Analiza chromatograficzna endogennych regulatorów wzrostu u pszenicy ozimej poddanej działaniu gibereliny

Chromatographic analysis of growth regulators from winter wheat plants treated with gibberellin

MARIAN MICHNIEWICZ

Badaniom nad rolą gibereliny w procesach wzrostu i rozwoju roślin poświęca się w ostatnich latach bardzo wiele uwagi. Zainteresowanie tym problemem wzmogło się szczególnie silnie z chwilą stwierdzenia u roślin wyższych obecności związków giberelinopodobnych (Radley 1956, West i Phinney 1956, Murakami 1957, Ritzel 1957, Corcoran i Phinney 1958, Ogawa 1958, Simpson 1958, Margara i Morel 1960) oraz gibereliny A_1 (McMillan i Suter 1958, Phinney i Neely 1958, Went i Murashige 1958, Kawarada i Sumiki 1959).

Uwagę badaczy zwrócił zwłaszcza problem wzajemnego oddziaływania gibereliny i auksyny, hormonu spełniającego bardzo istotną rolę we wzroście i rozwoju rośliny. Jak wynika jednak z danych z literatury (Brian 1959, Michniewicz 1959, 1960, 1961), zagadnienie współdziałania obu substancji wzrostowych w procesach fizjologicznych organizmu roślinnego nie jest w pełni wyjaśnione. Stwierdzono bowiem zarówno synergiczne, jak i antagonistyczne oddziaływanie tych związków w procesach życiowych rośliny.

Zdaniem szeregu autorów (Pilet 1957, Vlitos i Meudt 1957a, 1957b, Galston i Warburg 1960) giberelina spełnia rolę czynnika warunkującego odpowiednio wysoki poziom endogennej auksyny w roślinie, chroniąc ją przed inaktywacją. Brian i Hemming (1958), Galston i Warburg (1959), Watanabe i Stutz (1960), ochronne znaczenie kwasu giberelinowego tłumaczą antagonistycznym oddziaływaniem tego związku w stosunku do naturalnego inhibitora rozkładającego kwas indoliloctowy. Według innych autorów, giberelina zabezpiecza auksynę przed utlenieniem, obniżając aktywność oksydazy kwasu indoliloctowego (Pilet 1957, Stutz i Watanabe 1957, Galston 1958, Pilet i Wurgler 1958) czy peroksydazy (McCune

i Galston 1959). Zdaniem Bergmanna (1958) rola gibereliny polegać może na ułatwieniu przekształcenia tryptofanu w kwas indolilooctowy.

Tłumaczenie, że giberelina warunkuje wysoki poziom auksyn w roślinie znajduje uzasadnienie w wynikach eksperymentów. Tak więc według Nitscha (1957) kwas giberelinowy wywoływał zwiększenie poziomu naturalnej auksyny u *Rhus typhina*, a Bouillenne-Walrand (1958, 1959) podaje, że związek ten zwiększał dwu- trzykrotnie ilość wolnej i związanej auksyny w liściach kukurydzy. Podobnie Phillips i współautorzy (1959) wykazali, że pod wpływem gibereliny zwiększała się ilość endogennych substancji wzrostowych w siewkach grochu.

Znane są jednak prace, których wyniki pozostają w sprzeczności z danymi uzyskanymi przez wyżej wymienionych autorów. Hayashi i Murakami (1958) nie stwierdzili wpływu kwasu giberelinowego na poziom auksyn u szeregu badanych przez nich gatunków. Podobne wyniki uzyskali też Tsukamoto i Sano (1958) w doświadczeniach z ziemniakami. Brian i Hemming (1958) oraz Kato i Katsumi (1958) wykazali dalej, że giberelina nie wpływa na aktywność oksydazy kwasu indolilooctowego. Hayashi i Matsunaka (1956) stwierdzili nawet, że związek ten zwiększa aktywność peroksydazy w kielkach ryżu, a więc enzymu wzmagającego proces inaktywacji auksyny. Również Purves i Hillman (1958) opierając się na wynikach eksperymentów wysuwa szereg krytycznych uwag odnośnie twierdzenia, że giberelina spełnia rolę ochronną w stosunku do endogennej auksyny.

