

Przydatność niektórych sałat głowiastych jako materiału testowego
do oznaczania giberelin i substancji giberelinopodobnych

The usefulness of certain cabbage lettuces in bioassays for the determination
of gibberellins and gibberellins-like substances

L. MICHALSKI

WSTĘP

Wśród metod jakościowych, służących do określania giberelin i substancji giberelinopodobnych w ekstraktach z materiału roślinnego, na szczególną uwagę zasługują metody biologiczne oparte na specyficznym wzroście wydłużeniowym roślin testowych pod wpływem tych związków.

W teście biologicznym wygodne jest do masowego stosowania użycie całych roślin. Jak podaje literatura (Knapp 1963), do tego celu służyć mogą: siewki karłowatych mutantów *Zea mays*, karłowatych odmian *Pisum sativum*, karłowatego mutantu „Kidachi” — powoju japońskiego *Pharbitis nil.*, siewki *Oriza sativa*, *Perilla ocymoides*, *Cucumis sativus*, *Phaseolus vulgaris*, a także siewki *Lactuca sativa*. Niedostępność niektórych z tych roślin dla naszych pracowni, zwłaszcza mutantów karłowatych, ogranicza bardzo możliwości badawcze.

Wśród wymienionych roślin testowych na uwagę zasługuje sałata. Reakcja sałaty na giberelinę była przedmiotem wielu badań (Bukovac 1958; Krekule i Ullmann 1959; Kahn 1960; Ikuma i Thimann 1960, 1963; Wittwer 1962; Raspierin 1964). W nasionach, jak i roślinach rozwiniętych, stwierdzono występowanie substancji giberelinopodobnych (Poljakoff-Mayer i Blumenthal-Goldschmidt 1957; Phinney i West 1960; Blumenthal-Goldschmidt i Lang 1960; Wheeler 1962).

Frankland i Wareing (1960) pierwsi zastosowali siewki sałaty jako materiał testowy do oznaczania giberelin. Najczęściej do testów używaną w pracowniach anglosaskich odmianą sałaty jest *Lactuca sativa* L. var. *foliosa* L. ‘Grand Rapid’ (Frankland i Wareing 1960; Cross i współprac. 1962; Stoddart 1965). W pracowniach czechosłowackich stosuje się odmianę

głowiastą inspektową 'Stupický Kamenáč' (Krekule i Teltscherová 1963). Badacze polscy pracują z sałatą inspektową 'Królowa Majowych' (Adamiec i współprac. 1962).

Adamiec i współprac. (1962) podają, że różne odmiany sałaty w tych samych warunkach doświadczalnych zachowują się w sposób zasadniczo różny. Wszystkie sałaty są wprawdzie wrażliwe na gibereliny, lecz przyrost liniowy hypokotylu, co jest najistotniejsze w teście, jest dla poszczególnych odmian bardziej lub mniej zróżnicowany. Zdaniem ich, najlepsze właściwości wzrostowe hypokotyłu pod wpływem giberelin wykazują siewki odmiany głowiastej inspektowej 'Królowa Majowych'. Obserwuje się również przyrost powierzchni liścieni sałaty oraz charakterystyczne dla działania gibereliny objawy chlorozy.

Niezadowolające wyniki doświadczeń własnych z sałatą inspektową 'Królowa Majowych', brak szczegółowych danych dotyczących reakcji poszczególnych sałat na giberelinę, jak również niedostępność w kraju odmiany listkowej 'Grand Rapid', skłoniły mnie do przebadania w warunkach testu Franklanda i Wareinga szeregu sałat głowiastych uprawianych w kraju.

METODY

Materiałem doświadczalnym były sałaty odmiany głowiastej (*Lactuca sativa* var. *capitata* L.) oferowane w sezonie 1963–64 przez handel nasienny CNOS.

Z długodniowych sałat, do uprawy pod szkłem, badano: sałatę zimową 'Nansena' oraz wiosenne inspektowe – 'Boettnera', 'Bronowicką', 'Królową Majowych' i 'Brillant'. Z gruntowych, fotoperiodycznie obojętnych sałat, przebadano: 'Rakowiecką', 'Królową Majowych', 'Rheingold', 'Meisterstück', 'As 44', 'Bauceńską', 'Cud', 'Vorbürgu', 'Nochowską' i 'Dippego'. Do badań porównawczych wzięto sałatę czechosłowacką 'Stupický Kamenáč' oraz amerykańską odmianę światłolubną *Lactuca L. sativa* var. *foliosa* L. 'Grand Rapid'*.

