

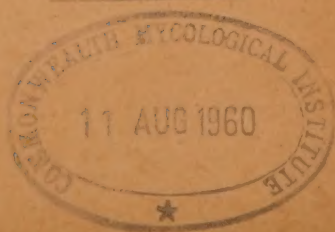
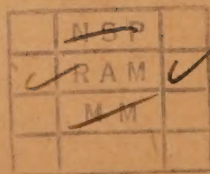
Vol. XXIX Nr 2

1960

ACTA SOCIETATIS BOTANICORUM POLONIAE

Organ Polskiego Towarzystwa Botanicznego
Publication de la Société Botanique de Pologne

WARSZAWA 1960



TREŚĆ — SOMMAIRE

Vol. XX.X, Nr 2

W. Karpowicz: Studium porównawcze nad krajowymi przedstawicielami gatunków rodzaju <i>Dryopteris</i> i <i>Thelypteris</i> — A comparative study on the Species of the Genera <i>Dryopteris</i> and <i>Thelypteris</i> occurring in Poland	175
M. Zenkteler: Rozwój i budowa pyłku oraz liczba chromosomów u <i>Bosea cypria</i> Boiss (<i>Amaranthaceae</i>) — Chromosome number and pollen grain development in <i>Bosea cypria</i> Boiss (<i>Amaranthaceae</i>)	199
B. Rodkiewicz: Zawartość kwasu desoksyrybonukleinowego oznaczonego mikrofotometrycznie w jądrach pyłku <i>Tradescantia bracteata</i> — Measurements of desoxyribose nucleic acid by Feulgen-photometry in nuclei of pollen grains of <i>Tradescantia bracteata</i>	211
Z. Turnowska-Starck: Wpływ boru i fosforu na absorpcję i przemieszczanie sacharozy — The influence of boron and phosphorus on the absorption and translocation of sucrose	219
M. J. Olszewska: Recherches sur le caractère chimique de la plaque cellulaire	249
A. Górska-Brylass: Dalsze badania nad wpływem kinetyny na kiełkowanie ziaren pyłkowych i wzrost łagiewek pyłkowych — Nouvelles observations sur l'influence de la kinétine sur le germination des grains de pollen et sur la croissance des tubes polliniques	263
H. Birecka, H. Rybicka, W. Szymańska: Przemiany alkaloidów w łubinie białym po wprowadzeniu lupaniny i hydroksylupaniny — Alkaloid changes in white lupine after introduction lupanine and hydroxylupanine	275
A. Putrament: Studies on Self-Sterility in <i>Raphanus sativus</i> (L.) var. <i>radicula</i> (DC)	289
J. Wążny: Badania nad wartością pH grzybni niektórych grzybów niszczących drewno — Investigations on pH values of mycelia of some wood-destroying fungi	315

ACTA SOCIETATIS BOTANICORUM POLONIAE

Organ Polskiego Towarzystwa Botanicznego
Publication de la Société Botanique de Pologne

Vol XXIX Nr 2



WARSZAWA 1960

RADA REDAKCYJNA — CONSEIL DE RÉDACTION

B. HRYNIEWIECKI (WARSZAWA), ST. KULCZYŃSKI (WROCŁAW),

B. NIKLEWSKI (POZNAŃ), FR. X. SKUPIEŃSKI (ŁÓDŹ),

W. SZAFER (KRAKÓW), P. WIŚNIEWSKI (LUBLIN),

J. ZABŁOCKI (TORUŃ).

KOMITET REDAKCYJNY — COMITÉ DE RÉDACTION

K. BASSALIK (WARSZAWA), W. GAJEWSKI (WARSZAWA),

A. GAJEWSKA (WARSZAWA).

PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE — DZIAŁ CZASOPISM
WARSZAWA, MIODOWA 10

Nakład 961 + 119	Oddano do składu 12.III.60
Ark. wyd. 11,5, druk. 10,75 + 0,5 wkl.	Podpisano do druku w czerwcu 1960
Papier ilustr. III, kl. 80 g 70 × 00/16	Druk ukończono w czerwcu 1960
Cena zł 35.—	Zam. 123 C-34

WARSZAWSKA DRUKARNIA NAUKOWA, W-WA, ŚNIADECKICH 8

Studium porównawcze nad krajowymi przedstawicielami gatunków rodzaju *Dryopteris* i *Thelypteris*

*A comparative study on the Species of the Genera Dryopteris and
Thelypteris occurring in Poland*

W. KARPOWICZ

W najnowszej literaturze botanicznej, poświęconej systematyce paproci, istnieją rozbieżności w terminologii dotyczącej gatunków *Thelypteris palustris* i *Thelypteris oreopteris*. Ten chaos terminologiczny trwa od czasów Linneusza. I tak np. u N. Hylandera („Nordisk Kärleväxtflora“, 1953), u H. Weymara („Buch der Farne Bärlappe und Schachtelhalme“, 1955) i u H. Haufe („Taschenbuch der Heimischen Moos — u. Farnpflanzen“, 1956) utrzymuje się dawna nazwa *Lastrea thelypteris* Bory i *Lastrea oreopteris* Bory (1844). U Fr. Hermann (,,Flora v. Nord- u. Mitteleuropa“, 1956) — *Polystichum thelypteris* Roth. i *Polystichum oreopteris* Lam. U I. Manton („Problems of cytology a. evolution in the Pteridophyta, 1950) i u W. Szafera, S. Kulczyńskiego i B. Pawłowskiego („Rośliny polskie“, 1953) zastosowano terminologię:

Dryopteris thelypteris A. Gray
i *Dryopteris oreopteris* Maxon.

Wreszcie u A. R. Clapmana, T. G. Tutina i E. F. Warburga („Flora of the British Isles“, 1952) i u B. Pawłowskiego („Flora Tatr“, 1956) wprowadzono nazwy:

Thelypteris palustris Schott
i *Thelypteris oreopteris* (Ehrh.) C. Chr.

Jak widać z przytoczonych przykładów raz omawiane paprocie są gatunkiem należącym do odrębnego rodzaju, w innym wypadku są zali-

czane do rodzaju *Dryopteris*. Rozbieżności te wynikają stąd, że autorzy dzieł poświęconych systematyce paproci opierają taksonomię gatunku na podstawie niektórych tylko cech morfologicznych i anatomicznych, dotyczących wyłącznie sporofitu.

Celem mojej pracy jest wykazanie różnic najbardziej charakterystycznych fragmentów budowy zarówno sporofitu, jak i gametofitu oraz wykazanie różnic w rozwoju krajowych paproci, należących do rodzajów *Dryopteris* i *Thelypteris*.

Wychodząc z założenia, że kryteria służące za podstawę ustalenia istotnych cech gatunków i rodzajów w celu znalezienia ich miejsca w układzie systematycznym, a więc i w filogenezie, powinny być jak najszerszej uwzględnione, podjęłam się szczegółowego opracowania cech morfologicznych, anatomicznych i rozwojowych obu pokoleń. Postaram się udowodnić w mej pracy, że gatunki *Thelypteris palustris* i *oreopteris* oraz krajowe gatunki z rodzaju *Dryopteris* należą do zupełnie odrębnych rodzajów i że pierwsze wymienione dwa gatunki w żadnym wypadku nie mogą być zaliczone do rodzaju *Dryopteris*.

Żywy materiał do badań zebrałam w latach 1956—1958: *Thelypteris palustris* z kilku stanowisk pod Warszawą, pod Lesznem Wkpl., na wyspie Wolin i Beskidzie Zachodnim (*Th. oreopteris*), okazy gatunków z rodzaju *Dryopteris* — z Tatr, Podhala, Babiej Góry, Puszczy Bukowej k/Szczecina i Ogrodu Botanicznego Uniwersytetu Warszawskiego.

Materiał zielnikowy czerpałam z Zakładu Muzeum Fizjograficznego PAN w Krakowie oraz z Zakładu Systematyki i Geografii Roślin Uniwersytetu Warszawskiego.

GAMETOFIT

Hodowlę gametofitów prowadziłam na bogato próchnicznej glebie w szalkach Petriego, w świetle rozproszonym, w pomieszczeniu o temperaturze 18—22°C.

W kilku momentach hodowli w celach porównawczych korzystałam z danych, osiągniętych w mej pracy z 1927 r. w języku niemieckim pt. „Studium nad rozwojem przedrośli paproci krajowych z rodziny *Polypodiaceae*“.

Obecny materiał hodowlany był bardzo obfity. Rozporządzałam do badań dziesiątkami gametofitów. W sztucznych warunkach przedrośla rosną bardzo dobrze, mogłam więc, badając kolejne etapy rozwoju, sprawdzać je na wielu egzemplarzach (10—20 i więcej). Dokonywałam codziennego przeglądu gametofitów. Niektóre zjawiska, jak np. rozwój narządów rozmnażania, kontrolowałam niejednokrotnie na tych samych osobnikach, umieszczając je po przebadaniu ponownie na glebie w szalce Petriego.

Tabela 1

Gatunki Name of species	Dzień wysiania Date of sowing	Poczetek kiełkowania Beginning of germination	Stadium łopaki Spatula stage	Pierwsze plemnie First antheridia	Pierwsze rodnie First archegonia	Pierwsze embriony First embryos	Pierwszy liściek First frond	Uwagi Notes
<i>Dryopteris filix mas</i> (L.) Schott	12.II.1956	28.II (po 16 dn.) (after 16 days)	15.III (po 31 dn.) (after 31) days)	12.IV (po 59 dn.) (after 59 days)	17.IV (po 64 dn.) (after 64 days)	11.VI (po 121 dn.) (after 121 days)	1.VII (po 141 dn.) (after 141 days)	Licząc od dnia wysiania. Number of days counted from the date of sowing.
	6.V.1956	20.V (po 14 dn.) (after 14 days)	3.VI (po 28 dn.) (after 28 days)	10.VII (po 65 dn.) (after 65 days)	1.VIII (po 87 dn.) (after 87 days)	24.VIII (po 110 dn.) (after 110 days)	6.IX (po 123 dn.) (after 123 days)	
<i>Dryopteris spinulosa</i> (Müll.) O. Kuntze	14.II.1958	27.II (po 13 dn.) (after 13 days)	23.III (po 37 dn.) (after 37 days)	8.IV (po 53 dn.) (after 53 days)	20.IV (po 65 dn.) (after 65 days)	28.V (po 103 dn.) (after 103 days)	6.VI (po 112 dn.) (after 112 days)	
<i>Dryopteris austriaca</i> (Jack.) Woyнар	14.II.1958	25.II (po 11 dn.) (after 11 days)	18.III (po 32 dn.) (after 32 days)	21.III (po 35 dn.) (after 35 days)	28.IV (po 73 dn.) (after 73 days)	22.VI (po 106 dn.) (after 106 days)	11.VII (po 125 dn.) (after 125 days)	
<i>Dryopteris cristata</i> (L.) A. Gray	14.II.1958	3.III (po 17 dn.) (after 17 days)	23.III (po 37 dn.) (after 37 days)	4.IV (po 49 dn.) (after 49 days)	15.V (po 90 dn.) (after 90 days)	27.VI (po 133 dn.) (after 133 days)	12.VII (po 148 dn.) (after 148 days)	
<i>Thelypteris palustris</i> (Schott.)	11.II.1956	1.III (po 18 dn.) (after 18 days)	5.III (po 25 dn.) (after 25 days)	15.III (po 35 dn.) (after 35 days)	1.IV (po 52 dn.) (after 52 days)	15.IV (po 66 dn.) (after 66 days)	29.IV (po 80 dn.) (after 80 days)	Do dn. 15.IX rozwinęło się 11 liśc. By 15 September 11 fronds develop.
	13.III.1956	28.III (po 15 dn.) (after 15 days)	6.IV (po 21 dn.) (after 21 days)	24.IV (po 39 dn.) (after 39 days)	14.V (po 60 dn.) (after 60 days)	15.VI (po 92 dn.) (after 92 days)		
<i>Thelypteris oreopteris</i> (Ehrh.) Maxon	7.II.1925	8.III (po 29 dn.) (after 29 days)	12.III (po 33 dn.) (after 33 days)	14.III (po 35 dn.) (after 35 days)	24.IV (po 76 dn.) (after 76 days)	—	—	Sporofity nie rozwinęły się. Sporophytes did not develop.