Jak widać z przeglądu cytowanej tu literatury, zagadnienie wpływu gibereliny na poziom naturalnych regulatorów wzrostu roślin nie jest dotąd wyjaśnione. Należy także podkreślić, że doświadczenia odnoszące się do tego problemu ograniczały się do stwierdzenia wpływu gibereliny na poziom kwasu indolilooctowego lub nawet tylko na ogólną zawartość substancji typu auksyny. Jedynie Phillips i współautorzy (1959) donoszą, że pod wpływem tego związku doszło do zwiększenia ilości kwasu indolilooctowego oraz innego rodzaju substancji wzrostowej wykazującej jednocześnie własności auksyny i związków giberelinopodobnych.

Wnikliwsza analiza zmian powstałych w systemie regulatorów wzrostu roślin w wyniku zadziałania gibereliną, była właśnie celem niniejszej pracy.

METODYKA

Materiałem doświadczalnym była pszenica ozima odmiany „Leszczyńska Wczesna”. Uwzględniając wyniki poprzednich doświadczeń Michniewicza (1960, 1961) kwas giberelinowy stosowano w stężeniu

0,005%, zapewniającym w warunkach doświadczenia odpowiedni efekt wzrostowy. Preparat ten wprowadzano drogą przedśiewnej hormonizacji nasion.

Nasiona moczoło przez okres 24 godzin w roztworze gibereliny lub w wodzie, w temperaturze 20° C, a następnie przenoszono je do waniek winidurowych, na bibułę umieszczoną na bagietkach szklanych. Wanieki te wypełnione były wodą destylowaną.

Rośliny kiełkowały w temperaturze 20° C, część w ciemności, część zaś w świetle (w luminostacie o natężeniu światła 6 000 lux).

Zawartość regulatorów wzrostu oznaczano metodą chromatograficzną i testem biologicznym po 1, 2, 4, 6 i 8-miu dniach kiełkowania. U siewek 6-cio i 8-mio dniowych regulatory wzrostu określano oddzielnie w korzeniach i w częściach nadziemnych. Wszystkie czynności wykonywano przy ciemnoczerwonym świetle.

Do pomiarów pobierano każdorazowo po 150 roślin będących w jednakowej fazie wzrostu. Każda próbka materiału roślinnego zalewana była bezwodnym alkoholem etylowym w stosunku wagowym 1 : 10, zamrażana do temperatury -12° C i rozcierana. Ekstrakcję prowadzono przez 24 godziny w temperaturze około 0° C. Ekstrakt odwirowywano i zagęszczano na łaźni wodnej o temperaturze 55° C. Wodną pozostałość uzupełniano do objętości 1 ml, bezwodnym alkoholem etylowym. Tak przygotowany roztwór наносzono przy pomocy mikropipety na bibułę chromatograficzną Whatman 1. Zastosowano metodę chromatografii zstępującej, a jako układu rozwijającego użyto mieszaniny alkoholu izo-propylowego, wody i amoniaku w stosunku objętościowym 10 : 1 : 1. Chromatogramy rozwijano w ciemności w temperaturze 20° C do wysokości 20 cm od punktu startowego. Wysuszone chromatogramy cięto na 10 dwucentymetrowych odcinków. Odcinki te następnie umieszczano w probówkach zawierających 1 ml 2% sacharozy i poddano wirowaniu na klinostacie (przy szybkości 1,5 obr./min.). Wyplukiwanie trwało 12 godzin w temperaturze 20° C. Aktywność eluatów badano metodą owsianego testu cylindrycznego, obliczając przyrost odcinków koleoptyli w stosunku do kontroli. Stanowiły ją eluaty z czystej bibuły, przez którą przepuszczano rozpuszczalnik używany do rozwijania chromatogramów. Wyniki poddano analizie statystycznej obliczając procent błędu doświadczalnego przy $P = 0,005$. Wszystkie doświadczenia powtarzano dwukrotnie.

Procentowy przyrost odcinków koleoptyli w stosunku do kontroli stanowił podstawę do wykreślenia histogramów. Przyrost odcinka kontrolnego przyjęty za zero, przedstawiono linią ciągłą, a wartość błędu doświadczalnego oznaczono linią przerywaną. W ten sposób wartości

leżące powyżej błędu wskazują na obecność stymulatorów, zaś leżące poniżej ujawniają istnienie inhibitorów wzrostu.

Bliższe szczegóły metodyczne opisano w pracy Michniewicza i Michalskiego (1960).

