodowym, drożdżowym i migdałowym [5, 87].

Caplin i Steward [8] wykazali, że mleko kokosowe stymuluje również wzrost tkanki łykowej marchwi. Stwierdzili ponadto, że ekstrakt z ziarniaków kukurydzy, będących w stadium mlecznej dojrzałości, zastępuje mleko kokosowe. Wraz z postępowaniem w metodyce biotestów znaleziono obecność substancji wywołujących podział komórek u około 40 gatunków roślin wyższych [39].

Ponieważ nie dysponowano wówczas odpowiednio specyficznymi biotestami a ponadto tylko niektóre z ekstraktów badano w częściowo oczyszczonym stanie, znaczenie niektórych wcześniejszych prac jest problematyczne.

Próby izolacji czynników wywołujących podział komórek

Próby wyizolowania aktywnych czynników wykazały niezbicie obecność substancji wywołujących podział komórek w roślinach i ich powszechne występowanie [39, 48].

Izolacja substancji aktywnych z mleka orzecha kokosowego. Po wykazaniu na zarodkach *Datura* właściwości wzrostowych mleka kokosowego [86] van Overbeek i wsp. [87] usiłowali wyizolować ów aktywny czynnik, jednakże uzyskano tylko około 170-krotne oczyszczenie.

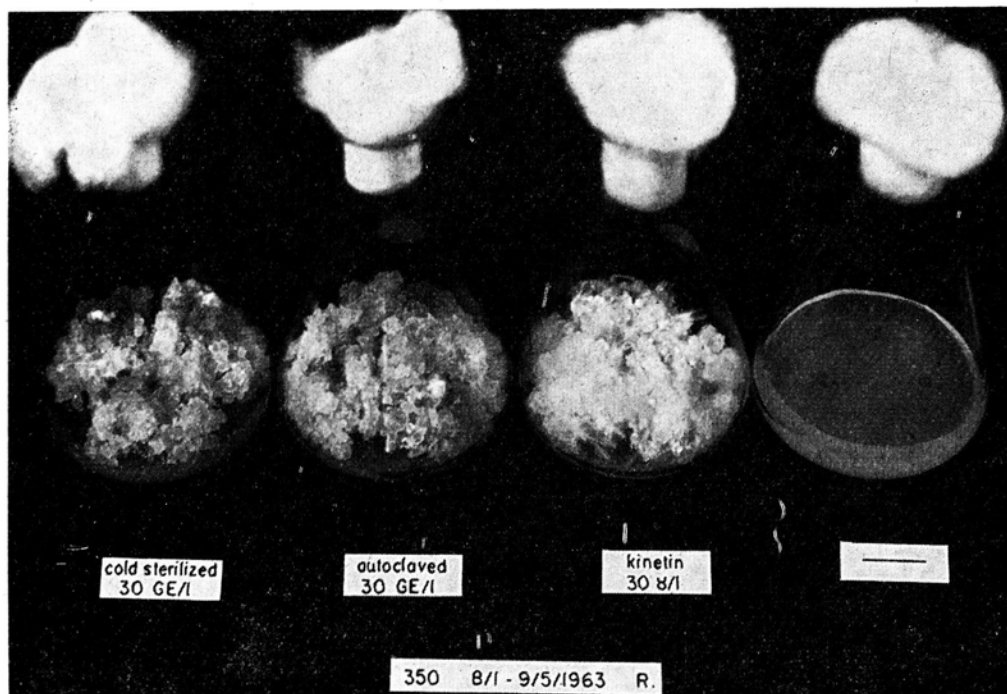
W 1952 r. Shantz i Steward opublikowali pierwszą z ich długiej serii pracę nad próbami izolacji aktywnych czynników również z mleka kokosowego. Otrzymano cztery związki, z których jeden zidentyfikowano jako 1,3-dwufenylomocznik [71]. Reasumując wyniki prac grupy Stewarda, Pollard i wsp. [57] cytują trzy czynniki, decydujące o właściwościach wzrostowych mleka kokosowego. Są nimi: źródło zredukowanego azotu (wolne aminokwasy), różne inozytole i pewien dotychczas niezidentyfikowany „aktywny czynnik“.

Mauney i wsp. [44] usiłowali również wyizolować aktywny czynnik z endospermu orzecha kokosowego, stwierdzając w przeciwieństwie do Stewarda i Shantza [79], iż większość aktywności obecna była w stałym a nie w płynnym

endospermie. Shaw i Srivastava [72] wykazali, iż aktywność ta związana jest z obecnością pochodnych purynowych. Cytokiny orzecha kokosowego nie zostały jednakże dotychczas wyizolowane.

Izolacja kinetyny z DNA. Nowoczesna era badań nad cytokinami zaczyna się od izolacji kinetyny w 1955 roku. W trakcie wcześniejszych prac nad aktywnymi związkami zauważono, że aktywny czynnik z drożdży był rozpuszczalny w eterze, i zawierał purynę. Te dane doprowadziły Millera i wsp. [47] do badania ekstraktów eterowych z DNA i w końcu do izolacji kinetyny. Substancje działające podobnie jak kinetyna zostały nazwane kininami, a potem zmieniono nazwę na cytokiny [76].

Izolacja cytokinin z grochu. Zwar i Skoog [94] wykazali, że ekstrakty z młodych siewek grochu zawierają czynniki stymulujące wzrost tkanek tytoniu. W dalszych pracach [60], zmierzających do izolacji naturalnych cytokinin, izolowano je z wody pozostałej po wstępnym procesie stosowanym w technologii konserwowania grochu. Wykazano, że wyizolowany związek (7 mg z 14 kg ekstraktu pochodzącego z 3000 kg świeżego grochu) posiadał podobne do cytokinin właściwości biologiczne (ryc. 1) i fizykochemiczne, typowe dla pochodnych purynowych.



Ryc. 1. Biotest tytoniowy wykazujący aktywność cytokinin grochu w frakcjach sterylizowanych przez filtrację oraz autoklawowanie. Z lewej ku prawej: 1) frakcja z grochu sterylizowana przez filtrację, 2) frakcja z grochu sterylizowana przez autoklawowanie 3) kontrola z kinetyną 30 $\mu\text{g/l}$, 4) kontrola bez kinetyny

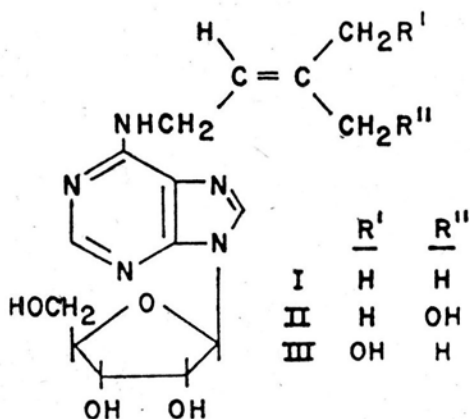
W dwa lata później Hall i wsp. [23] potwierdzili występowanie cytokinin w grochu. Cytokiny grochu, obecne w tRNA zidentyfikowano jako 6-(γ,γ -dwumetyloallylo)adenozynę (ryc. 2, I) oraz jako hydroksylową pochodną tej cytokiny, cis rybozyd zeatyny (ryc. 2, II).

Izolacja cytokinin z niedojrzałych ziarniaków kukurydzy. Haagen-Smit i współpracownicy pierwsi zwrócili uwagę, że ziarniaki kukurydzy, będące w stadium młeczej dojrzałości, są bogatym źródłem substancji stymulujących podział komórki, co potwierdziły również prace Stewarda i wsp. [8, 79].