Badane przedrośla oznaczałam przy pomocy małych wbitych w glebę drewników, przepikowując je następnie do nowych szalek.

Zarodniki paproci z rodzaju *Thelypteris* i *Dryopteris* wysiałam w lutym i marcu (od 7.II do 13.III), jeden gatunek (*Dr. filix mas*) dodatkowo w maju (6/V). Szczegółowe daty podane są w tabeli 1.

Na podstawie zestawienia w powyższej tabeli — widać, że okres od wysiewu do początku kielkowania waha się (u wszystkich naszych gatunków z rodzaju *Dryopteris* i *Thelypteris*) — w granicach od 11 do 29 dni. Najszybciej wykielkowały zarodniki *Dryopteris austriaca* (po 11 dniach) i *spinulosa* (po 13 dniach). Dłuższy jest nieco ten okres u gatunków *Thelypteris* (15—18 do 29 dni).

W dalszym ciągu tempo rozwoju zmienia się: szybciej zachodzi rozwój u gatunków rodzaju *Thelypteris*, zwłaszcza w *Th. palustris*: plemnice np. tworzą się u tego gatunku od 15 do 30 dni wcześniej niż u *Dryopteris filix mas*, nawet wcześniej niż u *Dr. cristata*, rozwijającej się stosunkowo szybko. Jeszcze wyraźniej różnice zaznaczają się w okresie tworzenia się rodni, powstają one u rodzaju *Thelypteris* od 13 do ca 40 dni wcześniej niż u gatunków rodzaju *Dryopteris*, u których rodnie pojawiają się dopiero po 62—90 dniach od czasu wysiewu, a pierwsze embriony po 103 do 133 dniach, podczas gdy u *Thelypteris palustris* — po 66 do 92 dniach.

Całkowity więc rozwój gametofitu aż do momentu zapłodnienia trwa u *Thelypteris palustris* średnio 79 dni. Całkowity zaś rozwój u gatunków *Dryopteris* trwa od 103 do 133 dni (od dnia wysiewu).

Przytoczone w tabeli dane liczbowe, ilustrujące czas rozwoju paproci, są do pewnego stopnia względne.

Chodziło mi o podanie dat pojawiania się w hodowli najważniejszych początkowych faz rozwojowych. Ścisłe określanie granic wahania okresu pojawiania się np. plemni i rodni sprawia poważne trudności.

Jeżeli przedrośla znajdują się w hodowli w mniej sprzyjających warunkach (krótki dzień, ciasno rosnące gametofity), tworzenie się plemni i rodni jest spóźnione nieraz o 1—2 miesiące, a bywa i całkowicie zahamowane. W hodowli mojej spotykałam przedrośla w stadium łopatkki w fazie męskiej we wrześniu.

W celu osiągnięcia możliwie normalnego rozwoju przepikowywałam gametofity co kilka tygodni do nowych szalek Petriego.

PORÓWNANIE GAMETOFITÓW

Pomimo wyraźnych podobieństw w budowie i rozmiarach gametofitów u rodzaju *Dryopteris* i *Thelypteris*, rzucają się w oczy różnice zarówno w pokroju, jak i szczegółach budowy w różnych etapach rozwoju.

Już w stadium nitki lub w początkowych stadiach łopatki u wszystkich gatunków z rodzaju *Dryopteris* tworzy się z reguły włoski gruczołowy na końcu komórki szczytowej nitki (Tabl. I, rys. 1) *. Włoski gruczołowe u *Thelypteris palustris* i *oreopteris* powstają znacznie później, już po uformowaniu się tkanki merystematycznej — we wcięciu przedrośla (Tabl. I, rys. 3) **. Nitki i łopatki u tych gatunków nie mają nigdy włosków (Tabl. I, rys. 2) **. Włoski na starych gametofitach są drobne, bezbarwne, opatrzone główkami, powstają na niektórych komórkach brzeżnych obu płatów płachy (Tabl. I, rys. 4). W miarę rozrastania się poduszeczki na gametoficie u gatunków rodzaju *Thelypteris* powstają nieliczne włoski gruczołowe w pobliżu rodnia.

Gametofity gatunków rodzaju *Dryopteris* — całe pokryte są od strony brzusznej włoskami gruczołowymi (Tabl. I, rys. 6) *. Habitus dojrzałych przedrośli (w fazie żeńskiej) u gatunków obu rodzajów wykazuje wyraźne różnice: gametofit rodzaju *Thelypteris* ma obie połowy plechy zaokrąglone, szerokie, o brzegu gładkim lub lekko falistym (Tabl. I, rys. 7) **, gametofit zaś rodzaju *Dryopteris* ma formę przeważnie wachlarzową, o płatach bocznych wzniesionych ku górze i o zwężonej nasadzie, co widać nawet nieuzbrojonym okiem (Tabl. I, rys. 8) *. Brzeżne włoski gruczołowe są tu bardzo liczne, często umieszczone są na wystających ząbkach (1—4 komórkowych) plechy (Tabl. I, rys. 5), które tworzą w rezultacie mocno postrzępiony brzeg charakterystyczny dla gatunków *Dryopteris*.

U wszystkich badanych gametofitów (obu rodzajów) po stadium łopatki i wczesnej plesze sercowatej, które są fazą męską, zaczynają pojawiać się stopniowo rodnie; plemniki wtedy zanikają. Przedrośle przechodzi w fazę żeńską. Wypadki obupłciowości gametofitów należą do rzadkości.

Występowanie zjawiska czasowego rozdzielania płci należy uważać za charakterystyczne dla gametofitów rozpatrywanych gatunków. Starsze gametofity w fazie żeńskiej nie zapłodnione rozrastają się nadal, fałdują, osiągając szczególnie duże wymiary u *Thelypteris palustris*. Szerokość gametofitu dochodzi do 12—16 mm (Tabl. I, rys. 10). Mają one stale czynną merystemę, a na poduszeczce po stronie brzusznej tworzą się coraz to nowe rodnie i chwytники o barwie pomarańczowej.

Szerokość gametofitów rodzaju *Dryopteris* rzadko kiedy przekracza 8 mm (Tabl. I, rys. 9). Przerośnięte gametofity (w fazie żeńskiej) u *Thelypteris palustris* przybierają niekiedy postać rury, wznoszącej się z centralnej części plechy (Tabl. I, rys. 10).

* Na przykładzie *Dr. filix mas.*

** Na przykładzie *Thelypteris palustris*.

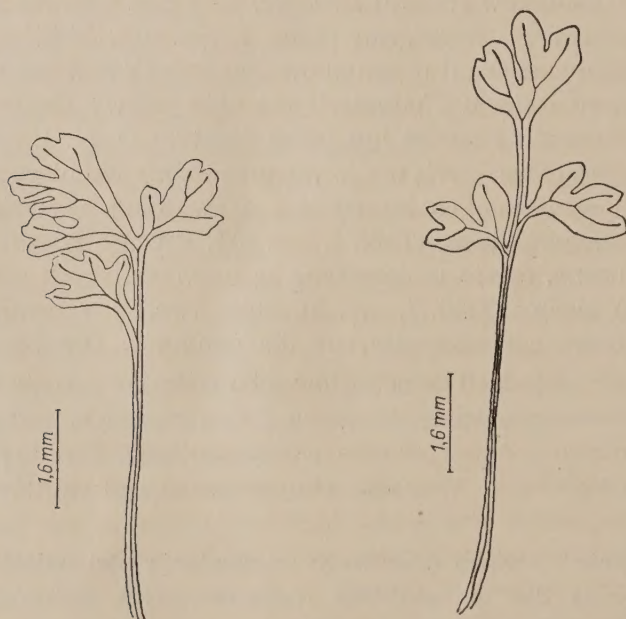
PORÓWNANIE SPOROFITÓW

Nie tylko rozwój gametofitów odbywa się szybciej u rodzaju *Thelypteris**, szybsze jest również tempo rozwoju sporofitu. Pierwsze listki sporofitu rozwinęły się u *Thelypteris palustris* już po 80 dniach od dnia wysiewu, zaś u gatunków rodzaju *Dryopteris* po 112 do 148 dniach.

LIŚCIE

Rozwój liści *Thelypteris palustris* przedstawiają tablice II i III.

Tylko pierwszy liść sporofitu ma budowę bardzo pierwotną, wcinany jest widlasto, nerwację ma dichotomiczną** (Tabl. II, rys. 1, 3), natomiast



Ryc. 1. Unerwienie czwartego i piątego liścia u *Dryopteris*

drugi kolejny liść ma głębsze wcięcia, zaś końce nerwów III rzędu jeszcze raz rozgałęziają się dichotomicznie. Dopiero na III i IV liściu można zaobserwować pojawiającą się pierzastość (Tabl. II, rys. 4 i 5), przejście nerwacji dichotomicznej w monopodialną. Niektóre tylko nerwy II i III rzędu rozgałęziają się dichotomicznie. Następne liście, np. VII—XI, osiągają stopniowo habitus charakterystyczny dla gatunku (Tabl. III, rys. 1, 2, 3). Wysokość ich sięga 9—11 cm.

* Badania przeprowadziłam na *Thel. palustris*, nie otrzymałam w hodowli młodych sporofitów u *Thel. oreopteris*.