Celem indentyfikacji niektórych naturalnych regulatorów wzrostu wyznaczono R_f dla kwasu β -indoliloctowego (IAA) pochodzącego z firmy Merck-Darmstadt, nitrylu kwasu β -indoliloctowego (IAN) oraz estru etylowego tego kwasu (EIA) syntetyzowanych przez dr Lesiaka w Katedrze Chemii Organicznej UMK w Toruniu. Prowadzono więc równoległe chromatogramy kontrolne zawierające dodatkowo alkoholowe roztwory tych substancji. Wywoływano je odczynnikami Salkowskiego. Kwas indoliloctowy wybarwiał się na kolor różowy, nitryl na zielonkawo a ester etylowy przyjmował zabarwienie brunatne.

W pracach technicznych udział wzięli: dr L. Michalski (chromatogramy syntetycznych substancji wzrostowych) oraz mgr F. Kurek (oznaczenie aktywności naturalnych regulatorów wzrostu).

WYNIKI

A. Analiza chromatograficzna regulatorów wzrostu w ekstraktach z roślin uprawianych w ciemności

Histogramy od 1 do 3 przedstawiają układ regulatorów wzrostu w ekstraktach z całych roślin kielkujących przez okres 1, 2 i 4 dni.

Histogram 1 wskazuje, że w ekstraktach nasion kontrolnych w pierwszym dniu od chwili zamoczenia zaznacza się wyraźny podział na dwie grupy związków. Jedna z nich o charakterze stymulatora leży w granicach R_f 0,3—0,5 i obejmuje swoim położeniem IAA. Druga grupa to inhibitory osiągające najwyższą aktywność w R_f 0,5—0,6 oraz 0,9—1,0.

Nasiona traktowane gibereliną charakteryzuje znaczne zwiększenie ilości substancji wzrostowych w porównaniu do nasion kontrolnych. Stymulatory układają się tu bowiem na całym chromatogramie, a największa aktywność przypada w R_f 0,4—0,5, 0,6—0,7 oraz w R_f 0,8—0,9 odpowiadającym położeniu IAN i EIA. Znamienym jest kompletny brak inhibitorów.

Histogram 2. Nasiona kontrolne w drugim dniu kielkowania charakteryzuje zarówno brak stymulatorów jak i inhibitorów wzrostu. U nasion poddanych działaniu gibereliny poziom substancji wzrostowych obniżył się również bardzo znacznie. Największą aktywność wykazuje tu stymulator położony w R_f 0,3—0,5. Pojawiają się także dwa wyraźne

inhibitory z których największą aktywność wykazuje inhibitor układający się w R_f 0,6—0,7.

Histogram 3 przedstawia układ stymulatorów i inhibitorów w ekstraktach z siewek czterodniowych.

U roślin kontrolnych obserwuje się wzrost ilości regulatorów wzrostu w stosunku do fazy poprzedniej, jednak aktywność ich jest niska. W R_f 0,2—0,6 układają się stymulatory wykazujące najwyższą aktywność w R_f 0,2—0,4 co odpowiada położeniu IAA. R_f od 0,8—0,9 zajmuje inhibitor.

U roślin traktowanych gibereliną układ stymulatorów i inhibitorów jest podobny do układu regulatorów wzrostu na histogramie uzyskanym dla ekstraktów z roślin kontrolnych. Wartości stymulatorów są tu jednak dwukrotnie wyższe.

Histogramy 4—7 obrazują aktywność regulatorów wzrostu w siewkach 6-cio i 8-mio dniowych oddzielnie w części nadziemnej (histogram 4—5) oraz w korzeniach (histogram 6—7). Charakterystyczny jest tu kompletny brak inhibitorów i to zarówno u roślin kontrolnych, jak również u poddanych działaniu gibereliny. Wśród stymulatorów występuje wszędzie kwas indoliloctowy.

Histogram 4. W częściach nadziemnych 6-dniowych siewek pszenicy kontrolnej wyróżnić można 3 strefy stymulatorów, z których najaktywniejszy odpowiada IAA. Dwa dalsze stymulatory zajmują położenie R_f 0,5—0,6 i 0,7—0,8. Pod wpływem gibereliny zawartość substancji wzrostowych wzrosła bardzo gwałtownie, przy czym stymulatory układają się wzdłuż całego histogramu.