Z związków wyizolowanych z kukurydzy przez Beauchesne i wsp. [2] jeden wydawał się być adeniną podstawioną w pozycji 6 aminokwasem.

W analogicznych pracach Letham otrzymał pierwszą krystaliczną cytokinę — zeatynę (2 mg z 70 kg) z niedojrzałych ziarniaków kukurydzy [37]. Czynniki wyizolowane w 1961 roku przez Millera zostały następnie zidentyfikowane również jako trans zeatyna [38].

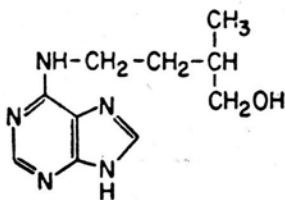
Z ziarniaków kukurydzy Hall i wsp. [23] wyizolowali także zlokalizowaną w tRNA cis rybozylozeatynę (ryc. 2, II). Ponadto, ci sami autorzy wyizolowali wyżej wspomniany związek oraz 6-(γ,γ -dwumetyloallylo)adenozynę również z tRNA szpinaku.



Ryc. 2. Rybozydowe pochodne naturalnych cytokinin: 6-(γ,γ -dwumetyloallylo)adenozyna (I), oraz cis (II) i trans (III) rybozyd zeatyny.

Ostatnio badacze japońscy [30] otrzymali z niedojrzałych nasion łubinu żółtego analog zeatyny, dwuhydrozeatynę, w której łańcuch boczny jest nienasycony (ryc. 3).

Naturalnym źródłem cytokinin mogą też być patogeny roślinne, jak np. *Corynebacterium fascians*, *Agrobacterium tumefaciens* i owady minujące, wywołujące bujanie tkanek (crown-gall, galasy itp.).



Ryc. 3. Naturalna cytokinina łubinu: dwuhydrozeatyna

Lokalizacja cytokinin w organach roślinnych

W większości prac stwierdzono aktywność cytokinin w ekstraktach roślinnych, pochodzących z szybko rosnących tkanek takich, jak niedojrzałe, rozwijające się owoce.

Poza kukurydzą, Letham wykazał obecność cytokinin w owocach śliwy, jabłoni, brzoskwini, gruszy i dyni [39]. Bottomley i wsp. [7] donieśli o istnieniu analogicznej aktywności w 10 odmianach jabłoni, stwierdzając obecność cytokinin nie tylko w owocach lecz również w pąkach kwiatowych i nasionach. Ponadto przebadali kambialne ekstrakty z sosny, eukalyptusa i tytoniu, wykazując że posiadały one również aktywność.

Czynniki o analogicznej aktywności do kinetyny stwierdzono także w korzeniach tytoniu [50] i fasoli [69] oraz eksudatach korzeni słonecznika [29].

Miller i Witham [49] przebadali występowanie cytokinin w siewkach kukurydzy w trakcie ich rozwoju, stwierdzając ich obecność we wszystkich organach i maksimum aktywności w niedojrzałych ziarniakach.

Stosunkowo mało jest danych o występowaniu cytokinin u drzew szpilkowych. W pracach dotyczących lokalizacji cytokinin u sosny [63] wykazano, że najwięcej występuje ich w pączkach, przy czym tylko nieznaczna ich część związana jest z tRNA (64).

Rola cytokinin w roślinach

W metabolizmie

Okazało się, że zarówno kinetyna, jak i liczne jej analogi, posiadają znaczny wpływ na szereg procesów metabolicznych.

Richmond i Lang [58] wykazali, że w odciętych liściach *Xanthium* umieszczonych w roztworze kinetyny, opóźniła ona ich naturalne żółknięcie. Autorzy ci wskazują na możliwość połączeń jakie mogą istnieć między kinetyną, syntezą białka i migracją substancji w czasie żółknięcia.

Dalsze badania wykazały, że cytokininy są najefektywniejszymi retardantami starzenia. Przejawem opóźnienia starzenia jest utrzymanie struktury błon plazmatycznych i rybosomów [73]. Zastosowanie cytokinin na liście sadzonek opóźnia

ich starzenie lecz stymuluje starzenie przyległych nietraktowanych liści [36]. Jest to prawdopodobnie konsekwencją kierowanego transportu związków odżywczych z nietraktowanych do traktowanych cytokininą miejsc. Leopold i Kawase [36] sugerowali, że wysokie stężenia naturalnych cytokinin w wierzchołkach łodygi i owocach mogą być endogennymi induktorami starzenia liści w roślinach.

Prace Mothesa [50] nad ukorzeniem liści wykazały, że korzenie nie tylko opóźniają rozkład białka, ale również mogą zwiększać jego syntezę. Podobnie działa kinetyna. Istnieją dane [29, 39, 50] wykazujące, że niektóre cytokiny są syntetyzowane w wierzchołku korzenia i translokowane do liści, gdzie grają ważną rolę w regulacji metabolizmu i starzenia.

Oprócz opóźniania starzenia liści, cytokiny mogą także odmładzać i indukować tworzenie chlorofilu w liściach, które się już zestarzały i pożółkły [33]. Dzięki tym właściwościom cytokiny znalazły szerokie zastosowanie jako inhibitory starzenia w przechowywaniu warzyw.

Egzogennie zastosowane cytokiny zwiększają tolerancję niektórych tkanek roślinnych zarówno na niskie, jak i wysokie temperatury [50, 74], i sprawiają, że tkanki liściowe niektórych gatunków są bardziej odporne na infekcję grzybów [13]. Cytokiny wpływają również na gospodarkę wodną roślin, zwiększając tempo transpiracji w odciętych liściach i stymulując otwieranie szparek [41].

Biochemiczne efekty wywołane egzogennymi cytokininami w starzejących się liściach obejmują stymulację syntezy RNA i białka [53], lipidów oraz cukrowców [42, 50], normalizację aktywności niektórych enzymów [85], zahamowanie aktywności rybonukleazy i dezoksyrybonukleazy [78], opóźnienie obniżenia poziomu auksyn [11], zahamowanie oksydatywnej degradacji adeniny [67] i obniżenie pobierania tlenu [81]. Wpływ cytokinin na metabolizm betacjanu znalazł zastosowanie w bioteście oznaczania cytokinin [31].

Wykazano ostatnio, że cytokiny są zasadami w niektórych tRNA. W hodowlach tkanek, które wymagają egzogennych cytokinin są one inkorporowane do tRNA, przy czym inkorporacja cytokinin do innych rodzajów RNA nie zachodzi lub jest minimalna [16]. Ilość cytokinin występujących w tRNA waha się od 0,05—0,1% [22].

Cytokiny zostały wykryte w hydrolizatach tRNA pochodzenia zarówno bakteryjnego, jak roślinnego i zwierzęcego [3, 22, 23, 64, 77, 93]. Wykazano, że 6-(γ,γ -dwumetyloallylo)adenina występuje w tRNA drożdży [93] i w tRNA wątroby cielęcej [22]. W serynowym [93] i tyrozynowym [43] tRNA cytokina ta jest przyległa do antykodonu i może powodować orientację łańcucha polinukleidowego, który ułatwia łączenie się par zasad z mRNA. Pierwszym efektem egzogennie zastosowanych cytokinin może być umożliwienie syntezy pewnych specyficznych tRNA. Cytokiny mogą oczywiście indukować syntezę białka i wzrost także w inny sposób, np. działając jako genowe derepresory. Chociaż na razie brak dowodów eksperymentalnych dla podtrzymania tej hipotezy, wpływ cytokinin na różnicowanie sugeruje taką ich rolę [39].