** Taką samą budowę mają pierwsze liście rodz. *Dryopteris* (Tabl. II, rys. 2).

Na V i następnych liściach nerwy dochodzą do samego brzegu blaszki, co jest charakterystyczne dla rodzaju *Thelypteris* (Tabl. II, rys. 5, Tabl. III, rys. 4, 5 i Tabl. IV, rys. 6, 7), u gatunków zaś z rodzaju *Dryopteris* — na pierwszych liściach sporofitu, od I—V i następnych — nerwy nie dochodzą do brzegu blaszki. Na liściu IV i V widać już nawet zgrubienia na końcach nerwów charakterystyczne dla omawianego rodzaju (ryc. 1, oraz Tabl. IV, rys. 1—5).

Na stronie brzusznej wszystkich opisywanych liści znajdują się szparki wśród zatokowych komórek epidermy (Tabl. II, rys. 6). Na brzeżnych komórkach liści występują włoski gruczołowe tego samego typu, jak na gametoficie (Tabl. II, rys. 1 a, b, c; rys. 2 a, b). Na czwartym liściu włoski stają się gęste, tworzą się na wszystkich prawie komórkach brzeżnych (Tabl. II, rys. 4 a). U rodzaju *Dryopteris* bezbarwne, jednokomórkowe włoski brzeżne rozmieszczone są rzadziej, co 2—3 komórki. Na ogonkach pojawiają się włoski często dwukomórkowe, o dużych główkach z ziarnistą treścią (Tabl. II, rys. 4 b, c).

Również na brzusznej powierzchni opisywanych liści *Th. palustris* pojawiają się stopniowo na epidermie nieliczne, małe włoski gruczołowe oraz bezbarwne, szczecinkowate włoski (Tabl. III, rys. 8, 9). U nasady zaś ogonków, od VII listka i następnych, można już zauważyć charakterystyczne dla gatunku drobne, bezbarwne łuseczki pochodzenia epidermalnego. Są one jajowato-lancetowate lub jajowate, silnie ogruczołone na brzegu i na obu powierzchniach (Tabl. III, rys. 6) o długości od 5 do 15 mm.

Liście rozwinięte u obu badanych rodzajów mimo wielu podobieństw różnią się zasadniczo: 1) stopniem rozczłonkowania blaszki, 2) długością ogonków, 3) sztywnością i barwą blaszki, 4) typem unerwienia, 5) budową łusek i in. utworów epidermalnych, 6) ilością steli w ogonkach, 7) umieszczeniem sorusów.

Liście gatunków należących do rodzaju *Dryopteris* są potrójnie pierzaste, słabiej jest to zaznaczone u *Dr. filix mas* i *Dr. cristata*, tzn. odcinki III rzędu — są to właściwie płycej lub głębiej wcinane ząbki. Dolne ząbki na odcinkach II rzędu u obu gatunków tworzą już początek pierzastości (Tabl. IV, rys. 1, 2, 3).

U *Dr. spinulosa* i *austriaca* natomiast odcinki III rzędu odznaczają się wyraźnie, zwłaszcza całkowicie są uformowane u *Dr. austriaca*; na dolnych odcinkach III rzędu tej paproci wyodrębniają się nawet odcinki IV rzędu (Tabl. IV, rys. 5). Wszystkie odcinki są ząbkowane.

Zupełnie inaczej przedstawia się budowa liści u rodzaju *Thelypteris*.

Liście są tylko podwójnie pierzaste. Listki II rzędu mają brzeg mniej lub więcej falisty (Tabl. IV rys. 6, 7), lub karbowany, bez ząbków. Liście

asymilacyjne u *Thel. palustris* i *Th. oreopteris* (występuje tu znany dymorfizm) są miękkie, wiotkie, jasnozielone, o cienkiej blaszce, prześwitujące, z odcieniem niebieskawozielonawym. Liście zaś rodzaju *Dryopteris* są znacznie sztywniejsze, grubsze, mocne, od barwy ciemnozielonej (u *Dr. filix mas*) do jasnozielonej i żółtawozielonej (u *Dr. cristata*).

Pod względem unerwienia oba rodzaje paproci różnią się zasadniczo: u rodzaju *Thelypteris* nerwacja jest typu *Pecopteridis*, zbliżona charakterem do *Cyatheoideae* *: końce nerwów III rzędu nie rozszerzają się, dochodzą do samego brzegu blaszki, trafiając w zagłębienia między karbami. Górne nerwy odcinka II rzędu są pojedyncze, środkowe i dolne rozgałęzione są dichotomicznie (Tabl. IV, rys. 6 i 7).

Nerwacja u wszystkich krajowych gatunków rodz. *Dryopteris* jest typu *Pecopteridis* *: końce nerwów wchodzą z reguły do ząbków, lecz nie sięgają brzegu blaszki. Końce nerwów mają maczugowate zgrubienie (Tabl. IV, rys. 1—5).

ŁUSKI

Łuski występujące na ogonkach liściowych, na osi blaszki, ewentualnie na powierzchni blaszki — są utworami bardzo charakterystycznymi dla gatunku, należą do cech diagnostycznych. Poniżej podaję szczegółowy ich przegląd.

U rodzaju *Dryopteris* łuski są stosunkowo duże i trwałe. U *Dryopteris filix mas* (L.) Schott cały ogonek pokryty jest gęsto łuskami o 10—25 mm długości, barwy żółtobrunatnej lub kasztanowatej. Łuski te są błyszczące, szerokie, o nasadzie sercowatej, niekiedy zdarzają się łuski z rdzawą smugą podłużną (Tabl. V, rys. 1—5). Obrzeżenie łusek nierówne, z charakterystycznymi zadziorami lub kotwiczkami utworzonymi przez brzeżne komórki (Tabl. V, rys. 7 i 8).

Na blaszce liściowej łuski stają się coraz mniejsze i węższe (3 mm dług. i 1/2 mm szer.), występują w rozproszeniu na nerwach po stronie grzbietowej i brzusznej. Nieliczne łuseczki widać na komórkach epidermy brzusznej strony blaszki.

Łuski u *Dryopteris spinulosa* (Müll.) O. Kuntze są rzadsze i bladobrunatne, zawsze jednolicie zabarwione. Na ogonku rozrzucone, o długości 3 do 9 mm i od 2 do 5 mm szerokości. Błony komórkowe łuski są bladożółtawe, mało zgrubiałe, o brzegu zewnętrznym gładkim lub lekko falistym (Tabl. V, rys. 9, a, b). Blaszki *Dryopteris spinulosa* są nagie, tylko na nerwach od strony brzusznej występują rzadkie drobne łuseczki tej samej barwy co łuski ogonkowe.

* Według Luerssena.

U *Dryopteris austriaca* (J a c k.) W o y n a r cały ogonek jest gęsto pokryty dużymi łuskami barwy jasnobrunatnej z ciemnobrunatną, czasem prawie czarną smugą podłużną (Tabl. V, rys. 11, 11a). Długość łusek dochodzi do 12 mm, szer. od 1—5 mm. Komórki w obrębie smugi mają mocno zgrubiałe błony (Tabl. V, rys. 11 b). Na nerwach, jak u poprzedniego gatunku, występują łuseczki coraz mniejsze i węższe. Blaszka liścia od strony brzusznej i jej brzeżne komórki tworzą jednokomórkowe włoski gruczołowe o żółtych główkach.

Liście u *Dryopteris cristata* (L.) A. G r a y są nagie. Na ogonkach znajdują się dość liczne, szarawobrunatne łuseczki (do 1 cm długości). Kształt łusek i ich obrzeżenie jak u *Dr. spinulosa* (Tabl. V, rys. 10). Na nerwach blaszki bardzo rzadkie, szybko odpadające małe pojedyncze łuseczki.

U *Thelypteris palustris* Schott. łuski wyrastają tylko u nasady ogonków liści młodych, później giną. Łuseczki są małe, nikle, bezbarwne, szeroko jajowate, pokryte licznymi włoskami gruczołowymi (Tabl. III, rys. 6) od 0,1 mm do 1,5 mm długości.

U *Thelypteris oreopteris* (E h r h.) C. C h r. łuseczki są nieliczne, blade, jasnobrunatne, o cienkich błonach komórkowych, jajowate lub owalne, z włoskami gruczołowymi na brzegu. Łuski łatwo odpadają (dł. 3—10 mm) (Tabl. III, rys. 10, 11).

UKŁAD SORUSÓW, INDUSIA, ZARODNIE I ZARODNIKI

Tworzenie się i dojrzewanie sorusów u gatunków rodzaju *Dryopteris* i *Thelypteris* zachodzi w górnej połowie blaszki. Liście asymilacyjne i sporofile u gatunków *Dryopteris* nie różnią się: pewien, słabo zarysowany, dy-morfizm można zauważyć u *Dryopteris cristata*. Liście zarodnionośne u *Dryopteris filix mas*, *cristata* i *austriaca*, pokryte są sorusami najczęściej w 13 części górnej blaszki, zaś u *Dr. spinulosa* — prawie cały sporofil pokryty jest sorusami, prócz 2—3 dolnych odcinków I rzędu. U rodzaju *Thelypteris* (*palustris* i *oreopteris*) występuje znany dobrze wyraźny dy-morfizm liści. Nie całe sporofile u tych gatunków pokryte są sorusami, najczęściej 4 do 7 par odcinków dolnych są płone.

Sorusy u rodzaju *Dryopteris* tworzą na segmentach II lub III rzędu 2 szeregi zbliżone do nerwu środkowego. Zbliżają się do siebie, lecz nie zlewają. U wszystkich gatunków rodzaju *Dryopteris* sorusy powstają na przednim rozwidleniu nerwu III rzędu.