Histogram 5. Ekstrakty części nadziemnych 8-dniowych roślin kontrolnych charakteryzuje w stosunku do kontrolnych siewek 6-cio dniowych wyższa zawartość stymulatorów wzrostu. Stymulatory te układają się w znacznym odcinku chromatogramu od R_f 0,2—0,7 oraz w R_f 0,8—0,9 odpowiadającym położeniu IAN i EIA. Podobnie jak w przypadku roślin 6-dniowych ilość substancji stymulujących wzrost wzrosła pod wpływem gibereliny bardzo znacznie i obejmuje cały chromatogram.

Histogram 6. W korzeniach 6-dniowych siewek kontrolnych zawartość stymulatorów wzrostu wzrasta stopniowo od R_f 0,2 osiągając maksimum w R_f 0,5—0,6, a następnie zminuje się, utrzymując się w granicach R_f 0,6—0,8, na jednakowym poziomie. Wpływ gibereliny zaznaczył się tu bardzo silnym wzrostem ilości stymulatorów, rozciągających się na cały chromatogram od linii startowej aż do jego czoła.

Histogram 7. Podobnie przedstawia się zawartość regulatorów wzrostu w korzeniach pszenic 8-dniowych. W ekstraktach z roślin kontrolnych analiza chromatograficzna wykazała obecność dwóch stref sty-

I

 H_2O

GA

Dni kielkowania
Days of germination

Rys. 1. Chromatograficzna i biologiczna analiza regulatorów wzrostu zawartych w ekstraktach z pszenicy kielkującej w ciemności (I) i na świetle (II; str. 204)
Oś rzędnych — przyrost odcinków koleoptili owsa w % w stosunku do kontroli; Oś odciętych — wartość R_f dla poszczególnych odcinków chromatogramu; H_2O — rośliny nie traktowane gibereliną; GA — rośliny traktowane gibereliną; Zaczernione partie diagramu oznaczają różnice istotne

Fig. 1. Chromatographic and biological analysis of growth regulators of extracts from wheat plants germinated in darkness (I) and in light (II; p. 204)

Ordinate — Elongation of coleoptile sections in p. c. in relation to control; Abscissa — The position of the paper segment on the chromatogram in R_f units; H_2O — plants untreated with gibberellin; GA — plants treated with gibberellin; Black areas of diagrams represent significant differences

Dni kielkowania
Days of germination

H₂O

I

GA

6

8

6

8

Łody - Shoots

Korzenie - Roots

II

Dni kielkowania
Days of germination H_2O

GA

Reg. - Shoots
Korzenie - Roots

mulujących, jednej odpowiadającej R_f 0,2—0,5 i drugiej o R_f 0,6—0,7. W wariancie tym giberelina wywołuje jeszcze wyższe podniesienie poziomu endogennych stymulatorów wzrostu aniżeli u roślin 6-dniowych.

B. Analiza chromatograficzna regulatorów wzrostu w ekstraktach z roślin uprawianych na świetle

W porównaniu do roślin etiolowanych, pszenice uprawiane na świetle zawierały znacznie mniej substancji stymulujących wzrost i to zarówno w częściach nadziemnych (histogram 8—9), jak i w korzeniach (histogram 10—11).

Histogram 8. W ekstraktach z części nadziemnych roślin będących w wieku 6-ciu dni, ilość substancji wzrostowych jest bardzo nieznaczna. Stymulatory układają się w R_f 0,2—0,5 i obejmują IAA. Pod wpływem gibereliny zawartość endogennych substancji wzrostowych nieznacznie wzrasta. Zarówno u roślin kontrolnych, jak i doświadczalnych nie stwierdzono obecności inhibitorów wzrostu.

Histogram 9. Rośliny 8-dniowe charakteryzuje nieco wyższy poziom substancji wzrostowych. W częściach nadziemnych pszenic kontrolnych obejmują one trzy strefy o R_f 0,1—0,2, 0,4—0,6 i 0,7—0,8. Pod wpływem gibereliny ilość stymulatorów wzrasta. Układają się one od linii startowej aż do $R_f = 0,6$. Podobnie jak w przypadku roślin 6-dniowych nie stwierdzono tu występowania związków wpływających na wzrost hamująco.

Histogram 10. W korzeniach roślin 6-dniowych obok stymulatorów układających się w R_f 0,1—0,2 oraz w R_f 0,4—0,7 obejmujących IAA, pojawia się w czole chromatogramu inhibitor wzrostu. Pod wpływem gibereliny obserwujemy tu niewielkie zwiększenie ilości stymulatorów obejmujących odcinek chromatogramu odpowiadający R_f 0,2—0,8. Ekstrakty tych korzeni charakteryzuje w przeciwieństwie do roślin kontrolnych kompletny brak inhibitorów.