W transporcie

Niektóre z efektów wzrostowych powodowanych przez egzogenne cytokiny są prawdopodobnie konsekwencją zdolności tych związków do stymulacji transportu, akumulacji i retencji metabolitów w tkankach i organach. Mothes i wsp. [50] oraz Gunning i Barkley [20] obserwowali na odciętych liściach kierowany, aktywny transport aminokwasów do miejsc traktowanych cytokiną. Podobnie transport fosforu [20], auksyn [11] i innych związków w liściach może być kierowany przez cytokiny. W liściach zachodzą dwa typy transportu stymulowanego cytokinami. Jednym z nich, np. w liściach tytoniu, jest bardzo powolny transport poprzeczny związków, z komórki do komórki, zachodzący na krótkich odcinkach [50]. W liściach kukurydzy natomiast, transport indukowany cytokinami wydaje się być ograniczony do kierunku osiowego, zachodzi przez floem i jest znacznie szybszy [51]. Egzogenne cytokiny wpływają także na ruch fosforu z liścia do liścia i z liścia do pączka poprzez floem [55], mogą także stymulować transport metabolitów w łądygach siewek [68] i znacznie zwiększać transport auksyn w segmentach ogonków [4]. Synergistyczne interakcje między regulatorami wzrostu są włączone w dobrze znane zjawisko aktywnego przemieszczania się metabolitów w kierunku centrów wzrostu [36]. Akumulacja metabolitów w rozwijających się owocach może więc zachodzić w wyniku transportu kierowanego hormonalnie. Wyżej przytoczone fakty i obserwacje wskazują, że cytokiny mogą być ważnymi endogennymi regulatorami przemieszczania się metabolitów.

Cytokiny zastosowane na powierzchnię liści [50] i prawdopodobnie łądyg [65] są trudno translokowane. W segmentach ogonków i dekapitowanych łądygach, cytokiny transportowane są w kierunku bazypetalnym [4], a w liściach tytoniu również w kierunku akropetalnym [35]. Ta translokacja jest zwiększona przez auksynę, która także wykazuje ruch bazypetalny a transport auksyn i cytokin wydaje się być współzależny [4]. Obserwowano również transport cytokin w odciętych korzeniach a także ruch cytokin (z miejsca ich syntezy, jak wykazano u niektórych roślin) do części nadziemnych (29, 70).

Polarny i współzależny ruch auksyn i cytokin w roślinie, może być czynnikiem określającym wzrost, różnicowanie, rozwój różnych organów i tkanek, jak też stopień dominacji wierzchołkowej.

Wpływ cytokin na wzrost

Podział i powiększanie komórek w izolowanych tkankach. Pierwszym efektem jaki obserwowano po traktowaniu tkanek kalusa tytoniu kinetyną, było przyspieszenie podziału komórek. Rola kinetyny wraz z IAA w stymulacji podziału komórek rdzenia tytoniu była szczegółowo badana i stwierdzono, że do syntezy DNA, mitozy i cytokinezy, wymagane są oba związki [54]. Stymulację podziału komórek pod wpływem cytokin stwierdzono następnie w tkankach innych roślin. Niezależnie od stymulacji cytokinezy, kinetyna wpływa również

na zwiększenie objętości komórek. Krążki wycięte z liści fasoli i rzodkiewki, reagowały na kinetynę zwiększeniem swej wielkości [48]. Obserwowano również hamujący wpływ kinetyny na wzrost segmentów łodygi grochu i wydłużanie korzeni cebuli, spowodowane prawdopodobnie zahamowaniem wydłużania komórek [39, 48].

Interakcje cytokinin z auksynami w stymulacji i hamowaniu podziału lub wzrostu komórek mogą mieć duże znaczenie w morfogenezie roślin.

Różnicowanie i organogeneza w izolowanych tkankach. Prace Skooga i współpracowników wykazały, że tkanki utrzymywane w hodowli w stanie nieodróżnicowanym mogą tworzyć pędy lub korzenie, w zależności od odpowiedniej równowagi między auksyną a kinetyną w pożywce. Wykazano następnie, że cytokiny stymulują tworzenie pączków na pędach, korzeniach i liściach u różnych roślin.

W badaniach wpływu cytokinin na morfogenezę tkanek tytoniu [24, 61] obserwowano silniejsze i liczniejsze tworzenie pączków pod wpływem 6-(γ,γ -dwumetyloallylo)adeniny niż pod wpływem innych cytokinin. Stone [80] i Torrey [84] podają, że tworzenie pączków wywoływane niektórymi pochodnymi puryn (w segmentach łodyg lub korzeni) może być wzmożone pod wpływem światła. Potwierdziły to badania przeprowadzone na tkankach tytoniu w których powstawanie pączków na świetle następowało szybciej i przy niższych stężeniach cytokinin niż w ciemności [24, 61]. Zależność między intensywnością światła, stężeniem 6-(γ,γ -dwumetyloallylo)adeniny a czasem pojawiania się pączków przedstawiono w tabeli I.

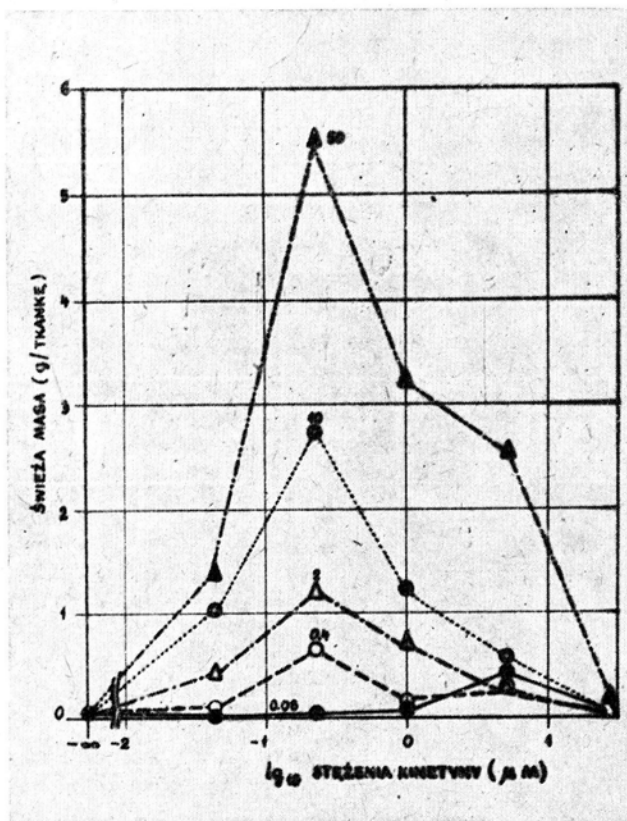
Tabela I

Zależność między intensywnością światła, stężeniem 6-(γ,γ -dwumetyloallylo)adeniny a czasem pojawienia się pączków (24,61).