Doświadczenia przeprowadzono metodą Franklanda i Wareinga (1960). Nasiona sałaty wysiewano na wilgotną bibułę w szalkach Petriego i kiełkowano przez 48 godz. w termostacie w temp. 25°C. Siewki sałaty o hypokotyłu długości 3 mm przekładano na szalki Petriego o średnicy 6 cm, wyłożone bibułą zwilżoną 2 ml wodnego roztworu Gibreskołu prod. Kutnowskich Zakładów Farmaceutycznych. Stosowano następujące stężenia preparatu: 10⁻¹⁰, 10⁻⁹, 10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶ g GA w ml roztworu. Jako kontrolę użyto wodę. Szalki umieszczano w płytce, o 15 cm wysokości, komorze ze stałym oświetleniem jarzeniowym, złożonym z 2 białych 40 W świetlówek typu RF × b. Przestrzegano, aby temperatura w komorze w czasie doświadczeń nie przekraczała 25°C.

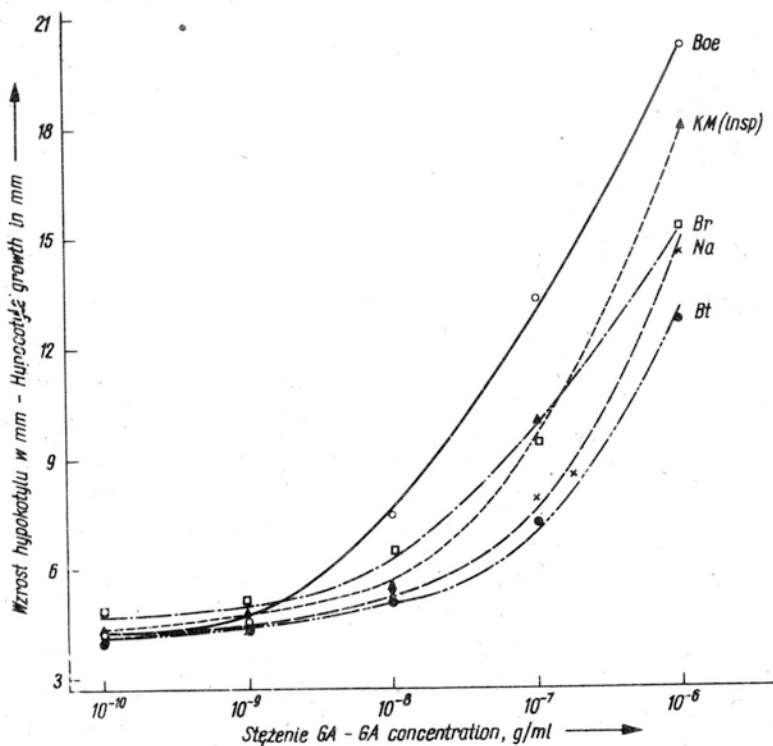
*Nasiona otrzymano dzięki uprzejmości Węgierskiego Państwowego Instytutu Agrobotaniki – Tápiószele.

Liniowy przyrost hypokotyli i liścieni sałaty mierzono po upływie 96 godz. Pomiar liścieni dokonywano po uprzednim powiększeniu ich w rzutniku fotograficznym. Zmiany kształtu liścieni porównywano stosując metodę graficzną Jentys-Szaferowej (1959). Poziom chlorofilu w liścieniach analizowano wg metody Smitha i Beniteza (1955). Wyniki pomiarów poddano analizie statystycznej.

WYNIKI I DYSKUSJA

W wyniku przeprowadzonych doświadczeń stwierdzono, że giberelina silnie stymuluje wzrost hypokotyli, wpływa na kształt i wielkość liścieni sałaty, powoduje ich chlorozę.

