

## Zmiany zawartości regulatorów wzrostu roślin w liściach i organach reproduktywnych rzodkiewki (*Raphanus sativus* L.) w różnych fazach jej rozwoju

Changes in the level of growth regulators in leaves and reproductive organs of *Raphanus sativus* L. in different stages of plant development

M. MICHNIEWICZ I L. MICHALSKI\*

### WSTĘP

Regulatory wzrostu spełniają w rozwoju rośliny bardzo ważną rolę. Istnieją dane pozwalające wnioskować, że przejście rośliny z fazy wegetatywnej do reproduktywnej warunkuje odpowiednio niski poziom auksyn (Reece, Furri Cooper 1946, Laibach i Kribben 1950, Schwabe 1951, Bonner i Liverman 1953, Khudairi i Hamner 1954, Gowing 1956 i in.) lub też określony stosunek auksyn do antyauksyn (Resende 1949, Esteves De Sousa 1950) lub do inhibitorów (Khudairi i Bonde 1954). Bliższe dane dotyczące literatury tego zagadnienia podaje Michniewicz (1957).

Mimo wielkiego zainteresowania, jakie wzbudza ten problem, brak odpowiedniej metody rozdzielania i identyfikowania poszczególnych stymulatorów i inhibitorów wzrostu nie pozwalał na bliższe poznanie dynamiki tych substancji w trakcie rozwoju rośliny. Dopiero zastosowanie w badaniach nad regulatorami wzrostu metod rozdzielczych — zwłaszcza chromatografii, umożliwia bliższą analizę tego zagadnienia.

Metodę chromatograficzną stosowano ostatnio w badaniach nad rozwojem niektórych organów roślinnych. I tak Nevins i Hemphill (1956) stwierdzili, że rozwijające się pączki kwiatowe brzoskwini zawierają więcej substancji wzrostowych aniżeli pączki pozostające w stanie spoczynku. Autorzy ci wyodrębnili tu cztery aktywatory wzrostu, z których trzy zidentyfikowali jako kwas  $\beta$ -indoliloloctowy, nitryl oraz ester etylowy tego kwasu.

Mima i t (1956) przy pomocy chromatografii i testu biologicznego

---

\* W pracach laboratoryjnych udział brali: A. Matuszkiewicz i W. Piecha.

badał aktywność auksyn i inhibitorów wzrostu w nasionach gruszy i wiśni w różnych fazach ich rozwoju. W wyniku doświadczeń stwierdził, że nasiona we wczesnych fazach rozwoju zawierały auksyny i odznaczały się brakiem inhibitorów. W miarę dojrzewania ilość auksyn zmniejszała się, a zawartość inhibitorów wzrastała.

Zawartość substancji wzrostowych w rozwoju nasion badali również N i t s c h o w i e (1956). Stwierdzili oni, że w załęczkach fasoli poziom substancji wzrostowych osiąga maksimum w 10-tym dniu kwitnienia, a następnie obniża się w miarę ich dojrzewania. Metoda chromatograficzna pozwoliła na wyodrębnienie trzech różnych substancji wzrostowych, z których jedną zidentyfikowano jako kwas  $\beta$ -indoliloctowy.

Poziom auksyn i inhibitorów w różnych fazach rozwoju liścia *Streptocarpus wendlandii* badał H e s s (1958). Autor stwierdził, że liść rośliny będącej w fazie wegetatywnej posiada tylko jeden stymulator, mianowicie kwas  $\beta$ -indoliloctowy, natomiast liść rośliny kwitnącej zawiera obok kwasu  $\beta$ -indoliloctowego stymulator opowiadający charakterem nitrylowi tego kwasu. Bezwzględny poziom inhibitorów był jednakowy zarówno u roślin pozostających w fazie wegetatywnej, jak i u roślin kwitnących. Zmianie ulegał jedynie stosunek substancji wzrostowych do hamujących, w rezultacie czego rośliny kwitnące charakteryzowała znacznie wyższa aktywność substancji wzrostowych.

Badania nad dynamiką stymulatorów i inhibitorów wzrostu w trakcie rozwoju rośliny są jednak bardzo nieliczne. Uwzględniając to, a także doceniając ogromną rolę, jaką spełniają te substancje w ontogenezie rośliny, autorzy postanowili przeprowadzić chromatograficzną i biologiczną analizę regulatorów wzrostu występujących w liściach i organach reprodukcyjnych rzodkiewki w różnych fazach jej rozwoju.

#### METODYKA

Materiałem doświadczalnym była rzodkiewka *Raphanus sativus* L. var. *radicula* DC. Saxa, uprawiana na polatkach Ośrodka Biologii Stosowanej U.M.K. w Konieczynie.