Stężenie 6-(γ,γ -dwumetyloallylo) adeniny w μM	Intensywność światła w stopach świetlnych			
	800	200	50	0
	Liczba dni po których pojawi się pączki			
0,0	0	0	0	0
0,2	19	0	0	0
1,0	16	25	0	0
5,0	16	19	39	0
25,0	0	25	36	39
				(1 pączek)

Skoog i Miller [75] wykazali, że w pewnych granicach niski stosunek kinetyny do IAA sprzyja tworzeniu korzeni, pośredni wzrostowi nieodróżnicowanego kalusa, a wysoki powstawaniu pączków. W późniejszych badaniach [24, 61] porównano

aktywność morfogenetyczną kinetyny z 6-(γ,γ -dwumetyloallylo)adeniny. Jak przedstawiono na ryc. 4, w nieobecności kinetyny wzrost tkanek był minimalny bez względu na poziom IAA w pożywce. Przy wyższych stężeniach kinetyny (5 i 25 μM) lecz braku egzogennej IAA tworzyły się niewielkie pączki. Tworzenie pączków i ich rozwój były optymalne w obecności obu hormonów.

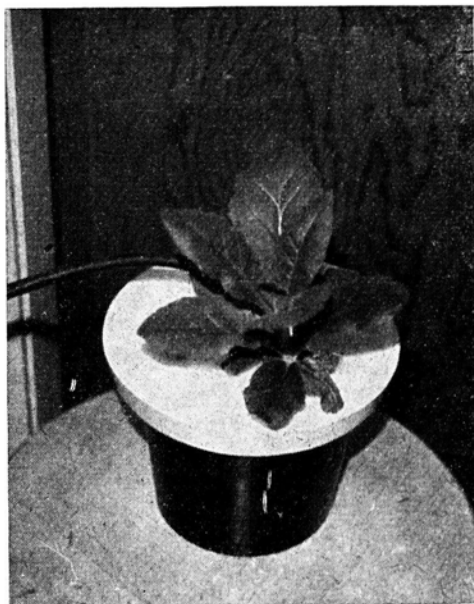
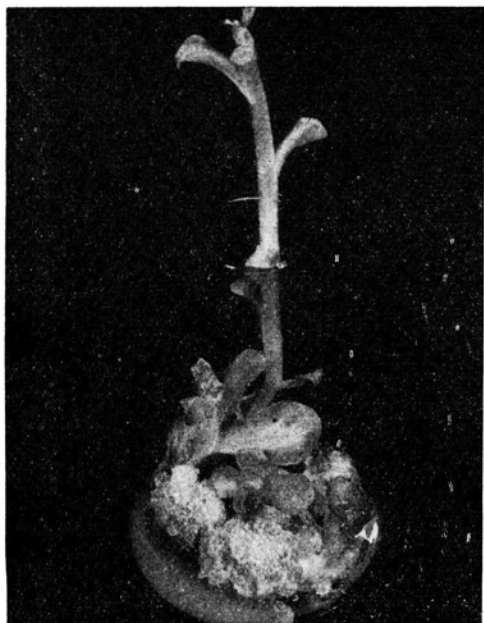


Ryc. 4. Wpływ stężenia kinetyny i IAA na świeżą masę tkanek tytoniu, hodowanych w świetle ciągłym. Liczby na poszczególnych krzywych odnoszą się do stężenia IAA w μM : 0,08, 0,4, 2, 10, 50 [24, 61]

Różnicowanie tkanek hodowanych na pożywce z 6-(γ,γ -dwumetyloallylo)adeniną zachodziło również w nieobecności IAA w pożywce, przy czym było ono znacznie intensywniejsze niż na pożywce z kinetyną. Minimalne stężenia 6-(γ,γ -dwumetyloallylo)adeniny potrzebne dla wywołania organogenezy pączków, zmniejszały się (od 1 do 0,04 μM) w miarę wzrostu poziomu IAA (od 0 do 0,4 μM). Dalszy wzrost stężenia IAA hamował różnicowanie tkanek, jednakże tym słabiej im wyższe było równoczesne stężenie 6-(γ,γ -dwumetyloallylo)adeniny.

Efekty pączkotwórcze cytokinin mogą być blokowane przez inhibitory syntezy RNA i białka [82].

W trakcie badań nad organogenetycznymi efektami cytokinin [24, 61], otrzymano pełny cykl rozwojowy rośliny tytoniu, z grupy komórek somatycznych na całkowicie zdefiniowanej pożywce syntetycznej. Rosnące aseptycznie „roślinki“ (ryc. 5a), przeniesione do płynnej pożywki i umieszczone w świetle o słabej intensywności, szybko się adaptowały i kontynuowały wzrost (ryc. 5b). Przesadzone następnie do gleby, rozwijały się w normalne rośliny tytoniu [24, 61]. Do tego okresu (1964) podobne wyniki uzyskano jedynie na pożywkach z mlekiem kokosowym lub na pożywkach warunkowych.



Ryc. 5. Roślinki powstałe w hodowli *in vitro* z pączków wytworzonych przez tkanki pod wpływem $5 \mu\text{M}$ 6-(γ,γ -dwumetyloallylo)adeniny [24, 61]; a 42 dni po wyszczerpieniu tkanek; b 21 dni po przeniesieniu z pożywek aseptycznych na pożywki płynne

Wzrost całych roślin. Traktowanie roślin cytokininami wpływa na wzrost zarówno organów wegetatywnych, jak i reproduktywnych. Cytokiny absorbowane przez korzenie z pożywek płynnych opóźniają wzrost korzeni, łodyg i liści [92]. Inaczej zachowują się rośliny rosnące w ciemności [17] lub w warunkach ciągłego oświetlenia [83]. Wówczas kinetyna stymuluje wzrost.

Zastosowanie cytokinin na powierzchnie roślin indukowało: rozwój tumorów [66], uwolnienie z dominacji wierzchołkowej pączków bocznych [65], kwitnienie [45, 46], tworzenie pączków [21]. Powodowało też przesunięcie równowagi płciowej w kierunku kwiatów żeńskich i obupłciowych [9], indukowało partenokarpie [12], zwiększało zawiązywanie się owoców [28] oraz stymulowało wzrost owoców [88] i ziaren [1]. Wprowadzenie cytokinin do wnętrza pędu siewek *Pinus radiata*

stymulowało wzrost merystemu wierzchołkowego i pędów bocznych, a komórki parenchymy w ksylemie na nowo podjęły podział [32].

Wymienione efekty wzrostowe, razem z poprzednio diskutowanymi przez Millera [48] i Lethama [39], włączają cytokininy w kontrolowanie prawie każdego aspektu wzrostu roślin. Wiele faz wzrostu, na który mają wpływ cytokininy, jest również pod wpływem działania zarówno auksyn, jak i giberelin. Synergizm i antagonizm, które obserwowano między tymi trzema grupami regulatorów wzrostu, mogą mieć duży wpływ na tempo i typ wzrostu.

Przerwanie spoczynku

Stymulacja kiełkowania nasion. Miller podaje, że kinetyna stymuluje kiełkowanie nasion sałaty w ciemności, i że efekt ten jest podobny do efektu światła czerwonego [48]. Podobne wyniki otrzymano następnie z różnymi innymi nasionami.

Badania Ikumy i Thimanna [26] wykazują, że kinetyna i jej analogi wcale lub tylko nieznacznie stymulują kiełkowanie w odróżnieniu od kwasu giberelowego, który wykazuje w tym procesie dużą aktywność. Odnośnie działania odwracalnego systemu fitochromowego wykazali, że kinetyna powiększa wzrost kiełkowania wywołanego światłem czerwonym, a efekt kinetyny, podobnie jak światła czerwonego, jest zniesiony światłem podczerwonym. Kinetyna stymuluje powiększanie liści, pomagając rozerwać okrywę nasienną.