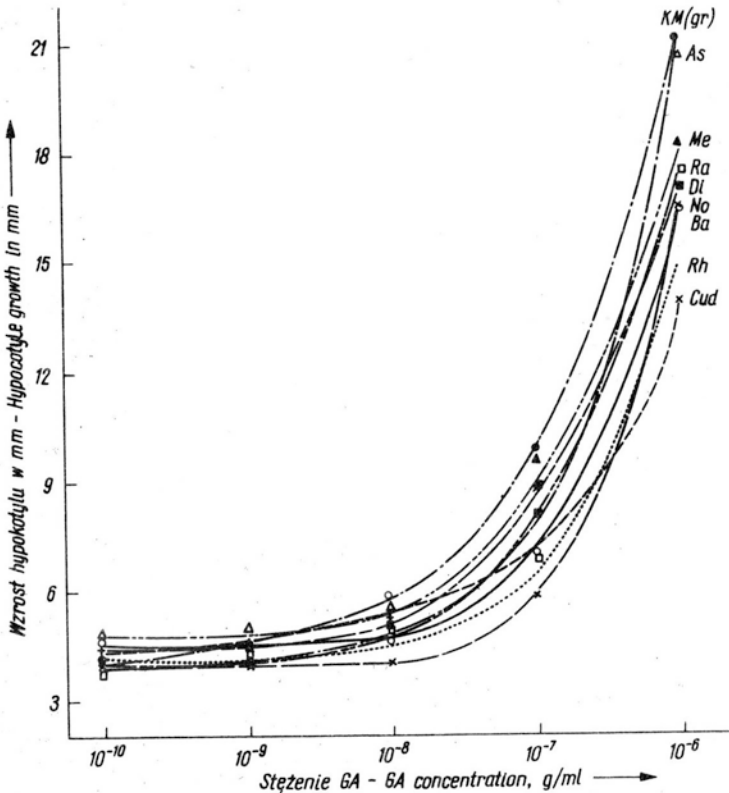
Wzrost hypokotyli długodniowych, inspektowych sałat wskazuje na wysoką wartość sałaty 'Boettnera' (ryc. 1). Najniższe stosowane stężenie



Ryc. 1. Wpływ kwasu giberelinowego na wzrost hypokotyli sałat długodniowych
Effect of gibberellic acid on the growth of the hypocotyle in long-day lettuce.

Boe - Boettnera', KM(insp.) - 'Królowa Majowych' (inspektowa - hotbedded), Br - 'Bronowicka', Na - 'Nansen's', Bt - 'Brillant'

Gibreskolu dające statystycznie istotny przyrost hypocotyłu odpowiada 10^{-9} g GA/ml. Pozostałe sałaty długodniowe odznaczają się nieco mniejszą wrażliwością na kwas giberelinowy. Dla uzyskania tych samych efektów wzrostowych hypocotyłu, sałaty: 'Królowa Majowych' (insp.) i 'Bronowicka' wymagają 5-krotnie wyższych stężeń preparatu niż 'Boettnera', natomiast 'Nansenowska' zimowa i 'Brillant' stężeń 10-krotnie wyższych.



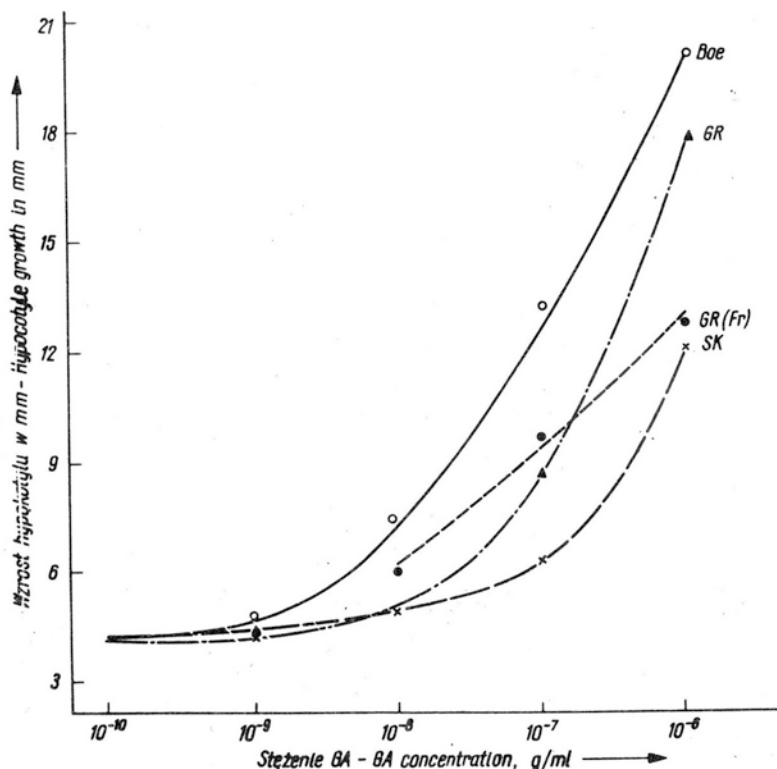
Ryc. 2. Wpływ kwasu giberelinowego na wzrost hypocotyłu sałat fotoperiodycznie obojętnych

Effect of gibberellic acid on the growth of the hypocotyle in lettuce under neutral photoperiodic conditions.