Aby uzyskać rośliny pozostające w różnych fazach rozwojowych wysiewano nasiona co 5 dni począwszy od 3.IV.1957 r. Materiał do analizy zebrano jednorazowo w dniu 8 czerwca.

Doświadczenie, w którym przeprowadzono analizę regulatorów wzrostu w liściach obejmowało 5 wariantów. Badano liście zebrane z roślin 1. przed wydaniem pędu kwiatowego, 2. po wytworzeniu pędu kwiatowego, lecz przed pojawieniem się pączków kwiatowych, 3. w końcowej fazie rozwoju pączków, 4. z roślin w pełni kwitnących oraz 5. po przekwitnięciu. Liście pochodziły każdorazowo z wewnętrznych partii rozetek liściowych.

W doświadczeniu drugim badano poziom regulatorów wzrostu w organach reproduktywnych rośliny. Analizie poddano pączki w początkowej oraz w końcowej fazie rozwoju, kwiaty w pełni rozwinięte oraz po przekwitnieniu (zawiązki owoców po pięciu dniach od pełni kwitnienia). Do doświadczenia starano się wybrać pączki względnie kwiaty najbardziej typowe, będące w tej samej fazie rozwoju.

Materiał przeznaczony do analizy zarówno liści, jak i organów reproduktywnych pobierano z tych samych roślin z wyjątkiem tych wariantów, gdzie analizie poddawano liście z roślin, które nie wytworzyły jeszcze pączków kwiatowych.

Na jedną próbkę pobierano po 15 g materiału roślinnego, który zalewano 50 ml bezwodnego alkoholu etylowego i zamrażano do temperatury  $-10^{\circ}\text{C}$ , a następnie rozcierano. Ekstrakcję prowadzono 24 godziny w lodówce o temperaturze około  $+4^{\circ}\text{C}$ , po czym ekstrakt odwirowywano od części stałych. Z tak przygotowanego roztworu pobierano próbkę w ilości 20 ml, którą zagęszczano pod zmniejszonym ciśnieniem na łaźni wodnej, której temperatura nie przekraczała  $+55^{\circ}\text{C}$ . Wodną pozostałość zadawano 1 ml bezwodnego alkoholu etylowego. Tak przygotowany ekstrakt наносzono przy pomocy mikropipety na bibułę chromatograficzną Whatman Nr 1. Zastosowano metodę chromatografii wstępującej. Jako rozpuszczalnika użyto mieszaniny alkoholu izo-propylowego, wody i amoniaku w stosunku 10:1:1 według metody Bennett-Clarka i współautorów (1952). Chromatogramy rozwijano w komorze zacienionej w temperaturze  $21^{\circ}\text{C}$  do wysokości 20 cm od punktu startowego.

Chromatogramy suszono w temperaturze pokojowej, cięto równolegle do czoła chromatogramu na 10 dwucentymetrowych odcinków, które umieszczano w maleńkich probówkach zawierających 1 ml 2%-owego wodnego roztworu sacharozy. Jako kontrolę stosowano eluaty z czystej bibuły, przez którą uprzednio przepuszczono ten sam rozpuszczalnik, którego używano do rozwinięcia chromatogramów. Probówki te umieszczono w klinostacie (opisanym przez Michalskiego 1958) przy szybkości obrotów 1,5 obr./min. Elucja trwała 12 godz w temperaturze  $21^{\circ}\text{C}$ .

Aktywność eluatów badano metodą owsianego testu cylindrycznego. Materiałem testowym były 4-milimetrowe odcinki koleoptyle owsa (odm. Siegeshafer-Svalöf) hodowanego metodą Södinga (1952), ucinane gilotyną żyłkową w odległości 3 mm od wierzchołka. W każdej próbówce z eluatem umieszczano po 10 odcinków koleoptyle, a następnie dzięki zastosowaniu eksykatora próżniowego usuwano z nich powietrze, doprowadzając w ten sposób do równomiernego zanurzenia odcinków w eluacie. (Kiermaye 1956). Po usunięciu powietrza, probówki powtórnie umieszczano w klinostacie. Ruch obrotowy przyrządu zapobiegał wyginaniu się odcinków w czasie wzrostu trwającego 20 godz. w temperaturze  $21^{\circ}\text{C}$ . Przy-

rost długości odcinków koleoptyle mierzono miarą milimetrową w rzutniku fotograficznym powiększającym  $15\times$ .