U rodzaju *Thelypteris* tworzą się również dwa szeregi sorusów na odcinkach II rzędu, umieszczone są jednak bliżej brzegu blaszki. Sorusy mają kształt poduszkowaty, często zlewają się ze sobą. Csadzone są na

Z e s t a w i e n i e
Gametofit — Gametophyte

	Rodzaj — Genus <i>Thelypteris</i>	Rodzaj — Genus <i>Dryopteris</i>
Pierwsze plemnie First antheridia	po 32—39 dniach after 32—39 days	po 35—65 dniach after 35—65 days
Pierwsze rodnie First archegonia	po 52—76 dniach after 52—76 days	po 64—90 dniach after 64—90 days
Pierwszy embrion First embryo	po 66—92 dniach after 66—92 dyas	po 103—133 dniach after 103—133 days
Szerokość gametofitu Width of gametophyte	do 16 mm up to 16 mm	do 8 mm up to 8 mm
Pokrój gametofitu Shape of gametophyte	sercowaty o płatach szerokich zaokrąglonych cordate with wide roundet loben	wachlarzowaty o głębokim wcięciu fan-like with deep incision
Brzeg gametofitu Margin of gametophyte	równy entire	postrzępiony frayed
Włoski gruczołowe Glandular hairs	nieliczne, na komórkach brzeżnych i dokoła rodnia few, growing on marginal cells and round archegonium	brzeżne liczne, często na wyrostkach plechy oraz rozsiane na całej brzusznej powierzchni marginal ones numerous frequently growing on protrusions of thallus others dispersed over the whole ventral surface
Sporofit — Sporophyte		
Pierwsze listki sporofitu First fronds of sporophyte	po 80 dniach after 80 days	po 112—148 dniach after 112—148 days
Długość liści Length of fronds	do 1 m up to 1 m	do 1,5 m up to 1,5 m
Długość ogonka Length of petioles	równy albo dłuższy od blaszki same as of lamina or longer	krótszy od blaszki (<i>Dr. filix mas</i> — 6—30 cm <i>Dr. spinulosa</i> — 1/3 — 1/2 dł. bl. <i>Dr. cristata</i> 30—37 cm) shorter than lamina (<i>Dr. filix mas</i> — 6—30 cm <i>Dr. spinulosa</i> — 1/3—1/2 of lamina, <i>Dr. cristata</i> — 30—37 cm, <i>Dr. austriaca</i> — up to ca 50 cm)
Bruzda na ogonku Groove on petiole	głęboka deep	bardzo płytka very shallow
Ilość steli w ogonku Number of steles in petiole	2	3—10
Nerwy III rzędu Nerw III rzędu	przeważnie dichotomicznie rozgałęzione dochodzą do brzegu blaszki mostly dichotomically branched reaching the margin of the blade	rozgałęzione monopodialnie lub dichotomicznie, wchodzą do ząbków końcem zgrubiałym branched monopodially or dichotomically, entering the teeth with the thickened end

Sporofit — Sporophyte

	Rodzaj — Genus <i>Thelypteris</i>	Rodzaj — Genus <i>Dryopteris</i>
Tertiary veins	usually branched dichotomously, reaching to end of lamina	brached monopodially dichotomously, penetrate the fringe with the thicker end
Liście asymilacyjne	wyraźny dymorfizm	nie ma różnic
Assimilating leaves	markedly dimorphic	(wyj. <i>Dr. cristata</i>) without differences except for <i>Dr. cristata</i>)
Utwory epidermalne na liściu	łuski małe, nieliczne, ogruczone, zanikające, Na blaszce gruczołki (żółte) i szczeciniaste włoski	łuski duże, brunatne, trwałe (0,5 cm do 2,5 cm) na ogonku i na nerwach
Epidermal structures on leaves	few small glandular and disappearing yellow glandules and bristles on lamina	large (0,5—2,5 cm) brown persistent ramenta distributed on petiole and veins
Sorusy	blisko brzegu blaszki leżą na obu rozwidleniach nerwu	bliżej nerwu środkowego leżą zawsze na przednim rozwidleniu nerwu
Sori	near the margin of lamina, lying on both bifurcations of vein	closer to the midrib, always lying on anterior bifurcation of vein
Indusium	okrągławe lub nieregularnie postrzępione, zanikające, pokryte żółtymi gruczołkami i włoskami szczeciniastymi	nerkowate, całobrzegie, nagie, trwałe (wyj. <i>Dr. austriaca</i>)
Indusium	rounded or irregularly fraed, disappearing, covered by yellow glandules and bristles	reniform, with entire margin, naked, persistent (except for <i>Dr. austriaca</i>)
Zarodnie	z 1—2 włoskami gruczołowymi o żółtych główkach	nagie, u młodych zarodnik <i>Dr. filix mas</i> 1—2 małe włoski na trzonkach, później zanikające
Sporangia	with 1—2 glandular yellow tipped hairs	naked; young sporangia of <i>Dr. filix mas</i> have 1—2 small hairs disappearing at later stage on pedicles
Zarodniki	fasolowate, opatrzone kolcami lub wąskimi listewkami z kolcami	fasolowate, z brunatnymi brodawkami i listewkami (listewki mają drobne ząbki — u <i>Dr. spinulosa</i> i <i>austriaca</i>)
Spores	bean-shaped with thorns or narrow thorned lists	bean shaped with brown warts and lists (in <i>Dr. spinulosa</i> and <i>austriaca</i> the lists are finely toothed
Liczba chromosomów	2n = 70 <i>Th. palustris</i>	2n = 164
Chromosome number	2n = 68 <i>Th. oreopteris</i>	

obu rozwidleniach nerwów bocznych. Jeżeli nerw jest nierozgałęziony, tworzy się wtedy jeden sorus (Tabl. VI, rys. 1 i 2).

Indusia u rodzaju *Dryopteris* są stosunkowo duże, trwałe (dł. średnio 1,44 mm do 1,5 mm), kształtu nerkowatego, lekko wypukłe o brzegu podwiniętym. U *Dr. filix mas*, *spinulosa* i *cristata* indusia są nagie, tylko u *Dr. austriaca* tworzą się na indusiach włoski gruczołowe (Tabl. VI, rys. 6). Komórki środkowe indusium mają błony faliste typu epidermalnego, tylko brzeżne komórki są prostokątne (Tabl. 7a, b). Barwa indusium zależy od „wieku“, młode są białawe i jasnobrunatne, starsze — ciemnobrunatne lub nawet brunatnoczerwone (np. u *Dr. cristata*).

Indusia u rodzaju *Thelypteris* — są to utwory o charakterze wyraźnie szczątkowym, szybko odpadają. Rolę ich spełniają podwinięte brzegi blaszek.

Kształt indusium u *Thel. palustris* i *oreopteris* jest zmienny, bywają okrągławe lub wachlarzowate, lecz nie nerkowate. Są małe, łatwo znikające, bezbarwne (dł. średnio 0,7 do 0,8 mm). Zbudowane są z komórek o cienkich, falistych błonach. Na komórkach brzeżnych u obu gatunków wyrastają dość liczne włoski gruczołowe o złotawych główkach (Tabl. VI, rys. 4 i 5) oraz bezbarwne, jednokomórkowe włoski szczeciniaste.

Zarodnie opisywanych przeze mnie gatunków są pod względem morfologicznym bardzo do siebie zbliżone, charakterystyczne dla przedstawicieli rodziny *Polypodiaceae*. Drobne różnice polegają na występowaniu różnych włosków. Tak więc młode zarodnie *Dr. filix mas* mają znane 1—2-komórkowe włoski maczugowate, bez wyodrębniających się główek, osadzone w górnej części trzonków zarodni (Tabl. VI, rys. 8). W okresie dojrzewania zarodni włoski te znikają.

Dojrzałe zarodnie wszystkich 4 gatunków paproci krajowych z rodzaju *Dryopteris* są nagie.

U gatunków z rodzaju *Thelypteris* na zarodniach występują 1—2 włoski gruczołowe, o złotawych główkach, szczególnie często spotykałam je u *Th. palustris*. Wyrastają one na komórkach ścianki zarodni, rzadziej na komórkach pierścienia (Tabl. VI, rys. 9) już na młodych zarodniach i na ogół trwają aż do dojrzewania zarodni. Nawet w materiale zielnikowym z łatwością można znaleźć zarodnie z włoskami.

Zarodniki. Oba opisywane rodzaje mają zarodniki fasolowate o symetrii dwubocznej. Długość ich waha się od 40 μ do 75 μ , szerokość od 30 μ do 48 μ .

Zarodniki 4 gatunków rodzaju *Dryopteris* mają bardzo wyraźne ciemnobrunatne listewki (muri)* grubsze lub cieńsze na tle złotawobrunatnej skleryny (eksyny). Listewki mają grube, zaokrąglone lub faliste

* Terminologia według G. Erdtmanna (1943) i J. Dyakowskiej (1959).

krawędzie — jak u *Dr. filix mas*, lub cieńsze i szersze jak u *Dr. cristata*, *spinulosa* i *austriaca* (Tabl. VII, rys. 1—4). U *Dr. spinulosa* i *austriaca* występują na krawędzi listewek (muri) b. drobne ząbki, ostro zakończone (*spinae*). Cała zaś powierzchnia skłeryny robi wrażenie punktowanej.

Zarodniki *Thelypteris palustris* są żółtawe, nie mają zupełnie listewek, tylko ostre brunatne kolce, zwężające się ku szczytowi (*spinae*) (Tabl. VI, rys. 5), których nasady połączone są nikłą siateczką.

Zarodniki pokrewnej *Thelypteris oreopteris* mają wprawdzie wąskie, brunatne listewki, ale zaopatrzone są w spore kolczaste wyrostki (Tabl. VI, rys. 6).

Wymiary zarodników

Size of spores

	<i>Dr. filix mas</i>	<i>Dr. spinulosa</i>	<i>Dr. cristata</i>	<i>Dr. austriaca</i>	<i>Th. palustris</i>	<i>Th. oreopteris</i>
Długość Length	50—72 μ	40—55 μ	50—75 μ	42,5—65 μ	45—55 μ	42—54 μ
Szerokość Wodht	37—48 μ	32,5—35 μ	35—47 μ	37,5—50 μ	30—42,5 μ	30—36 μ

Podane powyżej różnice w budowie sporofitu i gametofitu uzupełnię danymi z literatury. Dotyczą one różnic anatomicznych i cytologicznych.

Ilość steli w ogonkach liściowych u omawianych gatunków przedstawia się według Ch. Luerssena następująco:

<i>Dryopteris filix mas</i>	5—8 steli,
<i>Dryopteris cristata</i>	3—5 steli,
<i>Dryopteris spinulosa</i>	3—7 (10) steli,
<i>Dryopteris austriaca</i>	5—6 steli,

u *Thelypteris palustris* i *oreopteris* zaś — po 2 stele (Tabl. VI, rys. 10, 11).

Ilość chromosomów według badań I. Manton przedstawia się następująco:

u 4 naszych gatunków <i>Dryopteris</i> :	$2n = 164$
u 2 „ „ „ <i>Thelypteris</i> :	$2n = 70$ (<i>Th. palustris</i>)
	$2n = 68$ (<i>Th. oreopteris</i>)

u innych gatunków europejskich:

<i>Dryopteris abbreviata</i> (Lam.) Neuman	$2n = 82$	
„ <i>Borreri</i> Neuman	$2n = 82$	,
„ <i>aemule</i> (Ait.) O. Kuntze	$2n = 82$	,

Dryopteris Villarsii W o y n a r

2 n = 164

„ *uliginosa* (Neum.) Druce

2 n = 164

.. *remota* Moore, Windermere

2 n = 164

Zasadnicze różnice przedstawia zestawienie podane na str. 184—185.

STRESZCZENIE I WNIOSKI

Badania porównawcze nad krajowymi gatunkami rodzajów *Dryopteris* i *Thelypteris* wykazały wyraźną ich odrębność, wobec czego nie mogą być zaliczane do jednego rodzaju, jak jest w większości prac, poświęconych systematyce paproci.