KM(gr.) - 'Królowa Majowych' (gruntowa - ground pl.), As - 'As 44', Me - 'Meisterstück', Ra - 'Rakowiecka', Di - 'Dippe', No - 'Nochowska', Ba - 'Bauceńska', Rh - 'Rheingold', Cud - 'Cud Vorburgu'

Bardzo istotną cechą przydatności sałaty, jako materiału testowego do oznaczania giberelin i substancji giberelinopodobnych, jest stopień zróżnicowania reakcji wzrostowej w zależności od różnicy stężeń stosowanego prepa-

ratu. Wartość sałaty 'Boettnera' zaznacza się tu w sposób zdecydowany, daje ona bowiem przyrost hypokotyłu sięgający 65% w granicach stężeń 10^{-9} - 10^{-8} g GA/ml i około 200% wzrostu w zakresie 10^{-8} - 10^{-7} g GA/ml. Powyżej stężenia 10^{-7} g GA/ml przyrost hypokotyłu jest jeszcze większy. Najlepsze z pozostałych sałat: 'Królowa Majowych' (insp.) i 'Bronowicka' dają jedynie około 30% wzrostu hypokotyłu, a w wyższym stężeniu 110%.



Ryc. 3. Wpływ kwasu giberelinowego na wzrost hypokotyłu różnych odmian sałaty
Effect of gibberellic acid on the growth of the hypocotyl in different varieties of lettuce.
Boe - 'Boettnera', GP - 'Grand Rapid', GR(Fr.) - 'Grand Rapid' (wg Franklanda), SK - 'Stupický Kamenáč'

Efekty wzrostowe sałat gruntowych - fotoperiodycznie obojętnych w stosowanych stężeniach GA - są znacznie niższe w porównaniu z sałatą 'Boettnera' (ryc. 2). Reagują one w sposób widoczny dopiero na stężenia preparatu od 10^{-8} g GA/ml, a wzrost ich jest podobny do wzrostu najmniej reagujących sałat długodniowych 'Nansena' i 'Brillant'.

Porównanie reakcji wzrostowej sałaty 'Boettnera' z reakcją odmian stosowanych przez innych badaczy (Frankland i Wareing 1960; Adamiec i współprac. 1962; Krekule i Teltscherová 1963) również wykazuje znaczną jej wartość (ryc. 3). Jak wynika z badań, sałata 'Boettnera' znacznie intensywniej reaguje na stosowane stężenia GA aniżeli popularna w pracowniach anglosaskich *Lactuca sativa* L. var. *foliosa* L. 'Grand Rapid' czy też var. *capitata* 'Stupický Kamenáč'.

Sałata jest typową rośliną dnia długiego, jednak poszczególne odmiany rozmaicie reagują na długość dnia. Na podstawie reakcji fotoperiodycznej Bremer (1962) dzieli sałaty na dwie wyraźne grupy, a mianowicie na: sałaty dnia długiego do których zalicza odmiany hodowlane wczesnowiosenne do uprawy pod szkłem, oraz sałaty letnie – gruntowe fotoperiodycznie obojętne. Wybijanie pędów kwiatowych u sałat długodniowych jest opóźniane w warunkach dnia krótkiego natomiast u sałat letnich długość dnia nie wpływa na wyrastanie pędu kwiatowego przed pełnym uformowaniem się główki lub rozety. Silna reakcja sałat na kwas giberelinowy jest typowa dla roślin dnia długiego, które reagują na ten związek, nawet w warunkach fotoperiodycznie niesprzyjających, charakterystycznym wystrzelaniem pędu kwiatowego prowadzącym w rezultacie do przejścia z fazy wegetacyjnej do fazy generatywnej.