Histogram 11. Stymulatory wzrostu w ekstraktach z korzeni 8-dniowych układają się bezpośrednio za linią startową w R_f 0,0—0,1 oraz w strefie odpowiadającej R_f 0,6—0,8. Podobnie jak u roślin 6-dniowych w czole chromatogramu występuje inhibitor, który u roślin poddanych działaniu gibereliny nie ujawnia się zupełnie. Zawartość endogennych substancji wzrostowych wzrasta tu pod wpływem gibereliny w wyższym stopniu niż u roślin 6-dniowych. Stymulatory te układają się na dużym odcinku chromatogramu o R_f 0,2—1,0 obejmującym IAA, IAN i EIA.

DYSKUSJA

Dane uzyskane w niniejszej pracy wskazują bardzo wyraźnie, że w miarę kiełkowania nasion pszenicy, poziom regulatorów wzrostu ulega zasadniczym zmianom. Zwraca przede wszystkim uwagę fakt, że największą aktywność osiągają substancje wzrostowe po pierwszym dniu kiełkowania. Stwierdzenie to zgodne jest z danymi uzyskanymi w eksperymentach z kukurydzą przez Cartwrighta i współpracowników (1956) oraz z wynikami Kentzer (1959), która wykazała tę prawidłowość w doświadczeniach z pszenicą tej samej odmiany — „Leszczyńska Wczesna”. Ta znaczna aktywność substancji wzrostowych w początkowej fazie kiełkowania wiąże się zapewne z bardzo intensywną

w tym okresie działalnością enzymatyczną (Kozmina i Krietowicz 1953).

Przedstawione tu wyniki wskazują dalej, że w porównaniu do pszenic kontrolnych, rośliny poddane działaniu gibereliny charakteryzuje wyższy poziom substancji wzrostowych. Stwierdzenie to jest więc zgodne z wynikami Nitscha (1957), Bouillenne-Walrand (1958, 1959) oraz Phillipsa i współpracowników (1959), którzy u roślin potraktowanych gibereliną wykazali zwiększenie zawartości auksyny.

Zwraca również uwagę fakt, że u roślin potraktowanych gibereliną inhibitory wzrostu pojawiają się później aniżeli u roślin kontrolnych.

Z histogramów przedstawionych wyżej, widać jednak, że pod wpływem gibereliny dochodzi do zwiększenia poziomu nie tylko kwasu indoliloctowego, lecz także nitrylu i estru etylowego tego kwasu oraz innych nie zidentyfikowanych stymulatorów wzrostu. Pojawiają się także substancje wzrostowe nie występujące zupełnie u roślin kontrolnych. Zjawisko to widać zwłaszcza wyraźnie u roślin 6- i 8-dniowych uprawianych w ciemności.

Analizując poszczególne histogramy stwierdzamy także, że wśród substancji wzrostowych, których aktywność wzrasta pod wpływem gibereliny, kwas indoliloctowy nie był związkiem uaktywniającym się pod wpływem tego preparatu w najwyższym stopniu. Szczególnie wyraźnie zjawisko to występuje w pierwszych dniach kiełkowania, a także u roślin 6- i 8-dniowych uprawianych na świetle. Wpływ gibereliny na poziom kwasu indoliloctowego jest tu w porównaniu do innych substancji wzrostowych stosunkowo nieznaczny.

Przedstawione powyżej fakty zmuszają więc do krytycznego ustosunkowania się do wyników tych autorów, którzy wykazali dodatni wpływ gibereliny jedynie na zwiększenie poziomu auksyny (Nitsch 1957, Bouillenne-Walrand 1958, 1959). Krytyczne uwagi nasuwają się również odnośnie do hipotez tłumaczących mechanizm działania gibereliny zabezpieczeniem auksyny przed inaktywującym wpływem oksydazy kwasu indoliloctowego (Pilet 1957, Stutz i Watanabe 1957, Galston 1958, Pilet i Wulglar 1958) czy specjalnych inhibitorów działających na auksynę (Brian i Hemming 1958, Galston i Warburg 1959, Watanabe i Stutz 1960).