Szczegółowa analiza budowy morfologicznej i anatomicznej sporofitu i gametofitu 6 gatunków paproci doprowadziła do wyodrębnienia następujących różnic: 1) w tempie rozwoju, budowie i wymiarach gametofitu, 2) w stopniu rozczłonkowania blaszki liściowej i występowaniu dymorfizmu, 3) w budowie i długości ogonków liściowych, 4) w typie unerwienia, 5) w budowie i rozmieszczeniu łusek, 6) w układzie i osadzeniu sorusów, 7) w budowie indusium i jego trwałości, 8) w szczegółach budowy zarodni i zarodników, 9) w liczbie chromosomów.

Przytoczone różnice mają podstawowe znaczenie w ustalaniu klasyfikacji. Pożądana byłaby praca nad wymienionymi rodzajami, występującymi na innych kontynentach.

Zakład Systematyki i Geografii Roślin
Uniwersytetu Warszawskiego

(Wpłynęło dn. 8.7.1959 r.)

SUMMARY

The object of this investigation was a comparative analysis of the fern species, all growing in Poland, from the genus *Dryopteris* (*Dr. filix mas*, *spinulosa*, *austriaca*, and *cristata*), *Thelypteris palustris* Schott, and *Th. oreopteris* (Ehrh.) C. Chr. Most botanists classify the last two species to the genus *Dryopteris* as *Dr. thelypteris* A. Gray, and *Dr. oreopteris* Maxon.

The above mentioned fern species differ essentially in the structure of both sporophytes and gametophytes.

The taxonomic position of these ferns is defined by many workers solely on the ground of the characteristic traits of sporophytes, while various important morphological traits and developmental details of the sexual generation are disregarded.

A detailed comparison of the most important morphological and anatomical traits of sporophytes as well as the structure and development of gametophytes from the six fern species leads to the conclusion that the species differ markedly with regard to: 1) the rate of development, the structure, and the size of gametophytes, 2) the degree to which the lamina of the fronds are dissected and the dimorphism occurring in some species,

3) the structure of petioles, 4) the type of venation, 5) the structure and the distribution of ramenta (paleae), 6) the arrangement and the attachment of sori, 7) the structure and the persistence of the indusium, 8) the structural details of the sporangium and spores, 9) the chromosome number.

LITERATURA

- Clapman A. R., Tutin T. G., Warburg E. F., 1952, Flora of the British Isles: 35—42, 45—49, Cambridge.
- Dyakowska J., 1959, Podręcznik palynologii: 13—43, Warszawa.
- Erdtman G., 1943, An introduction to Pollen analysis: 43—54, USA.
- Haufe H., 1956, Taschenbuch der Heimischen Moos- u. Farnpflanzen: 148—158, Leipzig, Jena.
- Hermann Fr., 1956, Flora v. Nord- und Mitteleuropa: 52—56.
- Hylander N., 1953, Nordisk Kärleväxt-flora, t. I, Stokholm.
- Karpowicz W., 1927, Studien über die Entwicklung der Prothallien u. der ersten Sporophytblätter der einh. Farnkräuter (*Polypodiaceae*), Extr. du Bull. de l'Acad. Polonaise, Ser. B: 1—34, pl. 12.
- Luerssen Ch., 1889/97, Farnpflanzen: 12—19, 314—316, 360—439.
- Manton I., 1950, Problems of Cytology and Evolution in the *Pteridophyta*: 11—53, 44—62, 63—87, Cambridge.
- Pawłowski B., 1956, Flora Tatr, t. I: 151—155, Warszawa.
- Szafer W., Kulczyński S., Pawłowski B., Rośliny polskie: 9—11. Warszawa.
- Weymar H., 1955, Buch der Farne, Bärlappe und Schachtelhalme: 95—104. Berlin.

OBJAŚNIENIE TABLIC

TABLICA I — PLATE I

Przedrośla rodzaju *Dryopteris* i *Thelypteris* Prothalli from genera *Dryopteris* and *Thelypteris*

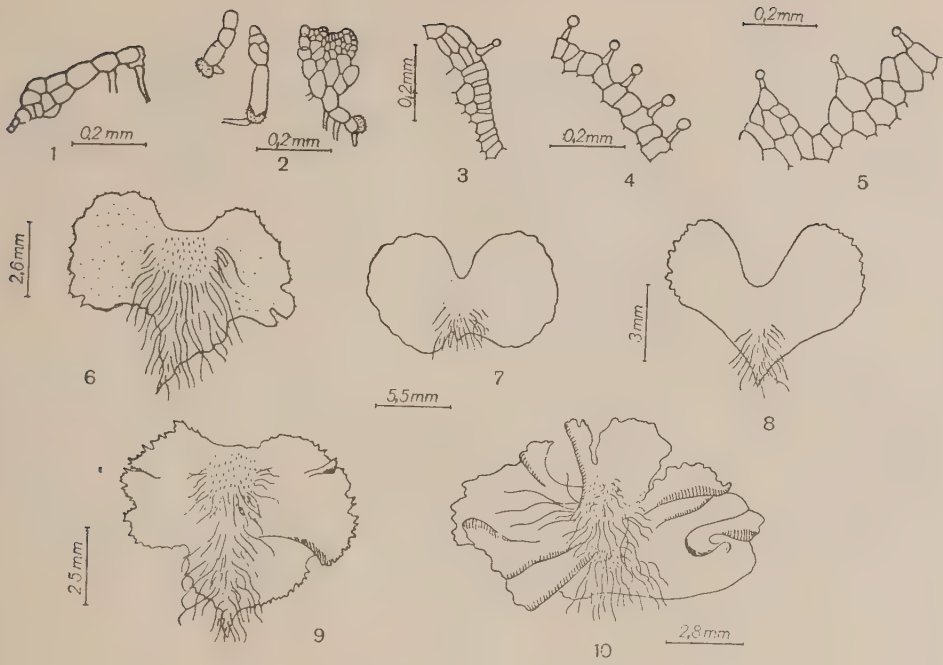
1. *Dryopteris filix mas*: stadium wczesnej łopatki zakończone włoskiem gruczołowym — early spatula stage, spatula terminated by glandular hair; 2. *Thelypteris palustris*: nitka i łopatka bez włosków — filament and spatula without hairs; 3. *Thelypteris palustris*: pierwszy włoszek przy merystemie gametofitu — first hairs near the meristem of gametophyte; 4. *Thelypteris palustris*: włoski gruczołowe na brzegu gametofitu — glandular hairs on margin of gametophyte; 5. *Dryopteris filix mas*: brzeg gametofiru i włoski gruczołowe — margin of gametophyte and glandular hairs; 6. *Dryopteris filix mas*: włoski gruczołowe pokrywają brzusznią powierzchnię gametofitu — glandular hairs covering the ventral surface of gametophyte; 7. Habitus gametofitu *Thelypteris* — Habitus of a *Thelypteris* gametophyte; 8. Habitus gametofitu *Dryopteris* — Habitus of a *Dryopteris* gametophyte; 9. *Dryopteris filix mas*: stary gametofit w fazie żeńskiej — old gametophyte in the female phase; 10. *Thelypteris palustris*: przerośnięty gametofit w fazie żeńskiej, plecha połażowana, piętrowe występowanie rodni. — an overgrown gametophyte in the female phase; note folded thallus and the storied arrangement of archegonia

TABLICA II — PLATE II

Rozwój pierwszych liści sporofitu *Thelypteris palustris* Schott. Development of the first sporophyte fronde *Thelypteris palustris* Schott

1. Pierwszy liść 1a, b, c, brzeżne komórki tego listka z włoskami gruczołowymi — First frond, 1a, b, c, marginal cells of the same frond; 2. *Dryopteris filix mas*: pierwszy liść i 2a, b, włoski brzeżne — first frond, 2a, b, marginal hairs; 3. Dalszy rozwój liścia *Thelypteris palustris* — Further development of frond in *Thelypteris palustris*; 4. i 5. Trzeci i czwarty liść sporofitu *Thel. palustris* — 4. and 5. Third and fourth fronds of the *Thel. palustris* sporophyte; 4a, b, c włoski gruczołowe brzeżne — Marginal glandular hairs; 6. Komórki epidermy liścia ze szparkami u *Thel. palustris* — *Thelypteris palustris*, epidermal cells of leaf with stomata.

TABLICA I



TABLICA II



TABLICA III — PLATE III

Dalszy rozwój sporofitu *Thelypteris palustris*. Łuski.

Further development of sporophyte *Thel. palustris*. Ramenta (paleae)

1. 2. 3. — VII, X i XI liść sporofitu — 7th, 10th, and 11th fronds of sporophyte;
4. Odcinek I rzędu IV liścia — Primary segment of 4th frond; 5. Odcinek I rzędu XI liścia — Primary segment of 11th frond; 6. i 7. Łuseczki z nasady ogonka IX liścia — Ramenta from the petiole base of 9th frond; 8. Włosek gruczołowy z brzusznej powierzchni blaszki — Glandular hair from the ventral surface of lamina;
9. Szczeciniaste włoski z brzusznej powierzchni blaszki — Bristles from the ventral surface of lamina; 10. *Thelypteris oreopteris*. Łuski u nasady ogonka i ogruczołony brzeg łuski — ramenta from the petiole base and glandular margin of ramentum;
11. Kształty łusek — Shape of ramenta

TABLICA IV — PLATE IV

Habitus i unerwienie górnych odcinków II rzędu z listków dolnych

I rzędu rodzaju *Dryopteris* i *Thelypteris*

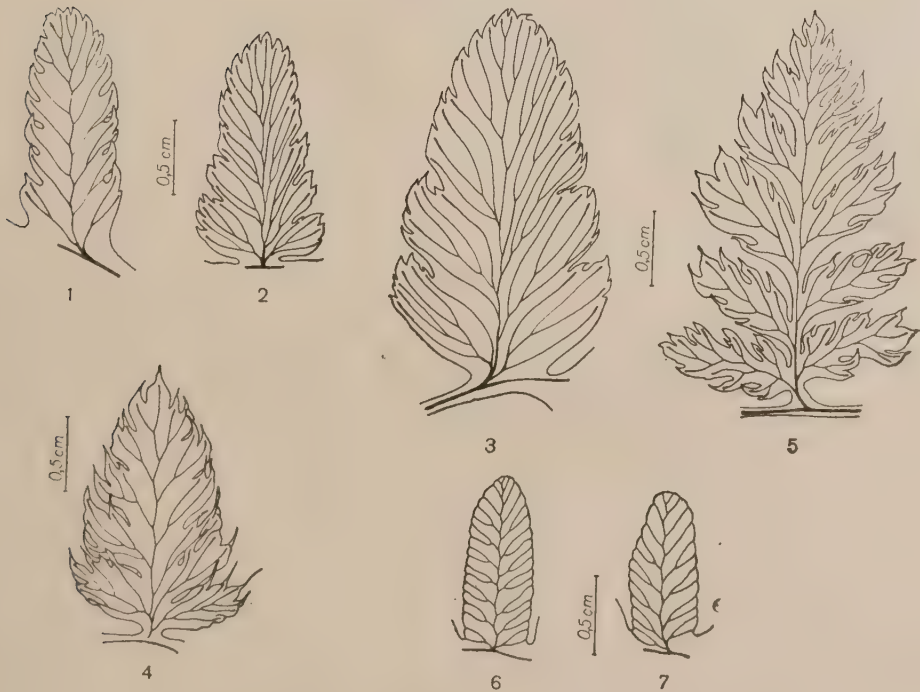
Habitus and venation of upper secondary segments of lower primary leaflets in the genera *Dryopteris* and *Thelypteris*