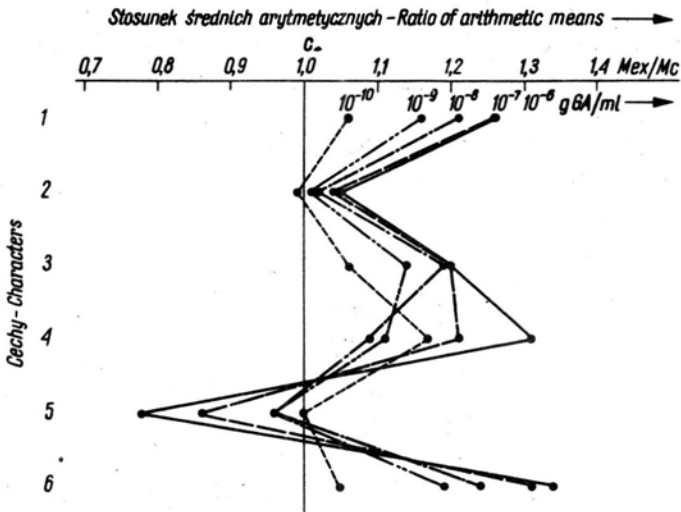
Poczynione w pracy niniejszej obserwacje w pełni znajdują potwierdzenie w literaturze. Jak podaje wielu autorów, giberelina silnie stymuluje wzrost hypokotylu sałaty (Brian i Grove 1957; Kentzer 1960; Wittwer i Bukovac 1962). Wzrost ten jest jednak zróżnicowany dla poszczególnych sałat (Adamiec i współprac. 1962). Tę silną stymulację wzrostową sałaty można również wykorzystać do celów praktycznych – dla przyspieszenia procesów rozwojowych rośliny (Bukovac 1958; Harrington 1960; Gillot i Philouze 1962; Raspierin 1964).

Zmianę kształtu i wielkości liścieni siewek sałaty, pod wpływem stosowanych stężeń Gibreskolu, obserwowano na sałacie 'Boettnera'. Dla dokładności, po uprzednim 14-krotnym powiększeniu liścieni przy pomocy powiększalnika optycznego, dokonywano pomiarów długości, szerokości, położenia najszerszej części liścienia od podstawy, jak i kąta podstawy. Z danych tych obliczono dalsze parametry zmienności kształtu liścieni dla poszczególnych stężeń kwasu giberelinowego, np.: stosunek długości do szerokości liścienia, położenie najszerszej części liścienia w % długości i powierzchnię liścieni. Dla porównania zmian, cechy wielkości i cechy kształtu przedstawiono na wykresie w postaci stosunku średnich arytmetycznych (ryc. 4). Jednostką porównawczą dla zmienności cech obiektów doświadczalnych były cechy liścieni roślin kontrolnych ($M_c = 1,0$). Pięć linii łamanych obrazuje różnice kształtu i wielkości liścieni pod wpływem działania stosowanych stężeń GA. Stwierdzić możemy, że preparat w zależności od stężenia wpływa w zasadniczym stopniu na długość liścieni, na stosunek długości do szerokości (cecha 3), na wyraźne wydłużenie się liścieni od podstawy (cecha 4),

na kąt podstawy i na powierzchnię liścienia, przy jednoczesnym minimalnym wpływie na jego szerokość (cecha 2). Wzrost długości blaszki liścieniowej, przy minimalnym wzroście szerokości, wpływa na kąt podstawy. Wpływ kwasu giberelinowego na kąt podstawy liścienia możemy ująć w następującą formułę:

$$M_{ex} (10^{-9} - 10^{-7} \text{ g GA/ml}) < \angle 60^\circ < M_c (H_2O)$$

traktowane GA < $\angle 60^\circ$ < kontrola



Ryc. 4. Porównanie zmian kształtu liścienia sałaty 'Boettnera' pod wpływem kwasu giberelinowego

Cechy: 1 – długość liścienia, 2 – szerokość liścienia, 3 – stosunek długości do szerokości liścienia, 4 – położenie najszerszej części liścienia w %% długości, 5 – kąt podstawy liścienia, 6 – powierzchnia liścienia

