Dynamika regulatorów wzrostu w procesie jaryzacji pszenicy ozimej „Leszczyńska Wczesna“

Cz. I. Zawartość substancji wzrostowych w różnych etapach jarowizacji nasion

Dynamics of growth regulators in the process of vernalization of winter wheat
„Leszczyńska Wczesna“

I. Contents of growth substances in different stages of vernalization of seeds

TERESA KENTZER

WSTĘP

Wyniki wielu badań nad problemem jarowizacji wykazały, że w okresie tym zachodzi szereg istotnych zmian biochemicznych, które znajdują następnie swój wyraz w dalszych fazach rozwojowych rośliny. W licznych pracach stwierdzono, że w wyniku procesów zachodzących podczas jarowizacji nasion zmienia się w dużym stopniu metabolizm węglowodanów (Michajłowa 1949, Purvis 1944, 1947, 1948, Pohl, Tagethoff 1949 oraz Sapożnikowa 1935, Peterson i Loomis 1949 [36], metabolizm związków azotowych (Němcová, Koloušek 1956, Purvis 1944 oraz Konowałow i Frolowa 1939, Kudriavtzev 1946 [36] i lipidów (Michajłowa 1949 i Dawid 1951). Szczegółowe badania pozwoliły również na stwierdzenie, że w wyniku jarowizacji specyficznym zmianom ulega także między innymi kompleks witaminowy jarowizowanych roślin, co obserwowano na przykładzie zbóż oraz niektórych roślin motylkowych (Lanza 1953 Mentzer 1940, Powolatskaja 1937, Terroine 1948 [36]).

Istotny wpływ temperatury w okresie jarowizacji przejawia się zatem w bezpośrednim przestawieniu całego metabolizmu nasion.

Opisane wyżej zjawiska łączą się także niewątpliwie z zachodzącymi podczas jarowizacji zmianami w działalności enzymatycznej. Tak więc istnieją pewne fakty wskazujące, że w następstwie jarowizacji może dojść do wyraźnego przesunięcia równowagi procesów enzymatycznych, syntezy i hydrolizy sacharozy w kielkach pszenicy ozimej w kierunku hydrolizy (Oparin i Zjenczenko 1949, Sisakian 1952 [42]). Według danych innych badaczy (Reifer, Kleczkowska, Solecka 1956), różnice te występują tylko w okresie jarowizacji, nie ujawniają się natomiast w późniejszej fazie wzrostu rośliny. Podobnie Sen (1940), Sen i Chakravarti (1938, 1945 [36]) oraz Lanza (1953), obserwowali ogólny wzrost aktywności procesów enzymolitycznych w okresie jarowizacji, przy jednoczesnym zwiększeniu

poziomu pewnych enzymów, jak fosfatazy, katalazy i lipazy. Godny uwagi wydaje się również fakt, że aktywizacja niektórych enzymów, zachodząca w wyniku jarowizacji może mieć charakter stały, innych natomiast tylko okresowy. Zależność taką obserwował Demkowski (1932 [36]), który wykazał, że w okresie tym następuje wyraźne zwiększenie poziomu enzymów proteolitycznych, podczas gdy działalność katalazy i amylazy podlega tylko okresowej aktywizacji. Zmiany potencjału redox w komórkach jarowizowanych tkanek obserwowała również Basarskaja (1934 [36]). Inni badacze stwierdzili natomiast wyraźne różnice w punkcie izoelektrycznym jarowizowanych obiektów oraz zmiany wartości odczynu (Richter 1934 [36], Gawriłowa 1935).

Niewątpliwie procesy warunkujące wzrost i rozwój roślin skorelowane są ściśle z działalnością substancji natury hormonalnej, które pełnią doniosłą rolę już w okresie kiełkowania nasion. W związku z tym wydaje się prawdopodobne, że ogólnym zmianom biochemicznym, jakie zachodzą podczas jarowizacji nasion, towarzyszą również bardzo istotne modyfikacje w działalności regulatorów wzrostu, których konsekwencje mogą się ujawnić w dalszych etapach rozwoju ontogenetycznego rośliny, a także w procesach prowadzących do zakwitania.

Znane są fakty, które pozwoliły na wysunięcie hipotez, że procesy warunkujące przejście roślin w fazę reproduktywną uzależnione są od działalności regulatorów wzrostu. Geneza tego zjawiska w interpretacji badaczy pracujących nad wyjaśnieniem tego zagadnienia przedstawia się bardzo różnie. Część z nich przyjmuje istnienie specyficznych substancji decydujących o zakwitaniu roślin (Lockhart, Hamner 1954, Harder, Bunsow 1954 oraz Czajłachjan 1937, Gregory 1948 [33]), inni natomiast szukają rozwiązania tego problemu w działalności auksyn (Khudairi, Hamner 1954, Harder, Senden 1949, Gowing 1956, Galston i Dalberg 1954), antyauksyn (Fischer i Loomis 1954, Resende Viana 1952, Gorter 1954 oraz Esteves de Sousa 1950 [6]) i inhibitorów roślinnych (Khudairi, Bonde 1954).

Istnieją również dane, które wskazują, że efektywny wpływ regulatorów wzrostu na procesy zakwitania uwarunkowany jest jednoczesnym działaniem odpowiedniej temperatury (Chakravarti, Pillai, Krishna 1955, Leopold i Guernsey 1953a, 1953b, 1954). Zależność tę stwierdzono w procesach tzw. chemicznej jarowizacji, polegającej na jednoczesnym traktowaniu nasion substancjami wzrostowymi i niską temperaturą. Hormonizacja nasion łącznie z działaniem niskiej temperatury przyspieszała zakwitanie roślin, podczas gdy w temperaturach wyższych zabieg ten nie dawał zupełnie efektów, a nawet prowadził do hamowania procesów kwitnienia. Wspomniani badacze wysuwają w związku z tym hipotezę, że auksyny zdolne są do modyfikacji kwitnienia na tej samej zasadzie, na jakiej dochodzi do zakwitania w wyniku procesów indukowanych podczas jarowizacji. Stwierdzenie to nawiązywałoby do hipotezy Chołodnego 1936, który przyjmował istnienie ścisłego związku pomiędzy jarowizacją oraz produkcją substancji wzrostowych a zakwitaniem roślin. Podobnie prace innych badaczy wykazały, że istotnie ekstrakty z jarowi-

zowanych nasion zawierają pewne substancje pobudzające do zakwitania rośliny niejarowizowane (Purvis i Gregory 1953).