Dla wyznaczenia wartości Rf kwasu  $\beta$ -indoliloctowego prowadzono równolegle chromatogram kontrolny, na który naniesiono alkoholowy roztwór kwasu  $\beta$ -indoliloctowego. Chromatogram ten wybarwiono wywoływaczem złożonym z  $\text{FeCl}_3 + \text{HClO}_4$ , otrzymując w efekcie różową plamę odpowiadającą położeniu kwasu  $\beta$ -indoliloctowego. Położenie tej substancji na histogramach oznaczono symbolem IAA.

Doświadczenia wykonano w powtórzeniu trzykrotnym, a wszystkie czynności przeprowadzano w świetle ciemnoczerwonym.

Wyniki poddano analizie statystycznej obliczając średni błąd średnich przyrostów (L e o p o l d 1955). Błąd ten w serii doświadczeń z liśćmi wynosił 7%, a w doświadczeniach z organami reproduktywnymi 5,2%.

Procent przyrostu długości odcinków koleoptyle w stosunku do kontroli był podstawą do wykreślenia histogramów. Przyrost odcinka kontrolnego przyjęto jako zero procent i przedstawiono w postaci ciągłej linii prostej. W ten sposób wartości leżące powyżej tej linii wskazują na obecność stymulatorów wzrostu, zaś leżące niżej ujawniają istnienie inhibitorów. Wartość błędu doświadczalnego oznaczono linią przerywaną.

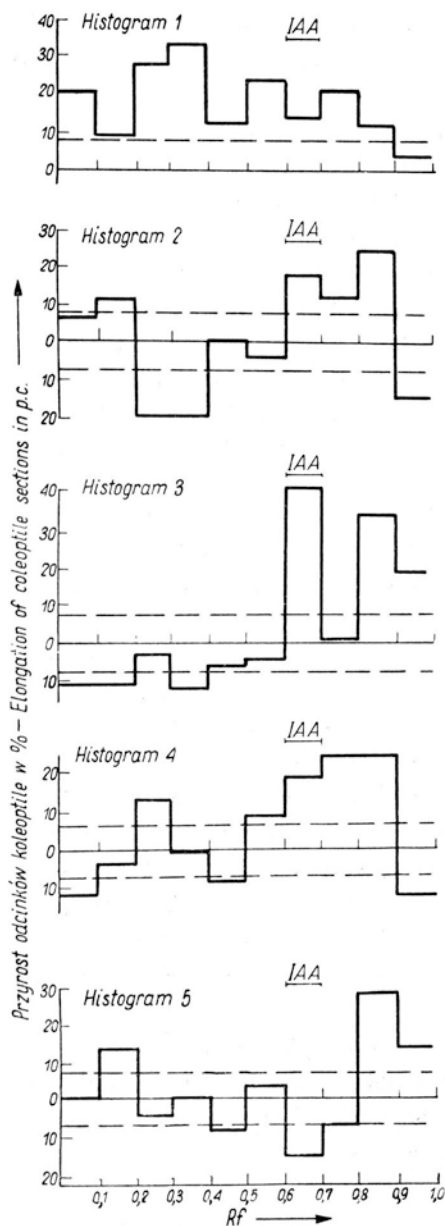
## WYNIKI I DYSKUSJA

Wyniki doświadczeń przedstawiono graficznie w formie histogramów. Histogramy te pozwalają na wyodrębnienie pewnych stref odpowiadających stymulatorom względnie inhibitorom wzrostu.

### Analiza ekstraktów z liści (ryc. 1)

*Histogram 1* wskazuje, że liście roślin będących w fazie wegetatywnej charakteryzuje stosunkowo wysoki poziom substancji wzrostowych. Obok kwasu  $\beta$ -indoliloctowego występującego tu w niewielkiej ilości spotykamy kilka innych stymulatorów, z których najaktywniejszy odpowiada Rf 0,2—0,4. Charakterystyczny jest tu zupełny brak inhibitorów wzrostu.

*Histogram 2* przedstawia układ stymulatorów i inhibitorów w liściach roślin tworzących pędy kwiatowe. Obserwujemy tu wyraźny spadek zawartości substancji wzrostowych i pojawienie się przynajmniej dwóch inhibitorów (Rf 0,2—0,4 i 0,9—1,0). W skład substancji wzrostowych wchodzi tu niewątpliwie kwas  $\beta$ -indoliloctowy, którego poziom w stosunku do wczesnej fazy rozwoju liści jest nieco większy oraz stymulator występujący w czołe chromatogramu. Dane z literatury (S e n i L e o p o l d 1954, K e f f o r d 1955) wskazują, że w ekstraktach rozdzielanych chromatograficznie przy pomocy używanych przez nas rozpuszczalników, w czołe chromato-