- 1 i 2. *Dryopteris filix mas* — zmienność formy i unerwienia — variability of forms and venation; 3. *Dryopteris cristata*; 4. *Dryopteris spinulosa*; 5. *Dryopteris austriaca*;
6. *Thelypteris palustris*; 7. *Thelypteris oreopteris*

TABLICA III



TABLICA IV

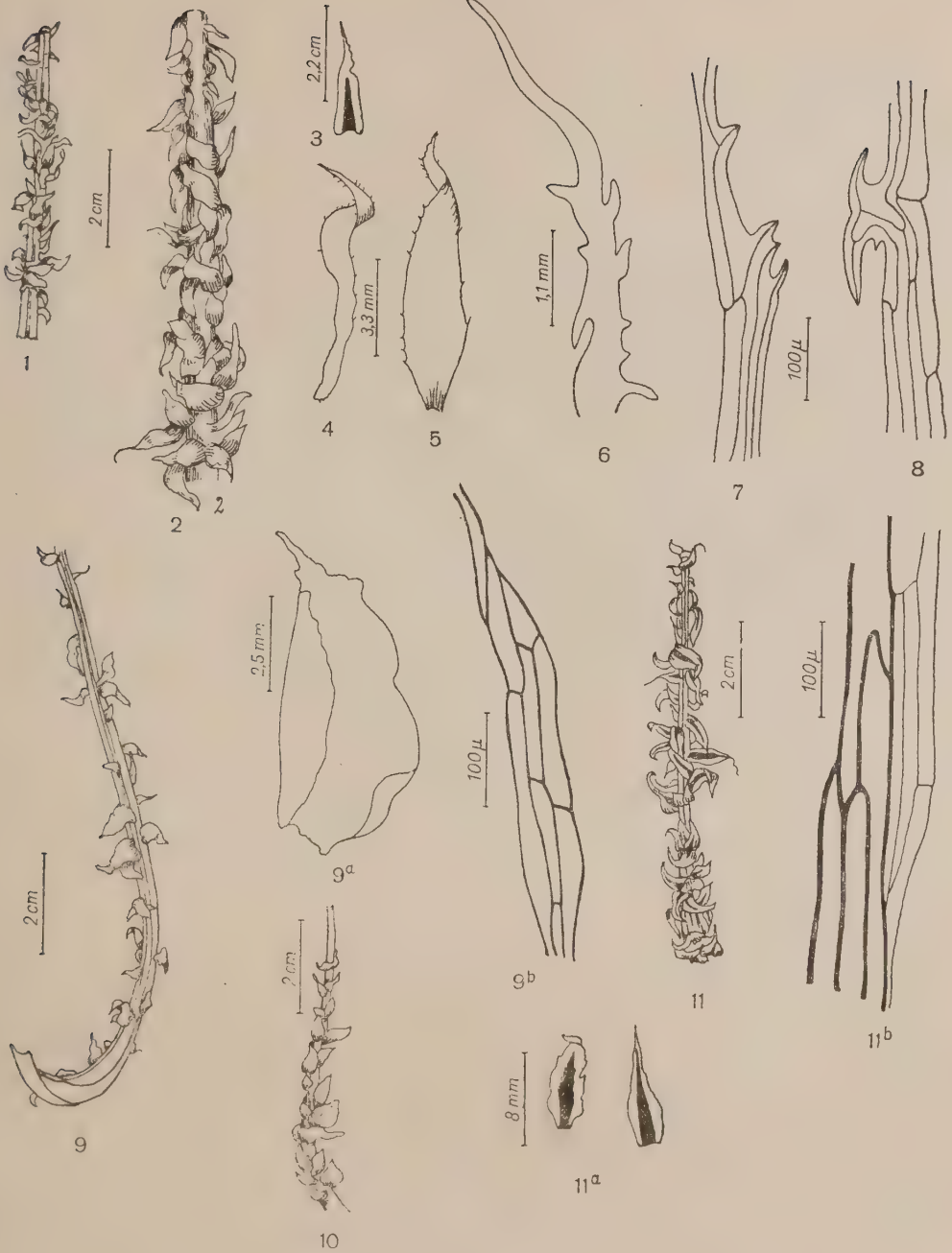


TABLICA V — PLATE V

Łuski u gatunków rodzaju *Dryopteris*
Ramenta in species of the genus *Dryopteris*

1—8. *Dryopteris filix mas*: 1 — łuski u nasady ogonka, okaz z Tatr — Ramenta on petiole base, specimen from the Tatra Mts. — 2 — to samo, okaz z Ogrodu Botan. U. W. — Ditto, specimen from the Warsaw University Botanical Garden — 3, 4, 5 — łuski z ogonka, ramenta from petiole — 6 — łuska z nerwu na brzusznej stronie blaszki, ramenta from vein on the ventral side of lamina — 7, 8 — obrzeżenie łusek, margins of ramenta; 9. *Dryopteris spinulosa*. Łuski u nasady ogonka. a — łuska; b — brzeg łuski — Ramenta from the petiole base. a — ramentum; b — ramentum margin; 10. *Dryopteris cristata*. Łuski u nasady ogonka — Ramenta from petiole base; 11. *Dryopteris austriaca*. Łuski u nasady ogonka. a — kształt łusek; b — brzeg łuski — Ramenta from petiole base. a — shape of ramenta; b — ramentum margin

TABLICA V

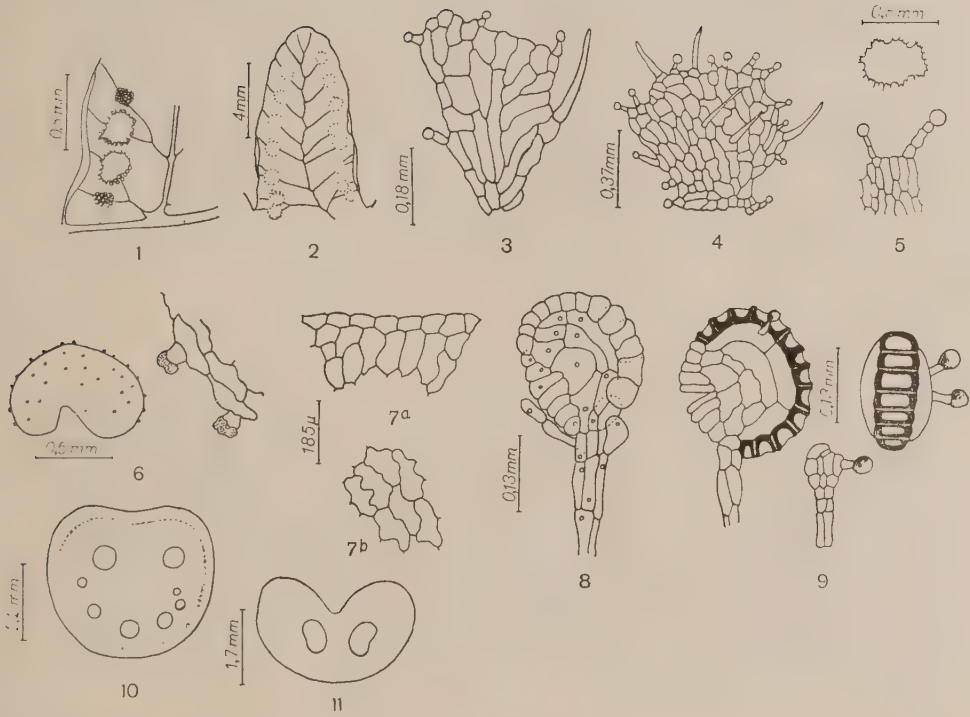


TABLICA VI — PLATE VI

Sorusy, indusia, przekroje ogonków
Sori, indusia, and sections of petioles

1. Sorusy u *Thelypteris palustris* — Sori in *Thelypteris palustris*; 2. Sorusy u *Thelypteris oreopteris* — Sori in *Thelypteris oreopteris*; 3. 4. Młode i starsze indusium u *Thelypteris palustris* — Young and older indusia of *Thelypteris palustris*; 5. Indusium i włoski brzeżne na nim u *Thelypteris oreopteris* — Indusium and glandular hairs of *Thelypteris oreopteris*; 6. Indusium i włoski gruczołowe u *Dryopteris austriaca* — Indusium and glandular hairs of *Dryopteris austriaca*; 7. Komórki brzeżne (a) i środkowe (b) tego indusium — Marginal (a) and medial (b) cells of the same indusium as in 6; 8. Młoda zarodnia *Dryopteris filix mas* — Young sporangium of *Dryopteris filix mas*; 9. Młode i dojrzałe zarodnie *Thelypteris palustris* — Young and mature sporangium of *Thelypteris palustris*; 10. Liczba i układ steli w ogonku *Dryopteris filix mas* — Number and arrangement of steles in petiole of *Dryopteris filix mas*; 11. Układ steli w ogonku *Thelypteris palustris* — Arrangement of steles in petiole of *Thelypteris palustris*

TABLICA VI



TABLICA VII — PLATE VII

Zarodniki

Spores

1. *Dryopteris filix mas*; 2. *Dryopteris cristata*; 3. *Dryopteris austriaca*; 4. *Dryopteris spinulosa*; 5. *Thelypteris palustris*; 6. *Thelypteris oreopteris*



1

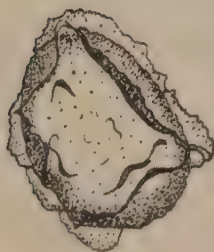
37 μ



2

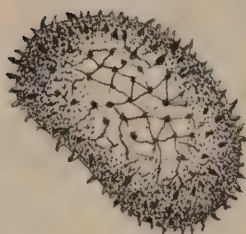


3



4

30 μ



5



6

Rozwój i budowa pyłku oraz liczba chromosomów u *Bosea cypria* Boiss (Amaranthaceae)

Chromosome number and pollen grain development in Bosea cypria Boiss (Amaranthaceae)