W aspekcie przytoczonych badań nad znaczeniem regulatorów wzrostu roślin w procesach zakwitania bardzo istotne wydaje się poznanie dynamiki tych związków w poszczególnych etapach jarowizacji. Uwzględniając fakt, że pszenica, która stanowiła materiał doświadczalny w niniejszej pracy, przechodzi stadium jarowizacji w okresie kielkowania, duże znaczenie wydaje się również mieć znajomość zmian w dynamice regulatorów wzrostu w procesie kielkowania nasion.

Wyniki wielu badań wykazały, że substancje wzrostowe w nasionach występują głównie w formie nieczynnej, jako prekursorzy zdolne w pewnych warunkach do przejścia w aktywną postać tych związków (Avery, Berger, Shalucha 1942, Berger, Avery 1944, Hatcher 1943, Robbins, White 1937). Stwierdzono dalej, że stosunek wolnej auksyny do jej prekursorów ulega w rozwoju nasion znacznym wahaniom, przy czym ilość wolnych auksyn obniżała się w miarę ich dojrzewania (Hatcher Gregory 1941, Hatcher 1945, Izard 1956). Istnieją również dane, które wskazują, że poziom regulatorów wzrostu ulega bardzo poważnym i charakterystycznym zmianom w okresie kielkowania, a zwłaszcza w pierwszej fazie tego procesu (Cartwright, Sykes, Wain 1956, Hemberg 1955). Poglądy odnośnie charakteru i kierunku tych zmian nie są jednak jeszcze definitywnie ustalone. Część badaczy stwierdziła bowiem wzrost poziomu auksyn w okresie kielkowania nasion (Kögl, Erxleben, Smit 1934), inni natomiast obserwowali obniżenie poziomu auksyn w tym okresie (Laybach, Mayer 1935 [55]). Okazało się również, że podobnym zmianom podczas kielkowania nasion ulega także system inhibitorów (Robbins, White 1937, Voss 1939). Badania szczegółowe dotyczące tego zagadnienia wykazały, że w okresie tym zachodzą także pewne procesy natury jakościowej, polegające na zmianie stosunku wolnych auksyn do związanych (Hemberg 1955). Stwierdzono mianowicie, że już w pierwszych godzinach kielkowania zachodzą pewne reakcje, w wyniku których wzrasta zawartość wolnych auksyn kosztem związanych, których poziom w tym okresie ulega znacznemu obniżeniu. Istnieją również dane, wskazujące na ścisłą współzależność pomiędzy przebiegiem pewnych procesów enzymatycznych oraz aktywnością regulatorów wzrostu w trakcie kielkowania nasion. Wiadomo na przykład, że tryptofan, którego źródło stanowią pewne związki proteinowe występujące w roślinie (Schoken 1947 [36]) przechodzi w auksynę przy udziale odpowiedniego systemu enzymatycznego (Frey-Wissling 1938; Berger, Smith, Avery 1946 [36]). Wyniki innych badań wskazują z kolei na ścisłą korelację pomiędzy aktywnością produkowanej auksyny i działalnością odpowiednich enzymów zdolnych do aktywowania amylazy oraz enzymów powodujących rozkład amidów (Pilet, Turian 1953 [36]).

Prace dotyczące bezpośrednio zagadnienia dynamiki regulatorów wzrostu i ich prekursorów w okresie jarowizacji nasion, który charakteryzują szczególnie intensywne zmiany w działalności enzymów, są bardzo nieliczne. Dane, jakie mamy na ten temat, wskazują na bardzo istotny wpływ okresu jarowizacji

na układ stosunków auksynowych w roślinie. Pilet (1954) badając wpływ jarowizacji w niskiej temperaturze na zawartość auksyn i ich prekursorów u *Lens culinaris* stwierdził, że w wyniku tego procesu obniżał się poziom wolnych auksyn, a wzrastała wyraźnie ilość ich prekursorów. Dwaj inni badacze — Sircar i Das 1951, 1954 — prowadzący badania nad wpływem różnych temperatur w okresie jarowizacji na produkcję auksyn w kielkującym ziarnie ryżu, wykazali, że przebieg jej był różny w zależności od temperatury. Ziarna kielkujące w niskiej temperaturze wykazywały zawsze wysoki poziom auksyn, podczas gdy w temperaturach wyższych ilość ich znacznie malała. David (1954) i Séchet (1945) łączą zmiany, jakie zachodzą w systemie regulatorów wzrostu w okresie jarowizacji, z istnieniem hormonu kwitnienia, który tworzy się ich zdaniem podczas jarowizacji nasion. Hipoteza wspomnianych badaczy stanowi pewne potwierdzenie koncepcji wysuniętej już dawniej przez Thimanna i Lane (1938), którzy wychodzą z założenia, że auksyny wpływają niewątpliwie na kwitnienie, a wpływ ten spełnia funkcję jarowizacji.

Uwzględniając dane dotyczące zmian procesów biochemicznych w okresie jarowizacji, a także ich wyraźny związek z aktywnością regulatorów wzrostu oraz przyjmując znaczenie tych związków w procesach kwitnienia, postanowiłam zbadać, czy istotnie i jakim zmianom ulega poziom regulatorów wzrostu nasion ozimej pszenicy w poszczególnych etapach ich jarowizacji.

METODY BADAŃ

Jako materiał doświadczalny służyła pszenica ozima „Leszczyńska Wczesna”. Jarowizację prowadzono według techniki opracowanej przez Łysenkę (1950), stosowaną z dobrymi rezultatami przez Słabońskiego (1956). Uwzględniając także wyniki prac Słabońskiego, który zaklasyfikował wymienioną odmianę pszenicy do grupy odmian o średnim okresie jarowizacji wynoszącym 20—40 dni, jarowizowano nasiona przez 40 dni w temperaturze 1—4°C.

Zawartość substancji wzrostowych w różnych fazach tego procesu określano na podstawie aktywności dyfuzatów z nasion w stosunku do testu owsianego.