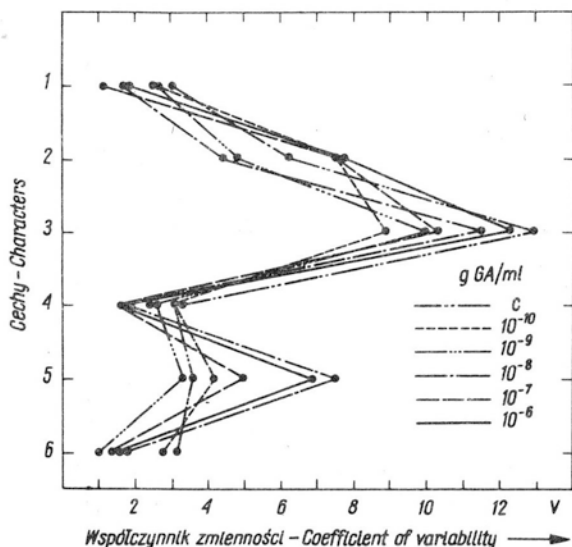
Comparison of changes in the shape of cotyledons in Boettner's lettuce seedlings under the influence of gibberellic acid.

Characters: 1 – length of cotyledons, 2 – width of cotyledons, 3 – ratio of length to width of cotyledons, 4 – position of widest part of cotyledons expressed in %% of cotyledon length, 5 – angle of cotyledon base, 6 – surface area of cotyledons.

Na ryc. 5 mamy zestawione współczynniki zmienności liścienia reagującego na stosowane stężenia kwasu giberelinowego. Z wykresu wynika, że największą zmienność wykazuje cecha 3, stosunek długości do szerokości liścienia. Następną cechą o dużym współczynniku zmienności jest kąt podstawy liścienia (cecha 5). Najmniejszą zmienność wykazuje długość liścienia (cecha 1) oraz cecha 4 dotycząca położenia najszerszej części liścienia w %% długości.

Według obserwacji cytowanych w literaturze wiele roślin reaguje na kwas giberelinowy szybkim wzrostem powierzchni liści (Marth i współprac. 1956).

Nie jest to jednak regułą, ponieważ stosowanie GA na groch karłowaty – typową roślinę testową na gibereliny – nie powoduje wzrostu jej liści (Lockhart 1956). Wpływ kwasu giberelinowego na zmianę kształtu i powierzchni liści sałaty jest niezaprzeczalny. Według Kentzerowej (1960), zarówno ogonki, jak i blaszki liściowe ulegają znacznemu wydłużeniu, przybierając



Ryc. 5. Współczynniki zmienności liścieni sałaty 'Boettnera' pod wpływem kwasu giberelinowego

Cechy: 1 – długość liścieni, 2 – szerokość liścieni, 3 – stosunek długości do szerokości liścieni, 4 – położenie najszerszej części liścienia w % długości, 5 – kąt podstawy liścieni, 6 – powierzchnia liścieni

Coefficient of variability of cotyledons in Boettner's lettuce seedlings under the influence of gibberellic acid.

Characters: 1 – length of cotyledons, 2 – width of cotyledons, 3 – ratio of length to width of cotyledons, 4 – position of widest part of cotyledons expressed in % of cotyledon length, 5 – angle of cotyledon base, 6 – surface area of cotyledons.

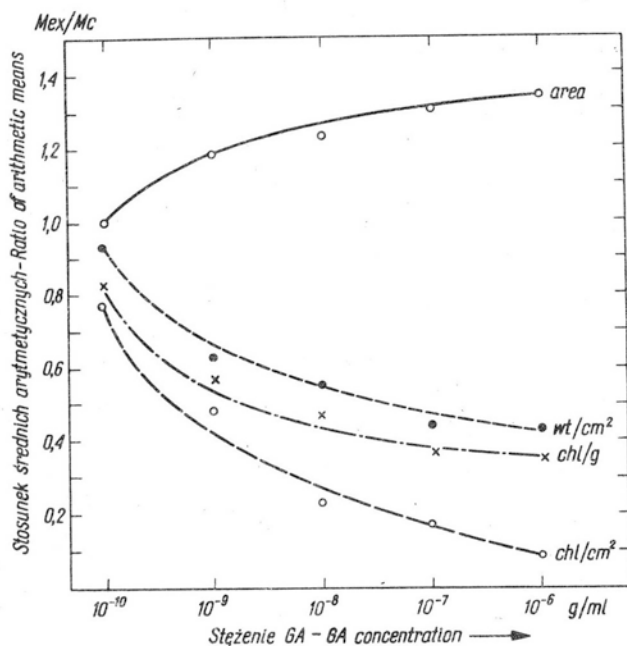
kształt lancetowaty. Intensywność tych zmian uzależniona jest w dużym stopniu od dawek gibereliny. Jednak autorka przypuszcza, że wpływ giberelin na morfologię rośliny i jej organów nie należy do typowych własności tych związków. Powyższych poglądów nie można stosować w odniesieniu do liścieni sałaty ponieważ, według obserwacji Adamca i współprac. (1962), jak i wyników niniejszych doświadczeń, stosowane stężenia kwasu giberelinowego w stopniu dostatecznie przekonywającym wpływają na zmianę kształtu i wielkości tych organów.