Spoczynek pączków. Kurz i Kummerow [34] wykazali, że traktowanie kinetyną śpiących pączków zimowych *Hydrocharis*, prowadziło do przerwania ich spoczynku.

Kinetyna i tiokinetyna powodowały również wzrost i przerwanie spoczynku u *Lemna minor* [14]. Podobne wyniki otrzymano traktując kinetyną spoczynkowe korzenie spichrzowe *Ficaria verna* [15], oraz traktując benzyloadeniną winorośl [89]. Chwojka i wsp. [10] donieśli, iż benzyloadenina oraz jej analog zastosowane do ogonków liści jabłoni powodowały wzrost pączków bocznych. W końcu, okres spoczynku krótkopędów *Pinus radiata* również był przerywany kinetyną, tak że zmieniły się w szybko rosnące długopędy [32].

Synteza cytokinin

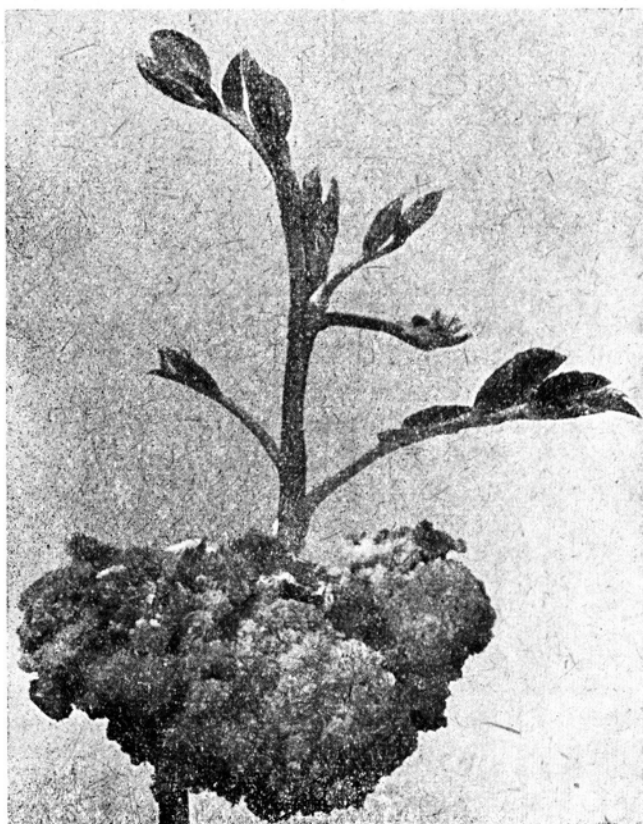
Po izolacji kinetyny zsyntetyzowano wiele związków o zbliżonej budowie chemicznej i aktywności biologicznej. Znane są różne metody syntezy chemicznej cytokinin, a dwie z nich są podstawowe. Jedną jest reakcja 6-chloropuryny z odpowiednią aminą, drugą synteza rybozydów i rybotydów cytokinin, która obejmuje bezpośrednią alkilację adenozyliny lub adenozyliny 5-monofosforanu [25].

Biosynteza cytokinin jest jednakże nie wyjaśniona. Izoprenoidowy charakter podstawnika w pozycji N⁶ naturalnie występujących cytokinin sugeruje, że biosynteza tych związków może być do pewnego stopnia analogiczna do biosyntezy

steroli i innych związków terpenoidowych. Związkiem kluczowym w tej syntezie jest kwas mewalonowy [6]. Jak wykazano ostatnio, jest on rzeczywiście prekursorem bocznego łańcucha γ,γ -dwumetyloallylowego. Peterkofsky [56] stwierdził inkorporację radioaktywnego węgla z kwasu mewalonowego do tRNA, wykazując że związek ten jest prawdopodobnie identyczny z 6-(γ,γ -dwumetyloallylo)adenozyną.

Tak więc podobnie jak gibereliny i kwas abscysynowy, również cytokiny posiadają ten sam prekursor — kwas mewalonowy.

Pewien pogląd na biogenezę i degradację cytokinin dają doświadczenia przeprowadzone z triakantyną, alkaloidem występującym u igliczni. Łatwość z jaką triakantyna [3-(γ,γ -dwumetyloallylo)adenina] ulegała przekształceniu w aktywną substancję *in vitro* [6-(γ,γ -dwumetyloallylo)adeninę] sugerowała, iż analogiczne przekształcenie może zachodzić w wyniku reakcji enzymatycznej w tkance igliczni [59]. W odróżnieniu od triakantyny [62], aktywność podziałową, jak i organogenetyczną wykazał jej N⁶-izomer, jak i inne cytokiny (ryc. 6). Uzyskano więc pierwszy raz indukcję organogenetyczną wywołaną cytokininami w tkance rośliny drzewiastej [62].



Ryc. 6. Efekty wzrostowe i morfogenetyczne benzyloadeniny w tkance liścieni igliczni

Leonard i Deyrup postulowali, iż triakantyna jest metabolitem ubocznym okresu intensywnej podziałów komórek i powstaje w wyniku biosyntezy adeniny z γ,γ -dwumetyloallylopyrofosforanem [62]. Brak aktywności triakantyny u iglicznicy może sugerować, iż triakantyna nie jest prekursorem aktywnego regulatora jakim jest jej N^6 -izomer. Wydaje się, że triakantyna jest produktem inaktywacji 6-(γ,γ -dwumetyloallylo)adeniny i podobne przegrupowania zachodzą być może w procesie inaktywacji innych cytokinin. Byłoby to zgodne z sugestią Linsera [40], iż triakantyna może spełniać analogiczną rolę jak glukobrasycyna w wypadku auksyn. Biogeneza i degradacja cytokinin pozostają więc nadal do wyjaśnienia.

To krótkie przedstawienie niektórych badań nad izolacją i znaczeniem cytokinin bynajmniej nie wyczerpuje wszystkich problemów z tej dziedziny. Wskazuje jedynie na ogromną rolę i znaczenie cytokinin w różnorodnych procesach zachodzących u prawie wszystkich typów roślin, począwszy od bakterii do drzew.