W badaniach stosowano technikę Wenta (1937), uwzględniając modyfikacje wprowadzone przez Funke (1939 [50]). Nasiona owsa (Siegeshafer — Svalof) moczone przez 2 godziny w wodzie destylowanej wystawiając je podczas pęcznienia na działanie światła. Po upływie 2 godzin wysiewano je do wilgotnych trocin i kielkowano w termostacie w zupełnej ciemności, w stałej temperaturze (+ 25°C) w atmosferze nasyconej parą wodną do 95%. W takich warunkach kielki owsa osiągały pożądaną wielkość 3—3,5 cm po 72 godzinach. Do doświadczenia wybierano kielki jednakowej długości. Jako materiał testowy służyły tylko partie wierzchołkowe kielków długości 1,2 cm, które dekapitowano odcinając wierzchołek pochwki liściowej długości 3 mm. Następnie wyciągano delikatnie listek przy pomocy pincetki na wysokość około 5 mm ponad powierzchnię ściętej pochwki i spreparowane w ten sposób kielki ustawiano w kropli 300/0 żelatyny na szkiełku

podstawowym pokrytym wilgotną bibułą. Na jednym szkiełku ustawiano w rzędzie 8 kielków. Każde powtórzenie dla danego wariantu doświadczenia obejmowało 16 koleoptyli. Szkiełka te przenoszono następnie do specjalnie przygotowanych komór wilgotnych sporządzonych z małych akwariów szklanych i pozostawiano w termostacie w temp. 20°C w całkowitej ciemności przez 24 godziny. Po upływie tego okresu nakładano bloczki agarowe z zawartym w nich dyfuzatem z nasion przyklejając je przy pomocy 150/0 żelatyny w ten sposób, że jedną powierzchnią przylegały ściśle do wystającego z pochewki listka, a drugą do powierzchni dekapitowanej. Wielkość wygięć koleoptyl mierzono po upływie 20 godzin od nałożenia bloczków. Jako kontrolne służyły kielki, na które nakładano kostki agarowe wysycone wodą destylowaną. Kielki te nie ulegały żadnym wygięciom. Zawartość substancji wzrostowych w jarowizowanym ziarnie oznaczano natychmiast po wyjęciu nasion z zamrażarki przeprowadzając je drogą bezpośredniej dyfuzji do bloczków agarowych o wymiarach $2 \times 2 \times 1,5$ mm, sporządzonych z 1,50/0 agaru. W tym celu nasiona cięto poprzecznie, a połówkę z embrionem nakładano powierzchnią cięcia na bloczki na okres 2 godzin. Podobne postępowanie przyjęto zgodnie z wynikami prac Hatchera (1943), który stwierdził, że auksyny gromadzą się głównie w części nasion z embrionem.

Celem częściowego przynajmniej wyeliminowania wpływu systemu enzymatycznego, inaktywizującego czynne substancje wzrostowe, zastosowano metodę Overbeeka (1938) polegającą na kilkuminutowej infiltracji dyfuzatu z badanych obiektów do bibuły, bezpośrednio przed umieszczeniem ich na bloczkach agarowych. Innych metod bardziej radykalnych, jak np. użycie pewnych związków chemicznych inaktywizujących enzymy, nie stosowano. Dane w literaturze wskazują bowiem, że działanie ich wpływa szkodliwie na sam test roślinny, zniekształcając w ten sposób obraz efektywnego oddziaływania naturalnych substancji wzrostowych (Steeves, Morel, Wetmore 1953).

Badano także wpływ jarowizacji na dynamikę regulatorów wzrostu w pierwszych fazach wzrostu kielków pszenicy.

W tym celu oznaczano zawartość czynnych substancji wzrostowych w ekstraktach z etiolowanych kielków pszenicy, wyrosłych z nasion poddanych jarowizacji oraz w kielkach z nasion nie jarowizowanych. Analizę ekstrakcyjną materiału roślinnego opracowano na podstawie metod stosowanych przez Kefforda (1955) i Pileta (1954). Materiał roślinny o masie 30 g zalewano alkoholem absolutnym, mrożonym w temperaturze -10°C i następnie pozostawiono w tej temperaturze przez 1,5 godz. Zamrożone w ten sposób kielki rozcierano w moździerzu z dodatkiem czystego piasku kwarcowego i ekstrahowano alkoholem absolutnym przez 24 godz. w temperaturze 20°C (± 1). W trakcie ekstrakcji wytrząsano badany materiał roślinny dwukrotnie przez 2 godziny. Uzyskane w ten sposób ekstrakty alkoholowe dekantowano i zagęszczano na łaźni wodnej pod zmniejszonym ciśnieniem w temp. 56°C aż do zupełnego odparowania alkoholu. Pozostałość po odparowaniu uzupełniano wodą destylowaną do 2 ml. Z tego 1 ml mieszało z równoważną ilością 30/0 agaru

i wylewano na płytki szklane o wymiarach 2×2 cm. Płytki agarowe cięto następnie na bloczki o standardowych wymiarach $2 \times 2 \times 1,5$ mm, które nakładano na dekapitowane koleoptyle owsa, mierząc podobnie jak poprzednio wielkość kątów wygięć po 20 godz. Wszelkie manipulacje związane z wyżej opisaną procedurą prowadzono w obu metodach przy świetle czerwonym.

W tabelach zestawiono średnie wartości kątów wygięć koleoptyli owsa uzyskane w wyniku działania dyfuzatu z nasion oraz ekstraktów z kiełków pszenicy, przyjmując ich wielkość jako wskaźnik aktywności substancji wzrostowych w badanym materiale roślinnym. Za kontrolę przyjęto poziom substancji wzrostowych, jaki wykazywały nasiona nie jarowizowane poddane 24-godzinnemu kiełkowaniu w temp. 24°C .

Wyniki poddano analizie statystycznej obliczając rzeczywisty średni błąd, który przyjęto jako podstawę przy określaniu istotnych różnic dla poszczególnych wariantów doświadczenia (Ruge 1955).