Obniżanie się poziomu chlorofilu. Liścienie siewek sałaty 'Boettnera' traktowane kwasem giberelinowym już w stężeniu 10^{-9} - 10^{-8} g

GA/ml wykazywały objawy chlorozy. Poziom chlorofilu (a+b) w tych organach analizowano spektrofotometrycznie stosując równanie Smitha i Beniteza (1955):

$$\text{Chl.}_{a+b} = 7,53 A_{662} + 15,39 A_{644}$$

Wyniki analiz (ryc. 6) wskazują na stopniowy spadek poziomu chlorofilu w badanym materiale. W miarę wzrostu stężenia preparatu powierzchnia liścieni zwiększa się przy równoczesnym spadku ich wagi. Liścienie stając się większe, jednocześnie wiotczeją i tracą swą intensywną barwę zieloną. Wiąże się to ze spadkiem poziomu chlorofilu i jego rozproszeniem na zwiększającej się powierzchni liścieni.



Ryc. 6. Wpływ kwasu giberelinowego na wzrost powierzchni liścieni i zawartość chlorofilu w siewkach sałaty Boettnera

area – powierzchnia liścieni, *wt./cm²* – ciężar *cm²* liścienia, *chl./g* – zawartość chlorofilu w g liścieni, *chl./cm²* – zawartość chlorofilu w *cm²* liścienia

Effect of gibberellic acid on the growth area of the cotyledon and on the content of chlorophyll in Boettner's lettuce seedlings.

area – surface area of cotyledons, *wt./cm²* – weight *cm²* area of cotyledon, *chl./g* – chlorophyll content per gram of cotyledon, *chl./cm²* – chlorophyll content per *cm²* of cotyledon surface.

Zastanawiając się nad przyczynami spadku poziomu chlorofilu w materiale testowym należy przypuszczać, że synteza chlorofilu w materiale potraktowanym kwasem giberelinowym zostaje zahamowana.

Zjawisko chlorozy liści pod wpływem działania giberelin jest podawane przez wielu autorów: (Stowe i Yamaki 1956; Wolf i Haber 1960; Laborie 1963 a, i inni), ale natura jego na razie nie została dostatecznie poznana. Przypuszcza się, że GA wpływa hamująco na biosyntezę chlorofilu (Szestak i Ullmann 1960), czy też obserwowana chloroza jest efektem znacznego rozproszenia chloroplastów w zwiększonej powierzchni blaszki liściowej (Bishop i Wittingham 1961; Laborie 1963 b; Wheeler i Hamphries 1963 i inni). Chlorozę liścieni sałaty obserwował również Adamiec i współprac. (1952), jest ona łatwo dostrzegalna nawet przy małych dawkach GA. Ze względu na swą specyficzność chloroza liścieni sałaty testowej stanowi obok wzrostu hypokotyłu i wzrostu powierzchni liścieni jeszcze jedną wskazówkę obecności w badanym materiale giberelin lub substancji giberelinopodobnych.

STRESZCZENIE I WNIOSKI

Przebadano reakcje wzrostowe na kwas giberelinowy u 5-ciu długodniowych i 9-ciu fotoperiodycznie obojętnych sałat odmiany głowiastej (*Lactuca sativa* var. *capitata* L.). Stwierdzono, że zastosowany preparat najwydatniej wpływał na wzrost hypokotyłu sałaty 'Boettnera'. Efekty wzrostowe u porównywanych sałat 'Stupický Kamenáč' i odmiany listkowej 'Grand Rapid' były znacznie mniejsze. Zaobserwowano również, że użyte stężenia kwasu giberelinowego różnicowały wzrost powierzchni liścieni i powodowały zmiany ich kształtu, Wywoływały również charakterystyczną chlorozę liścieni. W świetle tych obserwacji sałatę 'Boettnera' można polecać jako doskonały materiał testowy do określania giberelin i substancji giberelinopodobnych.