Wpływ, jaki wywiera giberelina na poziom endogennych regulatorów wzrostu, jest bardziej wielostronny i nie ogranicza się tylko do oddziaływania na auksynę, lecz także na inne jeszcze substancje natury hormonalnej. Mechanizm działania tego preparatu jest z pewnością bardziej złożony i łączy się zapewne z przebiegiem procesów enzymatycznych warunkujących przemiany naturalnych regulatorów wzrostu oraz ich uwolnienie z kompleksu białkowego.

Prawdopodobne jest również, że spotykamy tu zjawisko synergicznego współdziałania wprowadzonej z zewnątrz gibereliny z endogennymi regulatorami wzrostu, które prowadzi w rezultacie do zwiększenia aktywności wzrostowej ekstraktów roślinnych.

Za koncepcją taką przemawiałby fakt, że wpływ gibereliny, ujawniający się zwiększeniem poziomu endogennych substancji wzrostowych, zaznaczył się w znacznie silniejszym stopniu u roślin etiolowanych, aniżeli u pszenic uprawianych na świetle, u których wprowadzany z zewnątrz preparat mógł ulec łatwo procesowi inaktywacji.

Pogląd taki byłby zgodny z przypuszczeniem wysuniętym przez Briana i Hemminga (1958), że giberelina łączy się z auksyną w bardziej aktywną substancję wzrostową. Potwierdzałoby to także koncepcję Phillipsa i współpracowników (1959), według których pod wpływem kwasu giberelinowego powstaje odrębny związek charakteryzujący się jednocześnie właściwościami gibereliny, jak i auksyny.

Inaktywującym działaniem światła należy zapewne tłumaczyć również fakt, że poziom substancji wzrostowych u roślin uprawianych na świetle był niższy aniżeli u pszenic uprawianych w ciemności.

WNIOSKI

Na podstawie uzyskanych wyników można sformułować następujące wnioski.

W miarę kiełkowania nasion pszenicy poziom regulatorów wzrostu ulega zasadniczym zmianom. Najwyższą aktywnością substancji wzrostowych odznaczają się rośliny po pierwszym dniu kiełkowania.

Rośliny poddane działaniu gibereliny charakteryzuje wyższy poziom kwasu β -indoliloctowego, nitrylu i estru etylowego tego kwasu oraz innych bliżej nie zidentyfikowanych stymulatorów wzrostu. Prawidłowość ta odnosi się zarówno do części nadziemnych jak i do korzeni.

Inhibitory wzrostu pojawiają się u tych roślin później aniżeli u pszenic nie traktowanych gibereliną.

Wpływ gibereliny ujawniający się zwiększeniem poziomu endogennych substancji wzrostowych zaznaczył się w znacznie wyższym stopniu u pszenic etiolowanych, aniżeli u roślin uprawianych na świetle.

W porównaniu do roślin rosnących w ciemności, pszenice te charakteryzowała mniejsza zawartość substancji wzrostowych.

SUMMARY

In this work the influence of gibberellic acid (GA) on the level of endogenous growth regulators of Leszczyńska Wczesna variety winter wheat in the period of germination and early growth has been examined.

Before sowing the seeds were soaked for 24 hours in darkness at 20° C in 0.005 p.c. GA water solution. Afterwards the kernels were germinated in the same temperature, part in darkness and part in light.

The plant growth regulators were determined after 1st, 2nd, 4rd, 6th and 8th day after soaking. The analyses of plants 6 and 8 days old were made in shoots and in roots separately. The material was first frozen at -12° C then ground and extracted with anhydrous ethyl alcohol. The extracts were tested by descending chromatography on Whatman № 1 paper using isopropyl alcohol, ammonia and water in the ratio 10 : 1 : 1 (v/v). The paper chromatograms were cut into ten strips 2 cm length each. The chromatogram strips were eluted with 1 ml 2 p.c. sucrose for 12 hours in a test-tube klinostat. The activity of the eluates was examined by Bonners Avena coleoptile section test. As test material were used the coleoptiles of Victory oats (Svalöf). Control chromatograms of synthetic indole-3-acetic acid (IAA), indole-3-acetonitrile (IAN) and ethylindole acetate (IAE) detectioned with the Salkowski reagent were also examined.

The results of these experiments show considerable changes in the level of growth regulators during the seeds germination and early growth. The highest activity of growth substances was obtained after the first day of germination.

As a result of gibberellic treatment the rise of endogenous IAA, IAN, IAE and other undefined growth substances was obtained. It related a rule to the shoots and roots.