M. ZENKTELER

I. WSTĘP

Bosea cypria Boiss. według podziału systematycznego Englera (1934) należy do rodziny *Amaranthaceae*. Jest to jeden z bardzo ciekawych endemicznych gatunków flory Cypru. Poza tym gatunkiem występują jeszcze na świecie tylko dwa z tego rodzaju: w Himalajach *Bosea amherstiana* (Wall.) Hook oraz na Wyspach Kanaryjskich — *Bosea yervamora*. Engler podaje, iż na ogólną ilość poznanych 64 rodzajów rodziny *Amaranthaceae* występuje: 28 rodzajów bylin, krzewinek, półkrzewów lub krzewów; 10 rodzajów krzewów i 2 rodzaje krzewów lub form drzewiastych. *Bosea cypria* jest małym krzakiem o grubych zimotrwałych liściach i wchodzi tu na Cyprze w skład makii. Okwiat złożony jest z 5 łusieczkowatych wolnych działek oraz 5 podobnych płatków. W kwiecie występuje 5 pręcików, 1 — jednokomorowy słupek o dwóch znamionach. Interesujący jest sposób otwierania się okwiatu: gdy pylniki są dojrzałe, to pod wpływem ogrzania przez promienie słoneczne następuje szybkie rozchylenie się listków okwiatu. Odbywa się to zwykle z rana pod wpływem pierwszych promieni słonecznych. Potem następuje szybki wzrost nitki pręcikowej i pręciki wkrótce zaczynają pylić. Kwiat przekwita i zamyka się tego samego dnia lub po 36 godzinach. Listki okwiatu stulają się, tak iż okwiat pokrojem swym przypomina pączek, z tą różnicą tylko, że nad szczytem okwiatu pozostają zasychające pręciki. U *Amaranthaceae* zapylanie następuje przez wiatr, a *Bosea cypria* mimo niepozornego okwiatu i braku zapachu zapylana jest przez owady. Owocem są czerwone jagody poszukiwane przez owady.

Embriologiczne badania różnych przedstawicieli rodziny *Amaranthaceae* przeprowadzili Kajale (1937 r. 1940) i Joshi (1937). Brak jednak

wszelkich bliższych badań embriologicznych rodzaju *Bosea*, z wyjątkiem krótkiej wzmianki podanej przez K a j a l e (1940), a dotyczącej budowy zalążka u *Bosea amherstiana*. Nawet to doniesienie jest niepełne i fragmentaryczne ze względu na nie wystarczającą ilość materiału do badań posiadanego przez autora.

Celem niniejszej pracy jest prześledzenie powstawania i budowy pyłków oraz stwierdzenie ilości chromosomów.

Podane opisy dotyczące morfologii rośliny i jej zakwitania oraz występowanie *Bosea* w oddzielnych, rozrzuconych centrach geograficznych zaczerpnąłem z pracy S. K r u p k o (1942) oraz z jego ustnych relacji. Materiał w postaci paków o różnych stadiach rozwojowych został zebrany i utrwalony na Cyprze przez prof. S. K r u p k o w 1941 r. i służył do niniejszej pracy.

II. TECHNIKA I METODY PRACY

Paki utrwalone w płynie Nawaszina i zatopione w parafinie krojono podłużnie i poprzecznie na mikrotonie na skrawki grubości 10μ . Używano następujących metod barwienia:

1. Metoda Feulgena (hydrolizowanie przez 10 min w 1 n HCl o temp. 60°C . Przed i po włożeniu skrawków do gorącego kwasu trzymano preparaty przez 2 min w zimnym 1 n HCl).

2. Metoda Feulgena z dobarwianiem zielenią jasną.

3. Fiolet krystaliczny z dobarwianiem oranżem G w olejku goździkowym.

Celem stwierdzenia substancji zapasowych w pyłkach stosowano następujące metody:

1. Na tłuszcze: Sudan III, Sudan czarny, kwas osmowy 1 i 2%.

2. Na skrobię: JKJ.

3. Na białka: reakcja biuretowa, ksantoproteinowa, Millona.

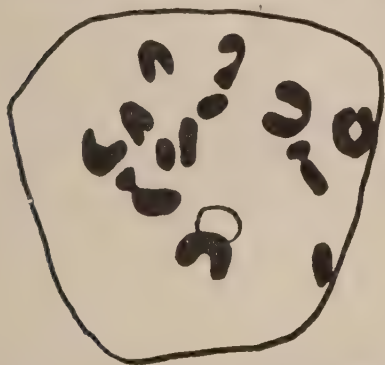
Obserwacje, rysunki i fotografie robiono przy pomocy mikroskopu Reicherta—Neozet z kondensorem Polyphos i z obiektywami fazowymi, oraz na tymże mikroskopie z kondensorem normalnym i obiektywem imersyjnym fluorytowym.

III. OBSERWACJE

Rozwój ziaren pyłku: Pylniki są dość duże, każdy składa się z dwóch worków, w których występują dwie komory. Komórki archesporialne różnicują się pod epidermą. Komórek tych jest kilkanaście i nie występują w szeregach. Ściana pylnika jest 4- lub 5-warstwowa (fot. 1). Zgrubienia poprzeczne w endotecjum pojawiają się wtedy, gdy pyłki są

2-jądrowe (fot. 9). Dwie warstwy komórek przejściowego pokładu widoczne są w niektórych pylnikach, ale tylko w okresie wczesnego ich rozwoju. Warstwy te zanikają dość wcześnie.

Ostatnia warstwa wewnętrzna granicząca z komórkami macierzystymi staje się warstwą tapetową. Komórki tapetum są początkowo 1-jądrowe; podczas I podziału meiotycznego stają się 2-jądrowe drogą normalnej mitozy bez występowania cytokinezy. Ilość jąder jest duża. Z początku w komórkach 1-jądrowych jąder jest od 1 do 2; w tapetum 2-jądrowym spotyka się do 8 jąder. W żadnym preparacie nie spotkano tapetum 2-warstwowego. Komórki tapetum trwają nie naruszone, aż do czasu cytokinezy komórek macierzystych pyłku; od tego momentu zaczynają się one kurczyć. Przy zanikaniu tapetum kurczące i malejące jądra wybarwiają się bardzo intensywnie metodą Feulgena. Zabarwienie jest znacznie silniejsze od zabarwienia jąder w pozostałych tkankach (fot. 10). Tapetum jest typu sekrecyjnego. Komórki archesporialne dzielą się mitotycznie na komórki macierzyste pyłków. W mejozie zaobserwowano poszczególne stadia podziałowe z wyjątkiem wyraźnego pachetynu. Nici



Ryc. 1. Diakineza (reakcja Feulgena). 2670 $\times$ — Diakinensis (Feulgen's react.). 2670 $\times$



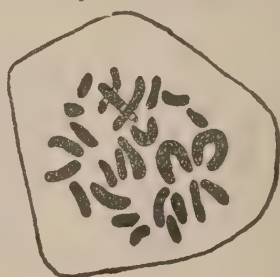
Ryc. 2. Metafaza I podziału meiotycznego (reakcja Feulgena). 2250 $\times$
The I meiotic metaphase (Feulgen's react.). 2250 $\times$

leptotenowe w większości preparatów są bardzo skurczone i zbite. Niektóre jednak pylniki po zastosowaniu metody Feulgena dawały obrazy ładnie rozłożonych chromonem (fot. 2, 3a, 3b, 4). Liczne stadia diakinez służyły do rysowania i rachowania bivalentów (fot. 5, rys. 1). Porachowano bivalenty na 50 przykładach i na tej podstawie ustalono ich ilość na 13. Spotykano też liczby 14 i 15 (ok. 5%), które uważamy jako zakłócenia meiotyczne, prawdopodobnie zależne od powstawania pewnej ilości monowalentów. Płytki metafazalne I podziału (rys. 2, fot. 6) złożone są z bivalentów grubych i na ogół krótkich, w ilości 13.

Powstawanie tetrad jest typu równoczesnego; pyłki ułożone są głównie tetrahedralnie, ale zdarza się też układ izobilateralny (fot. 7, 8). W młodych pyłkach jądro leży w środku komórki. Wkrótce zwiększa się ilość cytoplazmy, wykształca się błona i w ziarnie pojawiają się wakuole. W pyłkach jednojądrowych jądro jest duże i przybiera często postać soczewki (fot. 11). W pyłkach 2-jądrowych jądro komórki generatywnej jest mniejsze i barwi się znacznie silniej po zastosowaniu reakcji Feulgena od jądra komórki wegetatywnej. Reakcja Feulgena z podbarwianiem zielenią jasną pozwala wyróżnić w pyłku komórkę generatywną; gęstsza warstwa na zielono wybarwionej cytoplazmy przylega do jądra generatywnego (fot. 14, rys. 3). Kiedy jądro generatywne podzieli się na dwa jądra plemnikowe, wakuoli już nie widać i ziarno pyłku jest całkowicie wypełnione cytoplazmą. Powstałe jądra plemnikowe barwią się intensywnie metodą Feulgena; jądro wegetatywne tą metodą nie barwi się wcale lub słabo (fot. 12, 15a, 15b. Fotografia 12 zrobiona jest przy pomocy kontrastu fazowego; dlatego jądro wegetatywne kształtu zakrzywionego ciała wydaje się podobnie silnie wybarwione jak jądro plemnikowe). W ją-



Ryc. 3. Pyłek 2-komórkowy: komórka generatywna i wegetatywna (reakcja Feulgena, zieleń jasna). 1900 $\times$ — Pollen grain: a generative nucleus and cell, the tube nucleus (Feulgen's react., light green). 1900 $\times$



Ryc. 4. Metafaza mitotyczna, (fiolet krystaliczny). 2250 $\times$ — The chromosomes of mitotic metaphase (crystal violet). 2250 $\times$

drach plemnikowych zaobserwowano jąderka. Egzyna i intyna wykształcają się wcześniej i są już obecnie w pyłkach 1-jądrowych. Egzyna jest grubsza od intyny i należy do typu „psilate”. Stwierdzono występowanie 10 por.

Wszelkie próby wykrycia ciał zapasowych w pyłkach nie dały żadnych rezultatów. Przeciętna średnica pyłków wynosi 18 μ .

Nie zaobserwowano na żadnym preparacie pyłków leżących na znamionach słupka i wytwarzających łagiewki.

Liczba chromosomów: Celem ustalenia liczby chromosomów

badano podziały mejotyczne komórek macierzystych pyłków i mitozy występujące w komórkach archesporialnych, w epidermie pylnika, oraz w komórkach tapetum 2-jądrowego. Na podstawie podziałów mejotycznych ustalono liczby biwalentów na 13 (rys. 2, fot. 6). W płytkach metafazalnych mitozy stwierdzono 26 chromosomów (rys. 4). W komórkach tapetum 2-jądrowego zaobserwowano niekiedy podział jąder i wówczas ilość chromosomów w metafazie wynosiła około 52. Wskazywałoby to na prawdopodobieństwo występowania w tapetum tetraploidalnych jąder. W badanym materiale dużą trudność stanowiło odróżnienie poszczególnych chromosomów metafazalnych w mitozie ze względu na ich silne zbicie i przeplatanie się. Dlatego też nie zdołano morfologicznie opisać chromosomów i uszeregować ich w idiogramy.