Ryc. 1. Analiza chromatograficzna i biologiczna regulatorów wzrostu w liściach *Raphanus sativus* L. w różnych fazach rozwoju rośliny

Chromatographic and biological analysis of growth regulators from leaves of *Raphanus sativus* L. in different stages of plant development

Histogram 1 — faza wegetatywna (vegetative condition); Histogram 2 — faza tworzenia pędu kwiatowego (the stage of bolting); Histogram 3 — faza pączków kwiatowych (the stage of flower buds formation); Histogram 4 — faza pełnego kwitnienia (the stage of full blossoming); Histogram 5 — rośliny owocujące (the fruiting plants)

gramu umiejscawia się nitryl kwasu  $\beta$ -indoliloctowego. Stwierdzenie to upoważnia nas zatem do zidentyfikowania stymulatora układającego się w czołe naszych chromatogramów jako nitrylu kwasu  $\beta$ -indoliloctowego.

*Histogram 3* odzwierciedlający układ stymulatorów i inhibitorów w liściach o wykształconych pączkach kwiatowych wskazuje na znaczny wzrost zawartości kwasu  $\beta$ -indoliloctowego w porównaniu do wcześniejszej fazy rozwoju i nieco mniejszy przyrost wartości stymulatora identyfikowanego jako nitryl tego kwasu. Poziom inhibitorów w tej fazie rozwoju rośliny jest bardzo niski.

*Histogram 4* wykreślony został na podstawie wyników uzyskanych z ekstraktów z liści pobranych z roślin w pełni kwitnienia. Poziom stymulatorów jest tu stosunkowo wysoki, widać jednak wyraźny spadek zawartości kwasu  $\beta$ -indoliloctowego. Ekstrakty te charakteryzowała mała zawartość inhibitorów.

*Histogram 5.* W liściach z roślin przekwitłych obserwujemy wyraźny spadek poziomu substancji wzrostowych. Kwas  $\beta$ -indoliloctowy zanika zupełnie. Nitryl tego kwasu pozostaje na ogół na poziomie właściwym dla poprzedniej fazy rozwojowej rośliny. Zawartość inhibitorów nie ulega zasadniczej zmianie. Najaktywniejszy inhibitor układu się w Rf 0,6—0,7.

Jak wskazują wyniki doświadczeń, mała zawartość kwasu  $\beta$ -indoliloctowego w liściach roślin pozostających w fazie wegetatywnej, zwiększa się w miarę rozwoju rośliny, osiągając maksimum w liściach roślin charakteryzujących się obecnością pączków kwiatowych, a następnie gwałtownie maleje tak, że ostatecznie w liściach roślin przekwitłych brak go zupełnie.

Stymulator zidentyfikowany jako nitryl kwasu  $\beta$ -indoliloctowego występuje w liściach roślin, które nie wytworzyły jeszcze pędu kwiatowego, w małych tylko ilościach. W następnej fazie rozwoju rośliny, ilość jego w liściach wzrasta i utrzymuje się na ogół na jednakowym poziomie aż do końca.

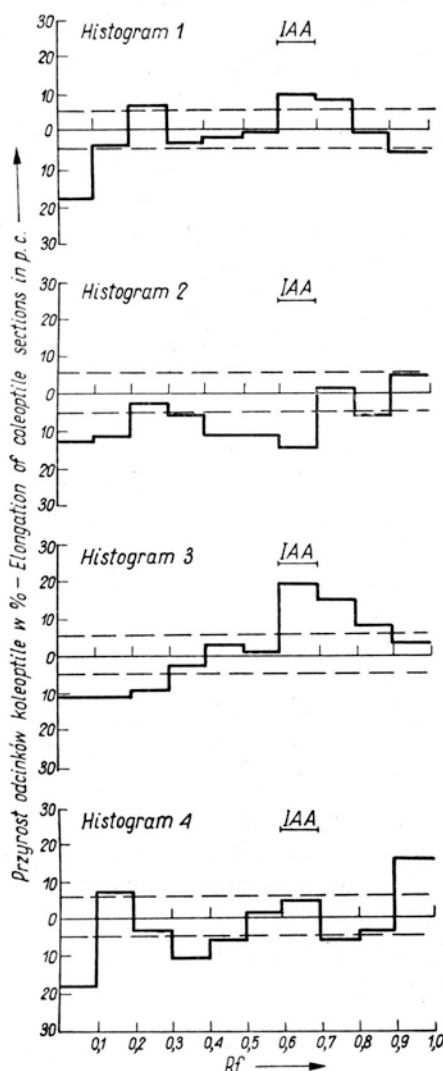
Największe zróżnicowanie jakościowe substancji wzrostowych obserwujemy w fazie pierwszej, gdzie obok kwasu  $\beta$ -indoliloctowego i nitrylu tego kwasu występują co najmniej dwa inne stymulatory wzrostu.