Zakład Dendrologii i Arboretum Kórnickie PAN w Kórniku

Adres obecny: Katedra Fizjologii Roślin WSR w Poznaniu Filia w Bydgoszczy

LITERATURA

- [1] Barnsley G. E., 1964. British patent, Chem. Abstr., 61, 13, 816.
- [2] Beauchesne G., Leboeuf M., Goutarel R., 1964. Régulateurs Naturels de la Croissance Végétale, CNRS, Paris, 119.
- [3] Bellamy A. R., 1966. Nature, 211, 1093.
- [4] Black M. K., Osborne D. J., 1965. Plant Physiol., 40, 676.
- [5] Blakeslee A. F., Satina S., 1944. Science, 99, 331.
- [6] Bloch V. K., 1965. Science, 150, 19.
- [7] Bottomley W., Kefford N. P., Zwar J. A., Goldacre P. L., 1963. Australian J. Biol. Sci., 16, 395.
- [8] Caplin S. M., Steward F. C., 1948. Science, 108, 655.
- [9] Catarino F. M., 1964. Port. Acta Biol., Ser. A, 8, 267.
- [10] Chwojka L., Veres K., Kozel J., 1961. Biol. Plantarum (Praha), 3, 140.
- [11] Conrad K., 1961. Flora (Jena), 151, 345.
- [12] Crane J. C., 1965. Plant Physiol., 40, 606.
- [13] Dekker J., 1963. Nature, 197, 1027.
- [14] Deysson M. G., 1959. Compt. Rend., 248, 841.
- [15] Engelbrecht L., Mothes K., 1962. Naturwiss., 18, 1.
- [16] Fox J. E., 1966. Plant Physiol., 41, 75.
- [17] Fries N., 1960. Physiol. Plantarum, 13, 468.
- [18] Gautheret R. J., 1939. Compt. Rend. Acad. Sci., 208, 118.
- [19] Gautheret R. J., 1955. Ann. Rev. Plant Physiol., 6, 433.
- [20] Gunning B. E. S., Barkley W. K., 1963. Nature, 199, 262.
- [21] Heide O. M., 1965. Planta, 67, 281.
- [22] Hall R. H., Robins M. J., Stasiuk L., Thedford R., 1966. J. Am. Chem. Soc., 88, 2614.
- [23] Hall R. H., Csonka L., David H., McLennan B., 1967. Science, 156, 69.
- [24] Hamzi H. Q., Ph. D., Thesis 1965. University of Wisconsin.
- [25] Helgeson J. P., 1968. Science, 161, 974.
- [26] Ikuma H., Thimann K. V., 1963. Plant and Cell Physiol., 4, 113.

- [27] Jablonski J. R., Skoog F., 1954. *Physiol. Plantarum*, 7, 16.
- [28] Jones C. M., 1965. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, 87, 335.
- [29] Kende H., 1965. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, 53, 1302.
- [30] Koshimizu K., Kusaki T., Mitsui T., 1967. *Tetrahedron Letters*, 14, 1317.
- [31] Köhler K. H., Conrad K., 1966. *Biol. Rdsch.*, 4, 36.
- [32] Kummerow J., Hoffmann C. A., 1963. *Ber. Deut. Bot. Gesell.*, 76, 189.
- [33] Kursanow A. L., Kulajewa O. N., Swiesznikowa I. N., Popowa E. A., Boljakina J. P., Kljaszko N. L., Worobewa I. P., 1964. *Fizjol. Rast.*, 11, 838.
- [34] Kurz L., Kummerow J., 1957. *Naturwiss.*, 44, 121.
- [35] Lagerstedt H. B., Langston R. G., 1967. *Plant Physiol.*, 42, 611.
- [36] Leopold A. C., Kawase M., 1964. *Am. J. Botany*, 51, 294.
- [37] Letham D. S., Shannon J. S., McDonald I. R., 1964. *Proc. Chem. Soc. str.* 230.
- [38] Letham D. S., Miller C. O., 1965. *Plant and Cell Physiol.*, 6, 355.
- [39] Letham D. S., 1967. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 18, 349.
- [40] Linser H., 1966. *Angew. Chem.*, 87, 895.
- [41] Livne A., Vaadia Y., 1965. *Physiol. Plantarum*, 18, 658.
- [42] Maciejewska-Potapczyk W., Łukasiak H., 1959. *Acta Soc. Bot. Pol.*, 28, 95.
- [43] Madison J. T., Everett G. A., Kung H. K., 1967. *J. Biol. Chem.*, 242, 1318.
- [44] Mauney J. R., Hillmann W. S., Miller C. O., Skoog F., Clayton R. A., Strong F. M., 1952. *Physiol. Plantarum*, 5, 485.
- [45] Michniewicz M., Kamińska A., 1964. *Naturwiss.*, 51, 295.
- [46] Michniewicz M., Kamińska A., 1965. *ibid.*, 52, 623.
- [47] Miller C. O., Skoog F., Okumura F. S., von Saltza M. H., Strong F. M., 1956. *Jour. Amer. Chem. Soc.*, 78, 1375.
- [48] Miller C. O., 1961. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 12, 395.
- [49] Miller C. O., Witham F. H., 1964. *Régulateurs Naturels de la Croissance Végétale*, CNRS, Paris, 1-6 (erratum).
- [50] Mothes K., 1964. *Régulateurs Naturels de la Croissance Végétale*, CNRS, Paris, 131.
- [51] Muller K., Leopold A. C., 1966. *Planta*, 68, 186.
- [52] Nobécourt P., 1939. *Compt. Rend. Soc. Biol.*, 130, 1270.
- [53] Olszewska M., 1959. *Exptl. Cell Res.*, 16, 193.
- [54] Patau K., Das N. K., Skoog F., 1957. *Physiol. Plant.*, 10, 949.
- [55] Penot M., 1963. *Compt. Rend.*, 256, 488.
- [56] Peterkofsky A., 1968. *Biochemistry*, 7, 472.
- [57] Pollard J. K., Shantz E. M., Steward F. C., 1961. *Plant Physiol.*, 36, 492.
- [58] Richmond A. E., Lang A., 1957. *Science*, 125, 650.
- [59] Rogozińska J. H., Helgeson J. P., Skoog F., 1964. *Physiol. Plant.*, 17, 165.
- [60] Rogozińska J. H., Helgeson J. P., Skoog F., Lipton S. H., Strong F. M., 1965. *Plant Physiol.*, 40, 469.
- [61] Rogozińska J. H., 1966. *Praca habilitacyjna*, UMK,
- [62] Rogozińska J. H., 1967. *Bull. Acad. Polon. Sci., Sér. sci. biol.*, 15, 313.
- [63] Rogozińska J. H., *ibid.* 789.
- [64] Rogozińska J. H., Legocki A. B., 1969. *ibid.*, 17, 1.
- [65] Sachs T., Thimann K. V., 1964. *Nature*, 201, 939.
- [66] Schaeffer G. W., 1962. *Nature*, 196, 1326.
- [67] Schlee D., Reinbothe H., Mothes K., 1966. *Z. Pflanzenphysiol.*, 54, 223.
- [68] Seth A. K., Wareing P. F., 1964. *Life Sci.*, 3, 1483.
- [69] Seth A. K., Wareing P. F., 1965. *ibid.*, 4, 2275.
- [70] Shah C. B., Loomis R. S., 1965. *Physiol. Plantarum*, 18, 240.
- [71] Shantz E. M., Steward F. C., 1955. *Jour. Amer. Chem. Soc.*, 77, 6351.