In comparision with control wheat the appearance of growth inhibitors in plants treated with gibberellin took place in a later period of germination.

The effect of GA on the level of endogenous growth regulators was manifested more markedly in etiolated plants than in wheat grown in light.

Plants cultivated in darkness contained more growth substances than wheats germinated in light.

*Department of Plant Physiology
Copernicus University
Toruń, Poland*

LITERATURA

1. Bergmann L., 1958, Der Einfluss von Gibberellin auf das Wachstum von Gewebekulturen des Gallus, *Planta*, 51(1): 70.
2. Bouillenne-Walrand M., 1958, Les gibbérellines, facteurs auxiniques chez les plantes supérieures, *Bull. Soc. roy. sci. Liège* 27(9—10): 226.
3. Bouillenne-Walrand M., 1959, Les gibberellines facteurs de croissance chez les végétaux supérieurs, *Bull. Soc. roy. sci. Liège* 28(1—2): 21.
4. Brian P. W., 1959, Effects of gibberellins on plant growth and development, *Biol. Rev.* 31(1): 37.
5. Brian P. W., Hemming H. G., 1958, Complementary action of gibberellic acid and auxins in pea internode extension, *Ann. Bot.* 22: 1.
6. Cartwright P. M., Sykes J. T., Wain R. L., 1956, The distribution of natural hormones in germinating seeds and seedling plants, *The Chemistry and Mode of Action of Plant Growth Substances*, London: 32.
7. Corcoran M. R., Phinney B. O., 1958, An inhibitor of gibberellin induced growth, *Plant Physiol.* 33, suppl. XL.
8. Galston A. W., 1958, Gibberellin transport as a basis for gibberellin auxin synergism, *Plant Physiol.* 33, suppl. XXXIX.
9. Galston A. W., Warburg H., 1959, An analysis of auxin-gibberellin interaction in pea stem tissue, *Plant Physiol.* 34: 16.
10. Hayashi T., Matsunaka S., 1956, Biochemical studies on bakanae fungus. Part. 36. The physiological actions of gibberellin. VIII. Changes in the activities of various enzymes in leaf-sheaths of rice plants treated with gibberellin, *Bull. Agric. Chem. Soc. Japan* 20: 159 (Wg Purves i Hillmann 1959).
11. Hayashi T., Murakami I., 1958, The relationship between gibberellin and indoleacetic acid. *Proc. of First Sympos. on Gibber. Res. in Japan*. Japan. Gibber. Res. Assoc. Tokyo (Wg Purves i Hillman 1959).
12. Kato J., Katsumi M., 1958, Effect of gibberellins on IAA-oxidase, *Naturwiss.* 45: 344.
13. Kawarada A., Sumiki Y., 1959, The occurrence of gibberellin A₁ in water sprouts of citrus, *Bull. Agric. Chem. Soc. Japan*, 23(4): 343 (Wg Ref. Żurn., 1960, 24: 119).
14. Kentzer T., 1959, Dynamika regulatorów wzrostu w procesie jaryzacji pszenicy ozimej Leszczyńska Wczesna. I. Zawartość substancji wzrostowych w różnych etapach jaryzacji nasion, *Acta Agrobot.* 8: 151.
15. Koźmina N. P., Krietowicz W. L., 1953. *Biochemia ziarna zbóż i jego przetworów*, P.W.T., Warszawa.
16. Margara M., Morel G., 1960, Mise en évidence d'une substance du type gibberelline chez plusieurs espèces du genre Beta, *C. r. Acad. sci.*, 250(4): 749. (Wg Ref. Żurn. 1960, 23:144).
17. McCune, D. C., Galston A. W., 1959, Inverse effects of gibberellin on peroxidase activity and growth in dwarf strains of peas and corn, *Plant Physiol.* 34: 416.
18. McMillan J., Suter P. J., 1958, The occurrence of gibberellin A₁ in higher plants: Isolation from the seed of runner bean (*Phaseolus multiflorus*), *Naturwiss.* 45(2): 46.