Inhibitory, które nie występują zupełnie w liściach roślin będących w fazie wegetatywnej, pojawiają się w stadium wytwarzania pączków kwiatowych i osiągają w tym okresie maksymalny poziom. W dalszych fazach rozwoju rośliny zawartość inhibitorów jest na ogół niewielka.

Jak widać z powyższego, wyniki otrzymane przez nas nie pokrywają się z danymi uzyskanymi przez H e s s a (1958). Istniejące tu rozbieżności tłumaczyć można przede wszystkim różnicami w materiale stosowanym w doświadczeniach. Zaznaczyć należy, że *Streptocarpus wendlandii*, który był obiektem badań H e s s a, posiada tylko jeden liść.

# Analiza ekstraktów z organów reproduktywnych (ryc. 2)

*Histogram 1.* W ekstraktach z pączków w początkowej fazie ich rozwoju, poziom stymulatorów wzrostu okazał się niski. Spośród występujących tu



Ryc. 2. Analiza chromatograficzna i biologiczna regulatorów wzrostu w różnych fazach rozwoju organów reproduktywnych *Raphanus sativus* L.

Chromatographic and biological analysis of growth regulators from the reproductive organs of *Raphanus sativus* L. in different stages of development

Histogram 1 — początkowa faza rozwoju pączków kwiatowych (the early stage of flower buds formation); Histogram 2 — końcowa faza rozwoju pączków kwiatowych (the later stage of flower buds development); Histogram 3 — kwiaty w pełni rozwoju (mature flowers); Histogram 4 — związki owoców (the fruits in the early stage of development, 5 days after full blossom)

substancji wzrostowych przeważa kwas  $\beta$ -indoliloctowy. Stosunkowo niewielka jest także zawartość inhibitorów wzrostu, które układają się tuż za linią startu i występują także w niewielkiej ilości w czole chromatogramu.

*Histogram 2* wskazuje, że w końcowej fazie rozwoju pączków, substancje wzrostowe zanikają niemal całkowicie, natomiast pojawia się szereg inhibitorów, wykazujących znaczną aktywność.

*Histogram 3* obrazuje wyniki analizy ekstraktów z kwiatów w pełni rozwiniętych. W tym przypadku wyodrębniono dwie wyraźnie aktywne strefy. Jedną tuż za linią startu ( $R_f$  0,0—0,3) wskazującą na obecność inhibitora, drugą ( $R_f$  0,6—0,9) wskazującą na obecność substancji wzrostowych, a przede wszystkim kwasu  $\beta$ -indoliloctowego. Należy przypuszczać, że obserwowany tu układ schodkowy linii histogramu powyżej położenia kwasu  $\beta$ -indoliloctowego jest wynikiem nierównomiernego rozmieszczenia substancji na chromatogramie. Tego rodzaju zjawisko ujawniające się w formie rozciągniętej plamy obserwuje się zwykle, gdy badana substancja występuje w większej ilości. Na tej podstawie możemy wnioskować, że poziom kwasu  $\beta$ -indoliloctowego był w tym przypadku szczególnie wysoki.

*Histogram 4* przedstawia wyniki analizy ekstraktów zawiązków owoców. Obserwujemy tu wyraźny spadek substancji wzrostowych. Ilość kwasu  $\beta$ -indoliloctowego mieściła się w tym przypadku w granicach błędu doświadczenia. Substancja wzrostowa występuje wyraźnie zasadniczo tylko w czole chromatogramu, w strefie odpowiadającej nitrylowi kwasu  $\beta$ -indoliloctowego. W tej fazie rozwoju wzrasta natomiast aktywność i zróżnicowanie inhibitorów.

Wyniki doświadczeń wskazują, że substancje wzrostowe występują przede wszystkim w postaci kwasu  $\beta$ -indoliloctowego. Zawartość tej substancji w pączkach kwiatowych we wczesnym stadium ich rozwoju jest mała, a w pączkach starszych zanika całkowicie. Najwyższy poziom osiąga kwas  $\beta$ -indoliloctowy w ekstraktach z kwiatów w pełni ich rozwoju.