- [72] Shaw M., Srivastava B. I. S., 1964. *Plant Physiol.*, 29, 528.
- [73] Shaw M., Manocha M. S., 1965. *Can. J. Botany*, 43, 747.
- [74] Shirakawa T., Dedolph R. R., Watson D. P., 1964. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, 85, 642.
- [75] Skoog F., Miller C. O., 1957. *Biochemical Action of Growth Substances*, Symposia Soc. Expl. Biol., nr. 11, Cambridge Univ. Press, str. 118.
- [76] Skoog F., Strong F. M., Miller C. O., 1965. *Science*, 148, 532.
- [77] Skoog F., Armstrong D. J., Cherayil J. D., Hampel A. C., Bock R. M., 1966. *Science*, 154, 1354.
- [78] Srivastava B. I. S., Ware G., 1965. *Plant Physiol.*, 40, 62.
- [79] Steward F. C., Shantz E. M., 1959. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 10, 379.
- [80] Stone A. G., M. S. Thesis, 1951. University of Wisconsin.
- [81] Sugiura M., 1963. *Botan. Mag. (Tokyo)*, 76, 359.
- [82] Szweykowska A., Schneider J., 1967. *Acta Soc. Bot. Pol.*, 36, 735.
- [83] Tavant H., 1964. *Ann. Sci. Univ. Besancon, Botan.*, nr. 20, 39.
- [84] Torrey J. G., 1958. *Plant Physiol.*, 33, 258.
- [85] Udvardy J., Horvath M., Kisban K., Dezsi L., Farkas G. L., 1964. *Experientia*, 20, 214.
- [86] van Overbeek J., Conklin M., Blakeslee A. F., 1941. *Science*, 94, 350.
- [87] van Overbeek J., Siu R., Haagen-Smit A. J., 1944. *Amer. Jour. Bot.*, 31, 219.
- [88] Weaver R. J., Overbeek J., 1963. *Calif. Agr.*, 17, nr. 9, 12.
- [89] Weaver R. J., 1963. *Nature*, 198, 207.
- [90] White P. R., 1939. *Amer. Jour. Bot.*, 26, 59.
- [91] White P. R., 1951. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 2, 231.
- [92] Wittwer S. H., Dedolph R. R., 1963. *Am. J. Botany*, 50, 330.
- [93] Zachau H. G., Dutting D., Feldmann H., 1966. *Angew. Chem.*, 78, 392.
- [94] Zwar J. A., Skoog F., 1963. *Aust. Jour. Biol. Sci.*, 16, 129.

ZDZISŁAW KAWECKI

POGLĄDY NA DŁUGOŚĆ ŻYCIA NASION DRZEW OWOCOWYCH

Kształtowanie się, rozwój i dojrzewanie nasion jest jednym z etapów w rozwoju roślin wyższych. Wytwarzanie ich gwarantuje zachowanie gatunku. Zauważono, że niektóre rośliny wytwarzają nasiona posiadające bardzo krótki okres żywotności, np. wierzby, orzech włoski, osika (Bucz 1960). Są też takie, które mogą przeleżeć w warunkach sztucznych bądź naturalnych w glebie nawet kilkaset lat. Przykładem mogą być nasiona *Mimosa glomerata*, które mogą żyć ponad 200 lat, lub *Cassia multijuga* ponad 150 lat (Grzesiuk 1967). Trudno jest dokładnie ustalić przez jak długi okres czasu nasiona niektórych gatunków zachowują żywotność, tym bardziej, że często przekracza ona długość życia ludzi.

Dokładniej przebadanymi pod tym względem wydają się być nasiona zaliczane przez Ewarta (1908) oraz Grzesiuka (1967) do mikrobiotycznych, których żywotność nie przekracza 3 lat (nasiona topoli, wierzby, buka, wiązu, cebuli, sałaty marchwi i innych) oraz mezobiotycznych, których żywotność kończy się w przedziale od 3 do 15 lat. Należą tu nasiona większości roślin uprawnych. Najmniej poznanymi są te, które zaliczamy do makrobiotycznych, zachowujących zdolność kiełkowania od 15 do 100 i więcej lat. Należą tu nasiona gatunków z rodzin *Papilionaceae*, *Malvaceae*, *Myrtaceae*, *Labiatae*, *Polygonaceae*, *Tiliaceae* i inne.

Według Barton (1961) długowieczność nasion zależy od szeregu czynników fizycznych, chemicznych, jak też biologicznych, dlatego też często nasiona tego samego gatunku przechowywane w odrębnych warunkach tracą w różnym czasie siłę kiełkowania.

Z czynników środowiska, które w zasadniczy sposób wpływają na długowieczność nasion, należy wymienić temperaturę, wilgotność, światło i dostęp tlenu. Z biologicznych: wpływ okrywy nasiennej, dojrzałości nasion, ich spoczynku, a z tym związanymi inhibitorami i stymulatorami, wpływ okrywy owocowej, mikroflory.

Długość życia nasion drzew owocowych badana była niestety tylko wycinkowo. Mało jest danych co do właściwego ich przechowywania — przynajmniej niektórych gatunków. Ze względu na to, że zbiór nasion w sadownictwie jest często utrud-

niony przez przemienność owocowania, bądź warunki klimatyczne, które uniemożliwiają pozyskanie dostatecznej ilości nasion, zachodzi konieczność przechowywania ich czasami nawet przez kilka lat. Generatywny sposób produkcji podkładek jest bowiem ciągle jeszcze aktualny.

Większość drzew owocowych naszego klimatu tworzy nasiona posiadające zdolność zachowania żywotności przez kilka lat. Zaliczyć by więc je można do mezobiotycznych. Należą tu ziarnkowe: jabłoń, grusza, oraz większość pestkowych.

Warunkiem podwyższenia żywotności nasion z rodziny *Rosaceae* jest przechowywanie ich w suchej atmosferze. Nasiona tak przetrzymane zachowują żywotność przez kilka lat (Fleischer 1951 za Barton 1961, Barton 1961). Według Sołowiewej (1950) optymalną wilgotnością powietrza w pomieszczeniu, gdzie przechowujemy nasiona, winno być 50—55%. Badania Duczmala (1963) i Kaweckiego (1967) wykazały, że jednoroczne nasiona jabłoni są prawie w pełni zdolne do kiełkowania, jeśli są przechowywane w warunkach wilgotności względnej powietrza około 60—80% i temperaturze około 18°C. W badaniach Crockera (1928) nasiona jabłoni przetrzymywane przez 2,5 lat w atmosferze o niewysokiej wilgotności zachowywały prawie całkowicie swą żywotność w porównaniu z nasionami przechowywanymi przez krótki okres czasu. Procent wschodów z tych nasion nie odbiegał od uzyskanych z nasion przechowywanych przez 2,5 lat.

Nasiona jabłoni można przetrzymywać nawet przez 3 i 4 lata, ale otrzymany procent wschodów w stosunku do ilości wziętej do stratyfikacji jest znacznie niższy (Wanic i współautorzy 1968). W badaniach Karnatza (1952) nasiona jabłoni tak długo przetrzymywane, a następnie poddawane wtórnemu dojrzewaniu kiełkowały zaledwie w kilku procentach. Według Barton (1961) warunkiem zachowania długowieczności nasion jest właściwa pora wydobycia ich z owoców — w przypadku nasion jabłoni jest to jesień.

Przechowywanie nasion w obniżonej temperaturze (nawet ujemnej) i w próżni według Flemiona (1931) powoduje przez szereg lat zachowanie żywotności prawie w 100 procentach. Istnieją doniesienia (Crocker i Barton 1931), że nasiona pewnych roślin z rodziny *Rosaceae* mogą zachować zdolność kiełkowania nawet przez 20 lat.

Nasiona drzew owocowych pestkowych w przeciwieństwie do ziarnkowych posiadają grubą i twardą okrywą nasienną, która ze względu na dość małą przenikliwość dla wody i gazów daje możliwość nieco dłuższego ich przechowania bez utraty żywotności. Jednak warunkiem zachowania długowieczności jest wydobycie nasion po dojrzewaniu owoców i ich podsuszenie (Tukey 1924). Po właściwym wykonaniu tych czynności Giersbach i Crocker (1932) stwierdzili kiełkowanie *Prunus americana* więcej niż w 60% po 53 miesiącach przechowywania w suchym pomieszczeniu w temperaturze 7 i 10°C.