19. Michniewicz M., 1959, Znaczenie badań nad giberelinami dla wyjaśnienia procesów prowadzących do zakwitania, Wiad. Bot. 4: 191.
20. Michniewicz M., 1960, Wpływ auksyny i gibereliny na zawartość kwasu askorbinowego w okresie kielkowania i wschodów pszenicy, Zesz. Nauk. UMK Toruń, Nauki Mat. Przyr. 6: 103.
21. Michniewicz M., 1961, Wpływ auksyn i gibereliny na intensywność transpiracji pomidorów, Acta Soc. Bot. Pol. 30(1): 133.
22. Michniewicz M., Michalski L., 1960, Zmiany zawartości regulatorów wzrostu roślin w liściach i organach reproduktywnych rzodkiewki (*Raphanus sativus* L.) w różnych fazach jej rozwoju, Acta Agrobot. 9(2): 99.
23. Murakami Y., 1957, The effect of extract of immature bean seeds on the growth of coleoptile and leaf on rice plants, Bot. Mag. Tokyo, 70: 376. (Ref. Żurn. 1959, 11: 145).
24. Nitsch J. P., 1957, Growth responses of woody plants to photoperiodic stimuli, Proc. Am. Soc. Hort. Sci 70: 512.
25. Ogawa Y., Imamura S. H., 1958, Ueber die fördernde Wirkung von Samendifusat auf die Blütenbildung von *Pharbitis nil.*, Chois. Proc. Jap. Acad. 34(9): 631 (Wg Plant Science 35, 5: 1242).
26. Phillips I. D. J., Vlitos A. J., Cutler H., 1959, The influence of gibberellic acid upon the endogenous growth substances of the Alaska pea, Contrib. Boyce Thompson Inst. 20(2): 111.
27. Phinney B. O., Neely P. M., 1958, Differential biological properties of gibberellin — like factors isolated from beans and peas, Plant Physiol., 33, suppl.: XXXVIII.
28. Pilet P. E., 1957, Action des gibberellines sur l'activité auxines-oxydasique de tissus cultivés in vitro, Compt. rend. acad. sci. Paris, 245: 1327.
29. Pilet P. E., Wurgler W., 1958, Action des gibberellines sur la croissance et l'activité auxines-oxydasique du *Trifolium ochroleucum* Hudson., Ber. Schweiz. Bot. Gesel. 68: 54. (Wg Ref. Żurn. 1960, 13: 129).
30. Purves W. K., Hillman W. S., 1959, Experimental separation of gibberellin auxin actions in etiolated pea epicotyl sections, Physiol. Plant. 12: 786.
31. Radley M., 1956, Occurence of substances similar to gibberellic acid in higher plants, Nature 178, 4541: 1070.
32. Ritzel M. B., 1957, The distribution and time of occurrence of gibberellin-like substances from flowering plants, Plant Physiol 32, suppl.: XXX.
33. Simpson G. M., 1958, A colorimetric test from gibberellic acid and evidence from a dwarf pea assay for the occurrence of a gibberellin-like substance in wheat seedlings, Nature 182, 4634: 528.
34. Stutz R. E., Watanabe R., 1957, The gibberellins II. The effect of gibberellic acid and photoperiod on indoleacetic acid oxidase in *Lupinus albus* L., Argonne Nation Lab. Biol. a. Med. Res. Div. Semiann. Rep. Jap.-June: 107 (Wg Purves i Hillman 1959).
35. Tsukamoto Y., Sano Y., 1958, Izuczenieje pierioda pokoja klubniej kartofla I. Swiaz miezdu obrabotkoj gibberellinom i izmienieniem sodzierzanija rostowych wiszcziestw (po jap.) Res. Inst. Food. Sci. Kyoto Univ., 21: 39 (Wg Ref. Żurn. 1960, 6: 140).
36. Vlitos A. I., Meudt W., 1957a, Relationship between shoot apex and effect of gibberellic acid on elongation of pea stems, Nature 180: 284.

37. Vlitos A. I., Meudt W., 1957b, Interaction between gibberellic acid and the shoot apex of Alaska pea seedlings, *Plant Physiol.* 32, suppl.: XLVII.
38. Watanabe R., Stutz R. E., 1960, Effect of gibberellic acid and photoperiod on indoleacetic acid oxidase in *Lupinus albus L.*, *Plant Physiol.* 35, 3: 359.
39. West C. A., Phinney D., 1956, Biochemical mutants in maize: Dwarfism and its reversal with gibberellins, *Plant Physiol.* 31, suppl.: XX.
40. West C. A., Murashige K. H., 1958, The isolation of gibberellin A₁ from beans and chemical properties of other gibberellin-like factors from beans and peas, *Plant Physiol.* 34 suppl.: XXXVIII.