Dane te potwierdzają więc w pewnym stopniu wyniki doświadczeń M u i r a 1942 (cyt. S ö d i n g 1952) nad tytoniem, S ö d i n g a (1952) nad *Heliopsis* i *Cephalaria* oraz N i t s c h o w (1956) nad fasolą, według których nie zapłodnione zalążnie charakteryzuje niski poziom auksyn, natomiast po zapłodnieniu ilość tych związków wyraźnie wzrasta. Niewątpliwie, w naszych doświadczeniach, w których poddawaliśmy analizie całe kwiaty, należy spodziewać się, że pewna część kwasu  $\beta$ -indoliloctowego pochodzi z pyłku, który jak wykazały badania M i c h a l s k i e g o (1958) i in. jest dość zasobny w ten związek.

Po przekwitnięciu roślin, w ekstraktach z zawiązków owoców, poziom substancji wzrostowych obniża się, a kwas  $\beta$ -indoliloctowy występuje w ilościach zawartych w granicach błędu doświadczalnego. Zjawisko obniżania



się poziomemu auksyn w trakcie dojrzewania owoców opisuje szereg autorów cytowanych przez S ö d i n g a (1952). Ostatnio stwierdzili to także M i m a u l t (1956) u gruszy i wiśni oraz N i t s c h o w i e (1956) u fasoli.

W tej fazie rozwoju charakterystyczne jest pojawienie się stymulatora układającego się w czole chromatogramu, który można zidentyfikować jako nityryl kwasu  $\beta$ -indoliloctowego.

Na uwagę zasługuje fakt, że inhibitory wzrostu występują we wszystkich fazach rozwoju kwiatu. Inhibitorem, który wystąpił we wszystkich wariantach była substancja umiejscowiona bezpośrednio za linią startu.

Najwyższy poziom inhibitorów i największe ich zróżnicowanie pod względem jakościowym obserwujemy w ekstraktach z pączków starszych, które charakteryzuje zupełny niemal brak substancji wzrostowych.

Należy także porównać poziom stymulatorów i inhibitorów wzrostu w liściach i organach reproduktywnych. Istotne jest, że podczas gdy w pączkach starszych substancje wzrostowe zanikają niemal zupełnie, liście tych roślin charakteryzuje najwyższy poziom kwasu  $\beta$ -indoliloctowego. Uwagę zwraca także fakt, że we wszystkich fazach rozwoju roślin, w liściach ich występuje stosunkowo duża ilość stymulatora identyfikowanego jako nityryl kwasu  $\beta$ -indoliloctowego, gdy tymczasem w organach reproduktywnych brak go niemal zupełnie. Stymulator ten pojawia się dopiero w zawiązkach owoców — już po przekwitnięciu rośliny.

Wyniki pracy niniejszej potwierdzają tezę tych autorów, którzy regulatorom wzrostu przypisują ważną rolę w rozwoju rośliny, zwłaszcza w procesach prowadzących do zakwitania. Wyniki badań przedstawione w niniejszej pracy potwierdzają niewątpliwie istnienie wyraźnej zależności między określoną fazą rozwoju rośliny, a poziomem stymulatorów i inhibitorów wzrostu zawartych w liściach i organach reproduktywnych.

## STRESZCZENIE

Przeprowadzono chromatograficzną i biologiczną analizę regulatorów wzrostu zawartych w ekstraktach alkoholowych z liści i organów reproduktywnych rzodkiewki w różnych etapach jej rozwoju.

1. W wyniku doświadczeń stwierdzono istnienie wyraźnej zależności między określoną fazą rozwoju rośliny a poziomem stymulatorów i inhibitorów wzrostu występujących w tych organach.

2. Ekstrakty z liści i z organów reproduktywnych charakteryzowała obecność stymulatorów i inhibitorów wzrostu. Wśród stymulatorów wykryto kwas  $\beta$ -indoliloctowy oraz stymulator układający się w czole chromatogramu, odpowiadający swym położeniem nityrylowi tego kwasu. Szczegółowej analizy inhibitorów nie prowadzono.

3. Analiza wykazała, że liście roślin w fazie wegetatywnej charakteryzuje największe zróżnicowanie jakościowe stymulatorów wzrostu. Stwierdzono tu obecność kilku substancji wzrostowych o stosunkowo wysokiej aktywności oraz zupełny brak inhibitorów wzrostu.

W liściach roślin tworzących pędy kwiatowe obserwowano mniejszą zawartość substancji wzrostowych oraz pojawienie się przynajmniej dwóch inhibitorów. Poziom inhibitorów osiągał w tej fazie rozwoju rośliny najwyższą wartość.