WYNIKI BADAŃ

Zawartość czynnych substancji wzrostowych w pęczniejącym ziarnie

Badania związane z tym problemem prowadzono w okresie od 17.I — 21.I.1957 r. Obejmowały one okres 24 godz. pęcznienia, jaki przechodziły nasiona bezpośrednio przed poddaniem ich działaniu niskiej temperatury. Pęcznienie nasion prowadzono w termostacie w stałej temperaturze 24°C . Zawartość substancji wzrostowych oznaczano co 3 godziny, licząc od momentu namoczenia ziarna. Badania prowadzono

TABELA 1

Zawartość czynnych substancji wzrostowych
w okresie pęcznienia nasion

The contents of active growth substances in
seeds during the time of swelling

Okres pęcznienia nasion w godz. Time of seed swelling in hrs.	Śr. wielkość kątów wygięć koleoptyli w stopniach Average curvature of Avena in degrees
0	—
3	$11,20 \pm 1,14$
6	$12,30 \pm 2,40$
9	$12,90 \pm 1,95$
12	$13,07 \pm 1,85$
15	$13,40 \pm 2,19$
18	$13,40 \pm 1,13$
21	$11,50 \pm 1,14$
24	$10,60 \pm 0,62$

równolegle na dwóch próbkach nasion zwiększając w ten sposób dwukrotnie ilość powtórzeń dla poszczególnych wariantów doświadczenia. W sumie przebadano 40 koleoptyli dla każdego wariantu doświadczenia.

Wyniki zestawiono w tabeli 1 oraz przedstawiono graficznie na wykresie (ryc. 1). Na ich podstawie można stwierdzić, że już po 3 godzinach dyfuzaty z pęczniejących

Ryc. 1. Zawartość czynnych substancji wzrostowych w okresie pęcznienia nasion
The contents of active growth substances in seeds during the time of swelling

nasion wykazują wysoką aktywność w stosunku do materiału testowego. Wyniki następnych oznaczeń wskazują na dalszy systematyczny wzrost ilości czynnych substancji wzrostowych, osiągających najwyższą wartość po 12, 15 i 18 godzinach kiełkowania nasion. W końcowej fazie tego okresu widać nieznaczną, jednak wyraźną tendencję w kierunku obniżenia zawartości substancji wzrostowych.

Zawartość czynnych substancji wzrostowych w trakcie jarowizacji nasion

Doświadczenie I.

Doświadczenie to wykonano w okresie od 14.VI — 6.VII.1956 r. Poziom substancji aktywnych oznaczano tu po 6, 12, 24, 48, 72, 96, 168, 336 i 504 godzinach jarowizacji nasion. Wyniki oznaczeń przedstawiono w tabeli 2 i na wykresie (ryc. 2).

Dane, jakie uzyskano w tym doświadczeniu, wykazały, że już po 12 godzinach działania niskiej temperatury następuje istotne wzbogacenie nasion w czynne sub-

stancje wzrostowe, których ilość wzrasta również w następnych godzinach, osiągając maksimum pomiędzy 48 a 72 godziną jarowizacji.

Istotny wzrost zawartości substancji wzrostowych w stosunku do nasion kontrolnych obserwowano w tym doświadczeniu także w 4 dniu jarowizacji, jakkolwiek wartość ich w tym okresie była już znacznie niższa niż w 2 i 3 dniu. Wyraźne obniżenie poziomu substancji wzrostowych w stosunku do poprzedniego okresu jarowizacji i wyrównanie ich wartości do poziomu nasion kontrolnych notowano natomiast po 7, 12 i 21 dniu jarowizacji.

Doświadczenie II

Potwierdzenie wyników poprzednich stanowią również dane uzyskane w doświadczeniu wykonanym w okresie od 17.IX — 20.X.56 r. Zmiany zawartości substancji wzrostowych prześledzono w okresie od 12 godzin do 32 dni jarowizacji. W pierwszym okresie jarowizacji nasion prowadzono oznaczenia co 24 godziny do 3 dnia włącznie, a następnie po 216, 336, 504, 672 oraz 768 godzinach działania niskiej temperatury. Wyniki doświadczenia przedstawiono graficznie (ryc. 2) oraz w tabeli 2.

Istotny wzrost aktywności substancji wzrostowych w ziarnie jarowizowanym w stosunku do nasion kontrolnych notowano tylko w ciągu pierwszych trzech dni jarowizacji. Wyniki oznaczeń w pozostałych 23 dniach nie wykazały istotnych zmian w poszczególnych etapach tego okresu, jak również nie przekroczyły w żadnym wypadku wartości uzyskanych dla nasion kontrolnych.

Najwyższą aktywność w stosunku do testu owsianego wykazały dyfuzaty z nasion jarowizowanych przez 48 i 72 godziny, dla których uzyskano wyniki o 55,50% i 730/0 wyższe w stosunku do nasion kontrolnych nie jarowizowanych.

Charakterystyczna zwyżka zawartości substancji wzrostowych ujawniła się także w ziarnie jarowizowanym przez 72 godziny w stosunku do ich wartości po 24 godzinach jarowizacji. Różnica pomiędzy średnią wielkością kąta wygięć koleoptyle owsa dla obu wariantów wynosiła 4,83°, podczas gdy najmniejsza różnica rzeczywista wahała się w tym wypadku w granicach 1,31° i 1,42°.

Doświadczenie III

Badania prowadzone w tym doświadczeniu obejmowały okres 8.X — 17.XI.56 r. Zmiany zawartości substancji wzrostowych oznaczono, podobnie jak w doświadczeniach poprzednich, w odstępach kilkugodzinnych w pierwszym okresie jarowizacji, a następnie co kilka dni do końca stadium jarowizacji, odpowiadającego danej odmianie pszenicy. Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 2 oraz graficznie (ryc. 2).

Podobnie jak w doświadczeniu I i II, wyróżnić tu można dwa zasadnicze okresy w kształtowaniu się poziomu substancji wzrostowych w trakcie jarowizacji. Pierwszy z nich, trwający mniej więcej do 72 godzin, charakteryzuje wysoki poziom czynnych substancji wzrostowych, drugi zaś rozpoczyna się obniżeniem ich wartości

TABELA 2

Zawartość czynnych substancji wzrostowych w trakcie jarowizacji nasion

The contents of active growth substances in seeds during the process of vernalization