Nasiona niektórych gatunków pestkowych poddane stratyfikacji i wysiane do gruntu mogą przez kilka lat leżeć i nie kiełkować. Zjawisko to zwie się przelegi-

waniem nasion. Według Zachey (1958) okres czasu, po jakim przelegujące nasiona mogą kiełkować, wynosi 2—3 lat. Przyczyny tego zjawiska należy dopatrywać się w braku dostatecznie długiego okresu czasu z obniżoną temperaturą (Suszka 1967), bądź z braku dostępu wody czy przesuszenia (Soucek 1965).

Długość życia nasion według Sołowiewej (1950, 1953) zależy od warunków przechowywania. Nasiona pestkowe (wiśnia, ałycza, morela) mogą być przechowywane nawet przez okres 3 lat, przy wilgotności pestek 10—12% pod warunkiem przetrzymywania ich w obniżonej temperaturze 2—10°C i wilgotności otaczającego powietrza do 50—55%. Według Holmesa i Buszewicza (1958) oraz Suszki (1964) większość nasion gatunków z rodzaju *Prunus* może zachować prawie pełną żywotność przez 2—4 lata przy przechowywaniu ich w obniżonej temperaturze.

Nasiona orzecha włoskiego i leszczyny nie są długowieczne i zaliczyć je można do mikrobiotycznych. Jak podaje Minin (1949) nasiona tych roślin przechowywane w świeżym piasku i w obniżonej temperaturze do około 0°C można przetrzymać najwyżej 1 rok, zaś orzeszki buku tylko przez 9 miesięcy. Wydaje się jednak, że przechowanie tych nasion w obniżonej temperaturze i w zamkniętych naczyniach po uprzednim podsuszeniu owoców znacznie przedłużyłoby okres ich żywotności. Badania Suszki (1966) wykazały bowiem, że orzeszki buku uprzednio podsuszone do 9—10% wilgotności, przetrzymywane w temperaturze 3 i 10°C przez 98 dni, kiełkowały prawie w 100 procentach.

Żywotność nasion zawierających duże ilości tłuszczów łatwo schnących, czym się charakteryzuje większość nasion roślin sadowniczych, a szczególnie orzech laskowy i włoski, wydaje się zależeć w dużej mierze od dostępu do nich tlenu, podwyższonej temperatury i wilgoci. Czynniki te powodują znaczne przyspieszenie rozkładu tłuszczów zapasowych. Jak podaje Ozoł i Chorkow (1958) tłuszcz wydobyty z nasion orzechów włoskich nawet w dobrych beztlenowych warunkach można przetrzymać jedynie przez okres do 2 lat, gdyż po tym czasie ulega zepsuciu.

Czynniki powodującymi starzenie się nasion są według Crocker i Barton (1953), Barton (1961), Grzesiuka (1967):

- 1) wyczerpanie zapasów pokarmowych nasion,
- 2) zanikanie aktywności enzymatycznej,
- 3) fizykochemiczne zmiany w strukturze protoplazmy zarodka,
- 4) słaba izolacja nasion od środowiska przez okrywy nasienne,
- 5) zanikanie zdolności przebudowy białek zapasowych w konstytucjonalne,
- 6) nagromadzenie szkodliwych produktów przemiany materii (inhibitorów),
- 7) degeneracja jąder komórkowych i zmiany w strukturze kwasów nukleinowych.

Starzenie się nasion może być wywołane jednym z wymienionych czynników, bądź całym ich zespołem. Podanie dokładne okresu czasu zachowania żywotności nasion drzew owocowych jest niestety dość trudne ze względu na złożoność czynników decydujących o długości życia nasion.

LITERATURA

- Barton L. V., 1961. Seed preservation and longevity. London (w tłum. ros. 1964, Moskwa).
- Bucz T. G., 1960. Woprosy chranienija siemian iw i topolej. Tr. Gławn. Bot. Sada. 7, 219—239.
- Crocker W., 1928. Storage, after ripening and germination of apple seeds. Amer. J. Bot. 15, 625—626.
- Crocker W., Barton L. V., 1931. After-ripening, germination and storage of certain Rosaceous seeds. Contr. Boyce Th. Inst. 3, 385—404.
- Crocker W., Barton L. V., 1953. Physiology of seeds. Waltham (w tłum. ros., 1955).
- Duczmal K., 1963. Badania nad przemianami fizjologicznymi w stratyfikowanych nasionach jabłoni. Szczec. Tow. Nauk. Wyd. Nauk Przyr.-Roln., Szczecin 18, 2.
- Ewart A. J., 1908. On the longevity of seeds. Proc. Roy. Soc. Vit. 21, 1—210.
- Fleischer F., 1851. Beiträge zur Lehre von dem Keimen der Samen ökonomischer Pflanzen, Gegrütern Mäntier, Studgart 159 pp. (według Barton 1961).
- Flemion F., 1931. After-ripening, germination and vitality of seeds of *Sorbus aucuparia* L., Contr. Boyce Th. Inst. 3, 413—439.
- Giersbach J., and Crocker W., 1932. Germination and storage of wild plum seeds. Contr. Boyce Th. Inst. 4, 39—52.
- Grzesiuk S., 1967. Fizjologia nasion, PWRiL Warszawa.
- Holmes G. D. and Buszewicz G., 1958. The storage of seed of temperature forest tree species. Forestry Abstr. 19, 313—322, 455—476.
- Karnatz H., 1952. Deutsche Baumschule. 4, 119.
- Kawecki Z., 1967. Studia nad fizjologią stratyfikowanych nasion jabłoni Antonówki Zwykłej. Dysertacja, WSR Olsztyn.
- Minin D. D., 1957. Sbor i chranienie siemian drewnianych i kustarnikowych porod. Gos. Izd. Sielsk. Lit., Moskwa.
- Ozoł A. M., Chorkow E. I., 1958. Greckij orech jewo introdukcja i akklimatizacja. Izd. An ŁSSR, Riga.
- Sołowiewa M. A., 1950. Chranienije siemian płodowych kultur. Sad i Ogorod, 10, 24—28.
- Sołowiewa M. A., 1953. Ob usłowjach dlitelnowo chranienija siemian płodowych kultur. Agrobiołogia 1, 81—93.
- Souček J., Vlasak J., Dostalek J., Stohr J., 1965. Podnože ovocných stromů. Česk. Akad. Věd. Praha.
- Suszka B., 1964. Wpływ sposobu i długości okresu przechowywania pestek na zdolność kiełkowania nasion czereśni dzikiej (*Prunus avium* L.), Arboretum Kórnickie, IX, 223—235.
- Suszka B., 1966. Dormancy, storage and germination of *Fagus silvatica* L. seeds. Arboretum Kórnickie XI, 221—240.
- Suszka B., 1967. Studia nad spoczynkiem i kiełkowaniem nasion różnych gatunków z rodzaju *Prunus* L. Arboretum Kórnickie XII, 221—282.
- Tukey H. B., 1924. Studies of fruit seed storage and germination. N. Y. Agr. Eksp. Sta. Bull. 509.
- Wanic D., Kawecki Z., Naglicka I., 1968. Wpływ kwasu giberelinowego na kiełkowanie 3-letnich stratyfikowanych nasion jabłoni Antonówki Zwykłej. Zesz. Nauk. WSR Olsztyn, 24, 1, 171—177.
- Zácheý S., 1958. Skratenije doby prelihavosti siemien čerešnie (*Cerasus avium* Moench.) a jarabiny vtacej (*Sorbus aucuparia* L.), Lešn. Časopis, 4, 81—115.