Stymulatory wzrostu w liściach zebranych z roślin o definitywnie wykształconych pączkach kwiatowych występują w postaci kwasu  $\beta$ -indoliloctowego oraz w formie nitrylu tego związku. Obie te substancje charakteryzuje wysoka aktywność. Zawartość inhibitorów jest tu stosunkowo niewielka.

W ekstraktach z liści roślin w pełni kwitnienia zawartość stymulatorów wzrostu kształtuje się na stosunkowo wysokim poziomie, jednak w porównaniu z poprzednią fazą rozwoju obserwujemy tu znaczne zmniejszenie ilości kwasu  $\beta$ -indoliloctowego. Poziom inhibitorów osiąga wartość zbliżoną do wartości charakterystycznej dla fazy poprzedniej.

W liściach roślin przekwitłych obserwujemy znaczny spadek zawartości substancji wzrostowych. Poziom inhibitorów nie ulega tu żadnej zasadniczej zmianie.

4. Stymulatory wzrostu występują w ekstraktach z organów reproduktywnych głównie w postaci kwasu  $\beta$ -indoliloctowego. W zawiązkach owoców pojawia się natomiast stymulator układający się w czole chromatogramu, odpowiadający położeniem nitrylowi kwasu  $\beta$ -indoliloctowego. Charakterystyczne jest występowanie we wszystkich fazach rozwoju kwiatu inhibitora układającego się bezpośrednio za linią startu.

Ekstrakty z młodych pączków charakteryzował stosunkowo niski poziom zarówno stymulatorów, jak i inhibitorów wzrostu.

W pączkach starszych stymulatory zanikają całkowicie, natomiast pojawia się kilka inhibitorów, które wykazują tu najwyższą aktywność i zróżnicowanie.

Chromatogramy uzyskane z kwiatów w pełni rozwiniętych charakteryzuje duża zawartość i aktywność kwasu  $\beta$ -indoliloctowego, osiągającego w tym stadium rozwoju rośliny najwyższy poziom. W porównaniu do poprzedniej fazy rozwojowej obserwujemy mniejszą zawartość i zróżnicowanie inhibitorów.

Zawiązki owoców charakteryzuje silnie obniżony poziom stymulatorów wzrostu. Wyraźnie występuje tu tylko stymulator odpowiadający położeniem nitrylowi kwasu  $\beta$ -indoliloctowego. W fazie tej notowano ponowne zwiększenie się ilości i zróżnicowanie jakościowe inhibitorów.

5. W wyniku badań stwierdzono bardzo istotne różnice w zawartości kwasu  $\beta$ -indoliloctowego w poszczególnych fazach rozwoju rośliny, co wskazuje na zasadniczą rolę tego związku w rozwoju ontogenetycznym rośliny.

Zakład Fizjologii Roślin UMK  
w Toruniu

(Wpłynęło 30.IX.1958.)

#### SUMMARY

Chromatographic and biological analyses of growth regulators contained in alcohol extracts from leaves and of the reproductive organs of the radish in different stages of plant development were carried out.

As material for experiments the radish *Raphanus sativus* L. var. *radicula* DC. Saxa was used.

The leaves collected from plants in the vegetative condition, in the bolting stage, in the later stage of flower buds development, from plants in the stage of full blossoming and after blossoming, were investigated.

In the second experiment, the reproductive organs were analysed. Flower buds in the early and later stage of development were examined, as well as flowers in the stage of full blossoming and fruit setting.

The extraction from frozen material ( $-10^{\circ}\text{C}.$ ) was carried out in anhydrous ethanol. Extracts were separated using the method of ascending chromatography on Whatman paper No 1 using as solvent a mixture of isopropyl alcohol — ammonia — water (10:1:1), Bennett-Clark et al. (1952). Developed chromatograms were divided into 10 sections 2 cm long and eluted in a test tube clinostate for 12 hours in sucrose solution.

The activity of eluates of separate sections of chromatograms was examined by means of the avena coleoptile test. As test material ten 4 mm sections of oats coleoptile (Victory oats — Svalöf), grown according to the Söding method (1952) were used each time. The, thus prepared, experimental material was rotated again for 20 hours in a test tube clinostate. The increase in length of the coleoptile sections was measured on a millimetrical scale in 15 times magnification in a photographic enlarger. The experiment was performed three times, each operation being performed in dark red light.

The Rf value for IAA was determined from a control chromatogram stained with developer composed of  $\text{HClO}_4$ — $\text{FeCl}_3$ . The results were used to draw histograms. The increase of control sections was assumed as 0. The value of experimental error was shown by a broken line.

1. The result of the experiments showed the existence of a definite dependence between the defined stage of plant development and the level of stimulants and inhibitors of growth appearing in these organs.