Okres jarowizacji w godz. Time of vernalization in hrs.		Sr. wielkość kątów wygięć koleoptyle w stopniach Average curvature of Avena in degrees	W $\frac{60^\circ}{100}$ w stosunku do na- sion nie jarowizowanych In p.c. as compared to the unvernallized seeds
Doświadczenie I Experiment No. 1	0*	7,90 $\pm$ 0,91	100
	6	9,58 $\pm$ 1,38	121,2
	12	10,00 $\pm$ 0,62	126,5
	24	11,40 $\pm$ 1,41	144,3
	48	14,29 $\pm$ 1,95	180,8
	72	14,30 $\pm$ 1,70	181,0
	96	10,08 $\pm$ 0,50	127,5
	168	8,20 $\pm$ 1,68	104,0
	336	7,70 $\pm$ 1,26	97,5
	504	8,22 $\pm$ 1,20	104,0
Doświadczenie II Experiment No. 2	0*	10,50 $\pm$ 1,31	100
	12	12,54 $\pm$ 1,98	119,5
	24	13,35 $\pm$ 1,31	127,1
	48	16,33 $\pm$ 1,82	155,5
	72	18,18 $\pm$ 1,42	173,1
	216	12,50 $\pm$ 1,56	119,0
	336	12,41 $\pm$ 1,80	118,1
	504	12,09 $\pm$ 1,68	115,1
	672	11,44 $\pm$ 2,04	108,9
	768	9,66 $\pm$ 1,29	92,0
Doświadczenia III Experiment No. 3	0*	8,54 $\pm$ 0,87	100
	1	9,75 $\pm$ 1,29	114,0
	2	8,41 $\pm$ 1,80	98,0
	4	8,54 $\pm$ 0,81	100,0
	6	8,00 $\pm$ 0,84	93,6
	10	8,91 $\pm$ 1,11	104,3
	24	10,41 $\pm$ 0,58	121,8
	36	11,21 $\pm$ 1,20	131,2
	72	16,40 $\pm$ 1,62	192,0
	96	9,45 $\pm$ 1,56	110,6
	144	8,91 $\pm$ 0,84	104,4
	240	9,25 $\pm$ 0,81	108,3
	504	8,85 $\pm$ 1,14	103,6
	768	7,95 $\pm$ 1,11	93,0
	960	7,80 $\pm$ 0,87	91,4

* Nasiona poddane 24-godzinnemu kiełkowaniu bezpośrednio przed wstawieniem do lodówki.
The grains germinating during 24 hours direct before their placement in the refrigerator.

Ryc. 2. Zawartość czynnych substancji wzrostowych w trakcie jarowizacji nasion (w stosunku do kontroli = 100%). a — doświadczenie 1; b — doświadczenie 2; c — doświadczenie 3

Słupki wcięte — różnice istotne

The contents of active growth substances in seeds during the process of vernalization (as compared to the control = 100 p.c.). a — experiment No. 1; b — experiment No. 2; c — experiment No. 3

Indented columns — significant differences

mniej więcej po 4 dniach jarowizacji. Okres ten ma już charakter wybitnie statyczny. Wyniki oznaczeń na tym etapie jarowizacji nie wykazały bowiem żadnych istotnych różnic w poszczególnych terminach oznaczeń.

Zawartość czynnych substancji wzrostowych w etiolowanych kielkach pszenicy ozimej jarowizowanej i nie jarowizowanej

Badania dotyczące tego zagadnienia prowadzono w okresie 1.II — 28.II.57 r. Celem doświadczenia było stwierdzenie, jak przedstawia się dynamika substancji wzrostowych w kielkach pszenicy wyrosłych z nasion po przejściu procesu jarowizacji, w stosunku do roślin nie jarowizowanych. Próbkę 30 g nasion jarowizowanych i nie jarowizowanych kielkowano w ciemności przez 216 godzin w temperaturze 21°C. Badano następnie aktywność ekstraktów alkoholowych z kielkujących nasion i kielków w odstępach 24 godzinnych w ciągu pierwszych 3 dni kielkowania, a w dalszej fazie wzrostu co 2 dni, do 9 dnia włącznie. Wyniki oznaczeń zestawione w tabeli 3 oraz przedstawione graficznie na wykresie (ryc. 3) wskazują, że poziom substancji wzrostowych był zawsze wyższy w kielkach z nasion jarowizowanych. Mak-

Ryc. 3. Zawartość czynnych substancji wzrostowych w etiolowanych kielkach pszenicy ozimej jarowizowanej i nie jarowizowanej: 1 — rośliny jarowizowane; 2 — rośliny nie jarowizowane

The contents of active growth substances in vernalized and unvernallized etiolated seedling plants of winter wheat: 1 — vernalized plants; 2 — unvernallized plants

TABELA 3

Zawartość czynnych substancji wzrostowych w etiolowanych kielkach pszenicy ozimej jarowizowanej i nie jarowizowanej

The contents of active growth substances in vernalized and unvernallized etiolated seedling plants of winter wheat

Okres kiełkowania w godz. Time of germinating in hrs.	Średnia wielkość kątów wygięć koleoptyle w stopniach Average curvature of Avena in degrees	
	dla pszenicy jarowizowanej for seedling plants from vernalized seeds	dla pszenicy nie jarowizowanej for seedling plants from unvernallized seeds
0*	9,50 ± 0,27	9,60 ± 0,37
24	14,50 ± 1,50	11,00 ± 1,05
48	13,46 ± 0,87	8,30 ± 0,65
72	13,50 ± 0,93	7,36 ± 1,08
120	12,42 ± 1,75	7,00 ± 0,78
168	10,25 ± 1,11	5,17 ± 0,96
216	6,90 ± 0,93	5,31 ± 0,63

* 0 w przypadku pszenicy jarowizowanej oznacza nasiona bezpośrednio po wyjęciu z lodówki, w przypadku pszenicy nie jarowizowanej — ziarno nie jarowizowane kiełkowane przez 24 godz.

0 in the case of vernalized wheat means the grains direct from the refrigerator, in the case of unvernallized wheat means the unvernallized seeds germinating during 24 hours.

symalną wartość w tym wariancie doświadczenia notowano już w ciągu pierwszych 24 godzin kiełkowania nasion. Wyraźny spadek aktywności substancji wzrostowych wystąpił w 5 i 7 dniowych kielkach, postępując w miarę ich rozwoju. Podobną prawidłowość ujawniły również wyniki pomiarów w kielkach nie jarowizowanych, jakkolwiek w tym przypadku pierwsze istotne obniżenie poziomu substancji wzrostowych nastąpiło już wcześniej, a mianowicie po 48 godzinach kiełkowania nasion.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Wyniki niniejszych badań wykazały, że na tle ogólnych zmian biochemicznych, jakie zachodzą w procesie jarowizacji nasion, bardzo istotnym i charakterystycznym zmianom ulega również aktywność regulatorów wzrostu roślin. Konsekwencje tych zmian, zainicjowane działaniem niskiej temperatury w okresie jarowizacji, ujawniają się także w pierwszym okresie wzrostu młodych kielków pszenicy. Istnieje zatem wyraźna korelacja pomiędzy procesami zachodzącymi w okresie jarowizacji nasion a układem stosunków auksynowych w dalszych fazach wzrostu rośliny.