*Katedra Fizjologii Roślin
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika
w Toruniu*

SUMMARY

The growth reactions to gibberellic acid have been examined in 5 long-day and in 9 photoperiodically neutral varieties of cabbage lettuce (*Lactuca sativa* var. *capitata* L.). It was found that this substance influenced most effectively the growth of the hypocotyle in 'Boettner's' lettuce. The growth effects in the often used lettuces 'Stupický Kamenáč' and in cutting lettuce 'Grand Rapid' were markedly smaller. It has been also observed that the concentrations of gibberellic acid used differentiated the growth area of the cotyledons and caused certain changes in their shape. They also caused a characteristic chlorosis of the cotyledons.

In the light of these findings, Boettner's lettuce may be recommended as a very good test material for the determination of gibberellins and gibberellin-like substances.

LITERATURA

- Adamiec A., Paśś L., Wierzchowski P., 1962 *Acta Soc. Bot. Pol.* 31:637-649.
- Bishop F.W., Whittinghams C.P., 1961, *Nature (Lond.)* 192:576-577.
- Blumenthal-Goldschmidt S., Lang A., 1960, *Nature (Lond.)* 186:815-816.
- Bremer A.H., 1962, *Handbuch der Pflanzenzüchtung*, Herausg. H. Kappert und W. Rudolf. bd. 6, 253-270, Verl. P. Parey, Berlin.
- Brian P.W., Grove J.F., 1957, *Endeavour* 16:161-171.
- Bukovac M.J., 1958, *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 71:407-411.
- Cross B.E., Galt R.H.B., Hanson J.R., MacMillan J., Seaton J.C., and Suter P.J., 1962, *Eigenschaften und Wirkungen der Gibberelline*, Herausg. R. Knapp. 5-12, Springer-Verl. Berlin.
- Frankland B., Wareing P.F., 1960, *Nature (Lond.)* 185:255-256.
- Gillot J., Philouze J., 1962, *Ann. Amélior. Plantes* 12:215-217.
- Harrington J.F., 1960, *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 75:476-479.
- Ikuma H., Thimann K.V., 1960, *Plant. Physiol.* 35:557-566.
- Ikuma H., Thimann K.V., 1963, *Nature (Lond.)* 197:1313-1314.
- Jentys-Szaferowa J., 1959, *Nauka Polska* 7:79-110.
- Kahn A., 1960, *Plant. Physiol.* 35:333-339.
- Kentzer T., 1960, *Rocz. Nauk Roln.* 81-A-1; 187-204.
- Knapp R., 1963, *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, Herausg. H. Linskens und M. Tracey. bd. 6: 203-218, Springer-Verl. Berlin.
- Krekule J., Ullmann J., 1959, *Biol. Plant. (Praha)* 1:22-30.
- Krekule J., Teltscherová L., 1963, *Biol. Plant. (Praha)* 5:252-257.
- Laborie M.E., 1963 a, *Ann. Physiol. vég.* 5:51-63.
- Laborie M.E., 1963 b, *Ann. Physiol. vég.* 5:89-113.
- Lockhart J.A., 1956, *Plant. Physiol.*, 31: suppl. xii.
- Marth P.C., Audia W.V., Mitchell J.W., 1956, *Plant. Physiol.* 31: suppl. xLiii.
- Phinney B.O., West C.A., 1960, *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 11:411-436.
- Poljakoff-Mayer A., Blumenthal-Goldschmidt S., 1957, *Physiol. Plant.* 10:14-15.
- Raspierin W.A., 1964, *Naucz. Dokł. Wys. Szkol. Biol. Nauki*, 2:146-150.
- Smith J.H.C., Benitez A., 1955, *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, Herausg. K. Paech und M. Tracey. bd. 4, 142-196. Springer-Verl. Berlin.
- Stoddart J.L., 1965, *Ann. Bot.*, 29:741-749.
- Stove B.B., Yamaki T., 1957, *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 8:181-216.
- Szestak Z., Ullmann J., 1960, *Biol. Plant. (Praha)* 1:43-47.
- Wheeler A.W., 1962, *Jour. Exper. Bot.*, 13:36-44.
- Wheeler A.W., Humphries E.C., 1963, *Jour. Exper. Bot.* 14:132-136.
- Wittwer S., Bukovac M.J., 1962, *Amer. J. Bot.* 49:524-529.
- Wolf F., Haber A., 1960, *Nature (Lond.)* 186:217-218.