2. Extracts from leaves and reproductive organs were characterized by the presence of stimulants and inhibitors of growth. Among the stimulants was discovered IAA and the stimulant formed at the head of the chromatogram, corresponding, in its position with the nitril of this acid. Detailed analysis of inhibitors was not carried out.

3. The analysis showed that the plant leaves in the vegetative condition are characterized by the greatest qualitative differentiation of growth stimulants. The presence of several growth substances with relatively high activity was observed and a complete lack of growth inhibitors.

In the leaves of plants forming flower shoots a smaller content of growth substances and the appearance of at least two inhibitors was observed. The level of inhibitors was the highest in this stage of development.

Growth stimulants in the leaves collected from plants with definitely formed flower buds appear in the form of IAA and in the form of nitril of this compound. Both substances are characterized by great activity. The content of inhibitors is relatively small.

In the extracts from leaves of plants in full bloom the content of growth stimulants is relatively high, though compared with the previous stage of development we observe a large decrease in the amount of IAA. The level of inhibitors reaches a value nearing that characteristic for the previous stage.

In the leaves of plants after blossoming a definite decrease of content of growth substances may be observed. The level of inhibitors does not essentially change.

4. Growth stimulants appear in the extracts of reproductive organs chiefly as IAA. In the young fruits there appears a stimulant at the head of the chromatogram, corresponding in its position to the nitril of IAA. The appearance of an inhibitor directly behind the starting line in all the stages of flower development is characteristic. Extracts from young buds were characterized by a relatively low level of both growth stimulants and inhibitors.

In older buds stimulants disappear completely, but several inhibitors appear showing here the greatest activity and differentiation.

Chromatograms obtained from flowers in full blossoming are characterized by a large content and activity of IAA, reaching in this stage of plant development the highest level. Compared to the previous stage of development a smaller content and differentiation of inhibitors may be observed.

The young fruit are characterized by a considerably lowered level of growth stimulants. Only the stimulant corresponding in its position with nitril of IAA appears here distinctly. In this stage a renewed increase in the quantity and quality differentiation of inhibitors may be noted.

5. As a result of the investigation the essential differences in the content of IAA in the individual stages of plant development were observed which indicate the fundamental role of this compound in the ontogenetic development of the plant.

## LITERATURA

1. Bennet-Clark T.A., Tambiah N.S., a. Kefford N.P., 1952, Estimation of Plant Growth Substances by Partition Chromatography, *Nature* 169: 452—453.
2. Hess D., 1958, Die Regulatoren des Streckungswachstums bei *Streptocarpus wendlandii* Utrecht und ihre Veränderungen während der Blühinduktion, *Planta* 50: 504—525.
3. Kefford N.P., 1955, The Growth Substances separated from Plant Extracts by Chromatography, I, *Jour. Exper. Bot.* 6: 129—151.
4. Kiermayer O., 1956, Eine einfache Arbeitsweise für den Koleoptilzylindertest, *Planta* 47: 527—531.
5. Leopold A.C. — 1955. Auxin and Plant Growth. Univ. of California Press Berkeley a. Los Angeles.
6. Michalski L., 1958, Próba chromatograficznej i biologicznej analizy regulatorów wzrostu w ekstraktach z pyłku leszczyny (*Corylus avellana* L.), *Acta Soc Bot. Pol.* 27 (1): 75—82.
7. Michalski L., 1958, Wycinarka i klinostat próbowkowy do badań regulatorów wzrostu metodą testu cylindrycznego, *Wiad. Bot.* 2 (4), 241: 245.
8. Michniewicz M., 1957, Czy istnieją hormony kwitnienia?, *Wiad. Bot.* 1 (4): 175—186.
9. Mimault J., 1956, Mise en évidence et variations d'activité d'auxines et de substances inhibitrices de croissance dans les extraits de graines de quelques variétés de fruits, *J. rech. Centre nat. rech. scient.* 37: 339—347.
10. Nevins R.B., Delbert D. Hemphill, 1956, Auxin in the Flower Buds of the Peach, *Plant Physiol.* 31, suppl. XXVIII, 11:15.
11. Nitsch J.P., Nitsch C., 1956, Separation chromatographique des auxines de l'ovule fécondé de haricot a différents stades de son développement, *Bull. Soc. Bot. France* 102 (9): 528—532.
12. Sen S.P. a. Leopold A.C., 1954, Paper Chromatography of Plant Growth Regulators and Allied Compounds, *Phys. Plant.* 7: 98—108.
13. Söding H., 1952, Die Wuchsstofflehre, Stuttgart G.T.H. Verl.