Wyniki przeprowadzonych doświadczeń wskazują również, że zmiany, jakie notowano w zawartości substancji wzrostowych w trakcie jarowizacji nasion pszenicy, nie mają charakteru jednokierunkowego. Istnieje pewna ustalona okresowość w nasileniu produkcji tych związków, ujawniająca się już w pierwszych trzech dniach

jarowizacji, którym odpowiadają najwyższe wartości czynnych substancji wzrostowych w nasionach.

Drugi okres, jaki można by wyróżnić na podstawie przeprowadzonych badań, ma już charakter wybitnie statyczny. Ilość auksyn na tym etapie obniża się, wyrównuje do wartości wyjściowej i utrzymuje się na stałym poziomie, z nieznacznymi tylko wahaniami, aż do końca okresu jarowizacji.

Analizując całokształt zmian towarzyszących procesom jarowizacji w dynamice substancji wzrostowych zarówno w poszczególnych etapach tego okresu, jak i w pierwszej fazie wzrostu kielków pszenicy nasuwa się przypuszczenie, że łączą się one niewątpliwie z odpowiednimi zmianami w aktywności reakcji enzymatycznych. Zwiększenie poziomu substancji wzrostowych w pierwszym okresie jarowizacji można traktować jako skutek obniżenia aktywności pewnych enzymów pod wpływem działania niskiej temperatury, a zwłaszcza peroksydaz, powodujących inaktywację czynnych substancji wzrostowych. Podobną zależność obserwował Toood (1953) badając system enzymatyczny kielkujących bulw ziemniaczanych w różnych temperaturach. W wyniku innych badań stwierdzono, że w trakcie kielkowania pszenicy, zarówno jarej, jak i ozimej, istnieje pewien moment krytyczny, w którym następuje jakościowy skok w procesach przemiany materii, polegający na zmianie reakcji utleniania i redukcji oraz właściwości termicznych pewnych enzymów (Bla im 1954, 1955). W związku z tym istnieje duże prawdopodobieństwo, że wahania ilościowe w zawartości pewnych regulatorów wzrostu nasion, jakie notowano w pierwszych trzech dniach jarowizacji, stanowią wypadkową zmiennej działalności pewnych enzymów w tym okresie oraz towarzyszących im reakcji uzależnionych działaniem niskiej temperatury.

Interpretacja tych zjawisk łączy się także z wynikami badań Pileta (1954), który stwierdził, że w wyniku jarowizacji nasion zmienia się stosunek wolnej auksyny do jej prekursorów na korzyść tych ostatnich. Można zatem przypuszczać, że niski poziom czynnych substancji wzrostowych, jaki notowano w niniejszym doświadczeniu, w czwartym i dalszych dniach jarowizacji nasion pszenicy równoważy intensywna akumulacja ich prekursorów, które uaktywniane są spontanicznie dopiero w momencie działania odpowiedniej temperatury, sprzyjającej rozwojowi nasion. Założenie to znajduje swoje uzasadnienie w wynikach badań nad zawartością substancji wzrostowych w jarowizowanych i nie jarowizowanych kielkach pszenicy w różnych fazach wzrostu. Stwierdzono mianowicie, że poziom tych związków w kielkach wyrosłych z nasion jarowizowanych był zawsze wyższy niż u roślin nie jarowizowanych, przy czym obniżenie ich zawartości, postępujące w miarę wzrostu kielków, następowało zawsze gwałtowniej w kielkach nie jarowizowanych. Pierwsze istotne obniżenie poziomu czynnych substancji wzrostowych notowano w tym przypadku już po 24 godzinach kielkowania, podczas gdy w serii jarowizowanej spadek ten następował dopiero po 120 i 168 godzinach. Dane te wskazują zatem bardzo wyraźnie na istotną rolę i wpływ niskiej temperatury na dynamikę regulatorów wzrostu w dalszych fazach wzrostu i rozwoju rośliny.

Nawiązując do hipotezy tych badaczy, którzy przyjmują, że o zakwitaniu decyduje ilościowy układ stosunków w systemie regulatorów wzrostu, należy przypuszczać, że w pierwszej fazie jarowizacji nasion pszenicy, którą charakteryzuje wysoki poziom tych związków, zainicjowane są pewne zmiany ilościowe, warunkujące prawidłowy przebieg następnych faz rozwoju ontogenetycznego roślin, między innymi również procesy zakwitania. Podobną koncepcję sugerują także prace Davida (1944 [36]), który zakładał, że termofaza u zbóż stanowi okres formowania pewnych hormonów wzrostowych, warunkujących rozwój źdźbeł oraz produkcję pewnej określonej substancji kwitnienia, aktywnej w końcowej fazie stadium świetlnego.

Niewątpliwie obok zmian natury ilościowej, jakim ulegają pewne regulatory wzrostu w trakcie jarowizacji, można również przypuszczać o występowaniu zmian jakościowych, a mianowicie w zawartości auksyn wolnych do związanych, oraz aktywatorów wzrostu do inhibitorów. Zagadnienie to stanowić będzie temat dalszych badań.

STRESZCZENIE

W doświadczeniu badano wpływ jarowizacji na dynamikę regulatorów wzrostu w ziarnie oraz młodych kielkach pszenicy ozimej „Leszczyńska Wczesna”.

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że w trakcie jarowizacji wyróżnić można dwa różne okresy pod względem zawartości czynnych substancji wzrostowych w jarowizowanym ziarnie. Pierwszy z nich, obejmujący okres około 72 godz., charakteryzuje bardzo wysoki poziom tych związków. Drugi okres, następujący bezpośrednio po pierwszym, odpowiada niskim wartościom substancji wzrostowych, które utrzymują się na stałym poziomie aż do końca okresu jarowizacji.

Wykazano również, że zmiany, jakie zachodzą w dynamice regulatorów wzrostu w okresie jarowizacji nasion, doprowadzają także do bardzo istotnych różnic w układzie stosunków ilościowych tych związków w dalszych fazach wzrostu rośliny. Tak więc kielki wyrosłe z nasion jarowizowanych wykazywały zawsze wyższy poziom czynnych substancji wzrostowych niż rośliny nie jarowizowane, a obniżenie ich zawartości, postępujące z wiekiem kielków, następowało również znacznie szybciej u roślin nie jarowizowanych.

Na podstawie tych danych przypuszcza się, że w wyniku działania niskiej temperatury w okresie jarowizacji nasion zachodzą bardzo istotne zmiany w układzie stosunków auksynowych w roślinie, co znajduje niewątpliwie swój wyraz w dalszych etapach rozwoju ontogenetycznego rośliny, między innymi również być może w procesach zakwitania.

SUMMARY

In this work the influence of vernalization on the dynamics of growth regulators in grain and young seedlings of the winter wheat „Leszczyńska Wczesna” was studied. The seeds were vernalized during 40 days at 1–4°C. The amount of growth substances in different vernalization phases was determined according to the activity of diffusates from the seeds compared with *Avena*-test. To extract active growth substances the seeds were cut transversely immediately after taking them out of coolroom and the half with embryo was placed on agar block with standard dimensions —2 × 2 × 1,5 mm) for two hours, when freely diffusion of active growth substances to the agar occurred. In comparisons of the activity of diffusates with *Avena*-test the technic of Went (1937) modified by Funke (1939) was used.

The influence of the vernalization on the dynamics of growth regulators in the first phases of wheat seedlings growth was measured according to the variable amount of active growth substances extracted in different growth phases. The extraction was carried in absolute alcohol from fractioned and frozen material. From alcohol extract the water fraction was obtained and this was mixed with equivalent amount of 30% agar and agar blocks of normal dimensions were prepared. The amount of active growth substances, like in *Avena*-test, was measured by the angle of the coleoptile curvature.

The results of the present researches show that already at the time of seeds swelling, before the vernalization period at low temperature, the amount of growth substances produced varied to some degree (Tab. 1, Fig. 1).

During the vernalization of the seeds two periods differing as to the amount of growth substances could be distinguished. In the first which lasts 72 hours the level of growth substances is very high. At the period which follows immediately the first the level of growth substances drops distinctly and their low level is established which persists without any changes to the end of the vernalization process. (Tab. 2, 2a, 2b, Fig. 2).

Further, it was stated that the consequences of these changes, undoubtedly initiated by the action of low temperature, influence the first period of seedlings growth. The changes in the dynamics of growth regulators at the vernalization period cause very significant differences in quantitative relationships of these substances in later periods of growth. The seedlings of the vernalized seeds show always higher level of growth substances than from unvernallized ones. The lowering of their amount progresses with the age of the seedlings much faster in vernalized than in unvernallized plants. (Tab. 3, Fig. 3).

From these facts it is assumed that the low temperature during the vernalization period of seeds causes very significant changes in the auxins pattern of the plant which influences later stages of ontogenesis including also the induction of flowering.

LITERATURA

1. Avery G. S. Jr., Berger J., Shalucha B., 1942, The total extraction of free auxin and auxin precursor from plant tissue, *Amer. J. Bot.* 29: 596.
2. Berger J., Avery G. S. Jr., 1944, Isolation of an auxin precursor and auxin (indoleacetic acid) from maize, *Amer. J. Bot.* 31: 199.
3. Blaim K., 1954, Potencjały oxydoredukcyjne kielkujących pszenic ozimych i jarych, *Rocz. Nauk Roln.* 68 (3): 539.
4. Blaim K., 1955, Studia nad biochemią kielkującego ziarna pszenic ozimych i jarych, *Rocz. Nauk. Roln.* 72 (1): 9.
5. Cartwright P. M., Sykes, J. T., Wain, R. L., 1956, *The Chemistry and Mode of Action of Plant Growth Substances*, London.
6. Chakravarti S. C., Pillai, V. N. Krishna, 1955, Studies in auxin-vernalization relationship I. The effects of certain synthetic auxins and their antagonists of the vernalization of *Brassica Campestris*, *Fyton* 5 (1): 1—17.
7. Chołodny N. G., 1936, On the theory of yarovisation, *Comot. Rend. Sci. U.S.S.R.* 3: 8.
8. David R. M., 1951, L'influence de la printanisation sur les lipides de la plantule et l'albumen de la semence de blé, *Compt. Rend. Sc. Paris* 233 (5): 428.
9. David R. M., 1954, Printanisation des semences prealablement soumises à l'action des hautes temperatures, *Rapp. et Comm. Huitième Congrès Intern. Bot.*, Paris, Sec. 11/12: 293.
10. Fischer J. G., Loomis, W. E., 1954, Auxin-florigen balance in flowering of soybean, *Science* 119, 3080: 7173.
11. Galston A. W., Dalberg, L. Y., 1954, The adaptative formation and physiological significance of indoleacetic acid oxidase, *Amer. J. Bot.* 41: 373.
12. Gawriliowa M. F., 1935, Ob obratimosti jarowizacinnogo procesa, *Dokl. Akad. Nauk SSSR* 1 (7—8): 261.
13. Gorter Cher J., 1954, The flowering response of *Phaseolus vulgaris* to 2,3,5-triiodobenzoic acid and its Cl and Br analogues, *Proceedings Ser. C.* 57 (5): 604.
14. Gowing D. P., 1956, An hypothesis of the role of naphthaleneacetic acid in flower induction in the pineapple, *Amer. J. Bot.* 43 (6): 411.
15. Harder R., Bünsow, R., 1954, Über Blühhemstoffe in verkehrter tageslange bei *Kalanchoe Blossfeldiana*, *Rapp. et Comm. Huitième Congrès Intern. Bot. Paris*, Sec. 11/12: 333.
16. Harder R., Van Senden, H., 1949, Antagonistische Wirkung von Wuchsstoff und Blühhormon, *Naturwiss.* 36: 348.
17. Hatcher E. S. J., Gregory, F. G., 1941, Auxin production during the development of the grain in cereals, *Nature* 148 (3760): 626.
18. Hatcher E. S. J., 1943, Auxin production during development of the grain in cereals, *Nature* 151 (3827): 278.
19. Hatcher E. S. J., 1945, Studies in the vernalisation of cereals. Auxin production during development and ripening of the anther and carpel of spring and winter rye, *Ann. Bot.* 9, 35.
20. Hemberg T., 1955, Studies on the balance between free and bound auxin in germinating maize, *Physiol. Plantarum*, 8 (2): 418.
21. Izard C., 1956, Sur la germination des grains immatures de certaines variétés de tabac en presence de la lumière et de sels d'urane, *Compt. Rend. Acad. Sc.* 242 (16): 2027.
22. Kefford N. O., 1955, The growth substances separated from plant extrakts by Chromatography I, *Journ. Exp. Bot.* 6 (16): 129—151.
23. Khudairi A. K., Hamner K. C., 1954, Effect of ethylene chlorhydrin of floral initiation in *Xanthium*, *Bot. Gaz.* 115 (3): 289.
24. Khudairi A. K., Bonde, E. K., 1954, Growth inhibitor activity in *Xanthium* in relation to photoperiodism, *Plant Physiol.* 29 (6): 533.

25. Kögl F. H., Erxleben A. J., Haagen Smit, 1934, Über die Isolierung der Auxine a und b aus pflanzlichen Materialien, IX. Mitteilung. Z. physiol. Chem. 225: 215.
26. Lanza F., 1953, Contributo allo studio della jarovizzazione di alcuni Triticum, Nota I. Ann. Sperim. agrar. 1953, 7, nr. 6 z Ref. Žurn. 17, 1955: 107.
27. Leopold A. C., Guernsey F. S., 1953a, Flower initiation in Alasca pea I. Evidence as to the role of auxin, Amer. Journ. Bot. 40: 46.
28. Leopold A. C., 1953 b, Modification of floral initiation with auxin and temperatures, Amer. Journ. Bot. 40: 603.
29. Leopold A. C., 1954, Flower initiation in the Alasca pea. II. Chemical vernalization, Amer. Journ. Bot. 41 (3): 181.
30. Lockhart J. A., Hamner K. C., 1954, Partial reaction in the formation of the floral stimulus in *Xanthium*, Plant Physiol. 29 (6): 509.
31. Łysenko T., 1950, Agrobiologia, Warszawa.
32. Michajłowa L. N., 1949, K woprosu ob obmienie wieszczestw u rastienii pri prochoždienii stadii jarowizacji, Dokł. Akad. Nauk SSSR 64 (6): 857.
33. Michniewicz M., 1957, Czy istnieją hormony kwitnienia?, Wiad. Bot. 4: 175.
34. Němcová F. E., Koloušek J., 1956, Studium vlivu jarovisace a některých biochemických zmen, které při ní nastávají na vývojový cyklus konského bobu, Sbor. Českosl. Acad. zeměd. věd. Rada Rostl. výroba, 29 (2): 155 (z Ref. Žurn. 1957, 6: 136).
35. Overbeek Van J., 1938, Auxin production in seedlings of dwarf maize, Plant. Physiol. 13: 587.
36. Pilet P. E., 1954, Croissance et rhizogenese des racines de plantules vernalisées et rôle du froid sur les auxins et leurs précurseurs dans les grains et les racines, Rev. Gen. Bot. 61 (729): 637.
37. Pohl R., Tagethoff B., 1949, Der Hemmstoff des Maisscutellums ein Wuchsstoffinaktivator, Naturwiss. 36: 319.
38. Purvis O. N., 1944, Studies in the vernalisation of Cereals, VIII. The role of Carbohydrate and Nitrogen Supply in the vernalization of Excised Embryos of Petkus Winter Rye, Ann. Bot. N.S. 8: 285.
39. Purvis O. N., 1947, Studies in the vernalization of Cereals. X. The effect of Depletion of Carbohydrates on the Growth and vernalization responses of Excised Embryos, Ann. Bot. N.S. 11: 269.
40. Purvis O. N., 1948, Studies in Vernalization. XI. The effect of date of sowing and excising the embryo upon the responses of Petkus Winter Rye to different periods of vernalization treatment, Ann. Bot. N.S. 12: 183.
41. Purvis O. N., Gregory, F. G., 1953, Accelerating effect an extract of vernalized embryos of winter rye of flower initiation in unvernallized embryos, Nature 4355: 687.
42. Reifer I., Kleczkowska D., Solecka M., 1956, Badania nad wpływem jaryzacji na aktywność niektórych enzymów w pszenicach ozimych, Acta Biochim. Polonica 8 (1): 41.
43. Resede F., Viana M. J., 1952, Some effects of synthetic auksins and antiauksins on the floral state, Bol. Soc. Portug. Ciene. Nat. (2a ser. 4 (1): 74 (z Biol. Abstr. 20, 4. 1954).
44. Robbins W. J., White, V. B., 1937, Effect of Extracts from the Corn Plant on Growth of excised Root Tips, Bot. Gaz. 98: 520.
45. Ruge M., 1955, Praktikum po fizjologii rosta i razwitiya rastienii, Moskwa: 163.
46. Séchet J., 1954, L'action de la temperature sur la reproduction des vegetaux, Rapp. et Comm. Huitième Congrès Intern. Bot. Paris Sec. 11/12: 295.
47. Sircar S. M., Das, T. M., 1951, Growth hormones of rice grains germinated of different temperatures, Nature 168: 382.
48. Sircar S. M., Das T. M., 1954, Studies on the physiology of rice IX. Auxin content of the vernalized seed, Proc. Nat. Inst. Indiana Ser. C, 20: 673 (z Ref. Žurn. 1956, 5: 105).

49. Słaboński A., 1956, Badania nad jarowizacją różnych rodzajów i odmian zbóż i znaczenie tego rodzaju zabiegu dla uprawy i hodowli roślin, *Acta Agrobot.* 4: 45.
50. Söding H., 1952, *Die Wuchsstofflehre*, Stuttgart.
51. Steeves T. A., Morel G., Wetmore R. F., 1953, A technique for preventing inactivation of the cut surface in auxin diffusion studies, *Amer. J. Bot.* 40: 534.
52. Thimann K. V., Lane R. H., 1938, After-effects of the treatment of seed with auxin, *Amer. J. Bot.* 25: 535.
53. Tood G. W., 1953, Enzyme studies in dormant and active Potato Tubers, *Physiol. Plantarum* 6: 169.
54. Voss H., 1939, Nachweis des inactiven Wuchsstoffes eines Wuchsstoffantagoniste und deren Wachstumsregulatorische, *Planta* 30: 261.
55. Went F. W., Thimann K. V., 1937, *Phytohormones*, New York.

Część II i III niniejszej pracy drukowana jest w Zeszytach Naukowych U. M. K. w Toruniu, *Biologia*, z. 6, 1960.