Uwagi dotyczące budowy zalążków

W jednokomorowym słupku wykształca się jeden zalążek anatropowy. Występują dwa integumenty, z których wewnętrzny tworzy mikropyle. Tkanka nucellusa jest dobrze wykształcona. Na zbadanych licznych słupkach w różnych stadiach rozwojowych — od bardzo wczesnych do słupków z paków przekwitłych — nie stwierdzono powstawania woreczka zalążkowego. Nie zaobserwowano również wykształcania się komórek archesporialnych. Na niektórych preparatach zauważono, iż zalążki nie wytwarzały integumentów i przybierały postać buławy, nie tworząc zalążka typu anatropowego. Zapewne w materiale zebranym tego roku (1941) zalążki były sterylne.

IV. DYSKUSJA

Przeprowadzone obserwacje nad mikrosporogenezą u *Bosea cypria* stanowią poszerzenie wiadomości uzyskanych przez K a j a l e i J o s h i (l.c.) z badań nad różnymi przedstawicielami rodziny *Amaranthaceae*. Wiele z obserwacji nad *Bosea cypria* pokrywa się z wynikami badań powyższych autorów, chociaż należy jednak zwrócić uwagę na pewne różnice i stwierdzić, że w wykształceniu się pylnika w stadiach wczesnych u *Bosea cypria* pojawia się 4—5 warstw komórek na zewnątrz od archesporu oraz że przejściowy pokład ścienny jest 1 lub 2-warstwowy. Powyżsi autorzy u badanych przedstawicieli widzieli tylko jedną warstwę przejściową. Nie zauważono u *Bosea* układu komórek archesporialnych w szeregi. Prace K a j a l e podkreślają pewne uporządkowanie i uszeregowanie tychże komórek. Stwierdzono też występowanie w jednojądrowych komórkach tapetum więcej niż jednego jąderka, podobnie jak u *Cyathula tomentosa* (K a j a l e, 1940); to zdarza się według autorów rzadko. W obecnej pracy

zwrócono szczególną uwagę na fakt, iż przy zastosowaniu reakcji Feulgena jądro generatywne w pyłkach oraz jądra plemnikowe wybarwiają się bardzo silnie. Jądro komórki wegetatywnej w pyłkach 2-jądrowych i 3-jądrowych barwi się słabo lub wcale. Wyjaśnieniem tego faktu zajmowali się niektórzy autorzy. Według Sterna (1959) następuje tu wzrost od 25 do 50% rozpuszczalnych desoksyrybonukleozydów. Jest wciąż kwestią sporną skąd pochodzi DNA w powstających i rozwijających się pyłkach. Prawdopodobnie nie tworzy się tu *de novo* i dlatego należy szukać źródeł pochodzenia jego w komórkach leżących poza obrębem pyłku. Cooper (1952, wiadomość zaczerpnięta z pracy Linskens H. 1958), na podstawie obserwacji nad mejozą w pylnikach u *Lilium henryi* i *L. regale* uważa, iż DNA przechodzi z tapetum do komórek macierzystych pyłku. Te cząstki substancji barwiące się metodą Feulgena, które według Coopera przechodziły z tapetum do powstających pyłków, inni autorzy — jak twierdzi Vasil (1959) — uważali za artefakty powstałe na skutek utrwalania materiału. Linskens (1958) stwierdził u *Lilium henryi*, że w okresie początkowej profazy komórki macierzystej pyłków DNA wydzielane przez degenerujące komórki tapetum, pojawiają się w postaci nukleotydów i innych składników. Składniki te są powtórnie syntetyzowane przez komórki macierzyste pyłków.

W obserwacjach nad pyłkami u *Bosea cypria* zauważono, iż jądra komórek tapetum przy zastosowaniu reakcji Feulgena w miarę ich dalszego kurczenia się i zmniejszania wybarwiają się coraz to intensywniej na kolor czerwony. Resztki komórek tapetum, po sformowaniu się już pyłków 3-jądrowych, są często dostrzegalne tylko dzięki pozostałości fragmentów skurczonych i zniekształconych jąder przylegających do endotecjum.

Atlas chromosomów Darlingtona (1955) podaje liczby chromosomów tylko dla kilku rodzajów rodziny *Amaranthaceae*. Liczby te są dość zmienne i dla poszczególnych rodzajów różne. Najmniej, gdyż $2n = 12$ posiada *Digera*, a najwięcej $2n = 42$ *Achyranthes*. Żaden z wymienionych rodzajów nie ma liczby $2n = 26$, jaką obecnie stwierdzono u *Bosea cypria*.

Zalążki u *Bosea cypria* okazały się typu anatropowego wtedy, gdy u reszty zbadanych przedstawicieli rodziny *Amaranthaceae* dotychczas znajdowano typ kampylotropowy.

V. STRESZCZENIE WYNIKÓW

Na podstawie zebranych przez prof. S. Krupków pyłków *Bosea cypria* na Cyprze w 1941 r. prześlędzono rozwój i budowę pyłków oraz liczbę chromosomów tego gatunku.

Z przeprowadzonych badań można wyciągnąć następujące wnioski:

1. Komórki macierzyste pyłków dzieląc się mejotycznie wytwarzają

pyłki 3-jądrowe. Powierzchnia pyłków jest gładka, egzyna należy do typu „psilate“, ilość por wynosi 10.

2. Opisano budowę jądra vegetatywnego, generatywnego i jąder plemnikowych. Zwrócono uwagę na różnice w zabarwieniu się tych komórek po zastosowaniu metody Feulgena. Intensywne zabarwienie jądra generatywnego i jąder plemnikowych, a słabe — lub w ogóle brak zabarwienia — jądra vegetatywnego wykazują, iż w jądrze generatywnym i w jądrach plemnikowych występuje znacznie wyższa koncentracja DNA niż w jądrze vegetatywnym.

3. Liczba bivalentów w mejozie wynosi 13, a liczba chromosomów w płytkach metafazalnych mitozy 26.

4. W badanym materiale nie stwierdzono wykształcenia się woreczka zalążkowego. Zalążki są sterylne.

5. W pracy podano kilka szczegółów dotyczących budowy kwiatu, oraz właściwości zakwitania i zapyłania u *Bosea cypria*.

Panu Prof. drowi S. Krupko za dostarczenie materiału, oraz udzielanie wielu cennych porad i wskazówek podczas wykonywania pracy składam serdeczne podziękowania.

Katedra Botaniki Ogólnej

Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu

(Wpłynęło 15.XI.1959 r.)

SUMMARY

The buds of *Bosea cypria* in different development's stages were collected, fixed in Nawaschin's fluid and embedded by Prof. S. Krupko during his staying in Cyprus for some months in 1941. Sections were cut 10 μ thick. The anther wall is 4 or 5 layers thick. The hypodermal layer forms the endothecium and the innermost one develops into the tapetum. The cells of the tapetum are binucleate. The middle layer disappears early. The archesporium consists of several cells. The pollen mother cells divide simultaneously and the young microspores are usually arranged in a tetrahedral or sometimes in a isobilateral fashion. The mature pollen grains are 3-nucleate. The generative nucleus and the sperms stain very deeply by Feulgen method. The tube nucleus doesn't stain by it or stains very weakly. This is probably due to a great concentration of DNA. The pollen grains are smooth, the number of pores is 10. There is no indication in the pollen grains of the presence of starch or fats. The ovules are anatropous. There are 2 integuments; the inner one is forming the micropyle. The ovules remain in all stages of flowers completely sterile, therefore the development of embryo sack was not observed. The number of bivalents in the I meiotic metaphase is 13. The chromosome number of mitotic metaphase plates in male archespor and in epiderm of young anther is 26. The results of the present research are similar to Cajale and Joshi ones concerning different species of *Amaranthaceae*.

Acknowledgments: I wish to express my thanks to Prof. dr. S. Krupko for the material of *Bosea cypria* and for valuable advices and supervision throughout the course of my work.

Department of General Botany
Adam Mickiewicz University, Poznań

LITERATURA

- Darlington C., D., Wylie A. P., 1955, Chromosome Atlas of Flowering Plants. Engler A., 1934, Die Natürlichen Pflanzenfamilien, t. 16c, wydanie drugie, 7—85.
- Foster T. S., Stern H., 1958, Soluble deoxyribosidic compounds in relation to duplication of deoxyribonucleic acid, *Science* 128: 653—654.
- Geitler L., 1935, Beobachtungen über die erste Teilung in Pollenkorn der Angiospermen, *Planta* 24: 361—386.
- Joshi A. C., Kajale L. B., 1937, Fertilisation and seed development in *Amaranthaceae*, *Proceed. of the Indian Acad. Sc.* 5 (3) Sec. B: 91—100.
- Kajale L. B., 1940, A contribution to the embryology of the *Amaranthaceae*, *Proceed. National Inst. Sc. India* 6, (4): 597—625.
- Kajale L. B., 1935, The female gametophyte of *Alternanthera Sessilis* R. *Proceed. of the Indian Acad. Sc.* 2, (5), sec. B; 476—480.
- Kajale L. B., 1937, Embryology of *Achyranthes Aspera* Linn. *Proceed. of the Indian Acad. Sc.* 5, (5): 195—205.
- Kajale L. B., 1937, The antipodals of *Pupalia Lappaceae* Juss, *The Current Science*, 6 (5): 222.
- Krupko St., 1942, Uwagi o florze Cypru, *Kosmos*, Tel-Aviv.
- Linskens H. F., 1958, Über die Änderung des Nukleinsäuregehaltes während der Pollenmeiose und Pollenentwicklung von *Lilium Henryi*, *Acta Botanica Neerlandica*, 7: 61—68.
- Maheshwari P., 1950, An introduction to the embryology of Angiosperms.
- Schürhoff P. N., 1926, Die Zytologie der Blütenpflanzen, 527—29.
- Stern H., 1959, Mitosis and metabolic organization. *Bot. Rev.* 25, (2): 351—84.
- Vasil I. K., 1959, Nucleic acids and survival of excised anthers in vitro. *Science*, 129, (3361): 1487—1488.

TABLICE I—II — PLATE I—II

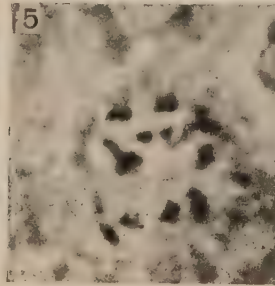
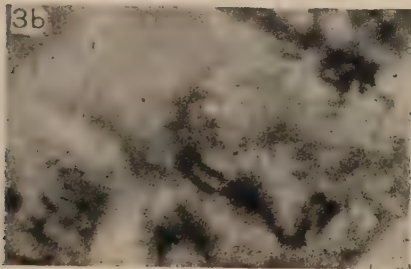
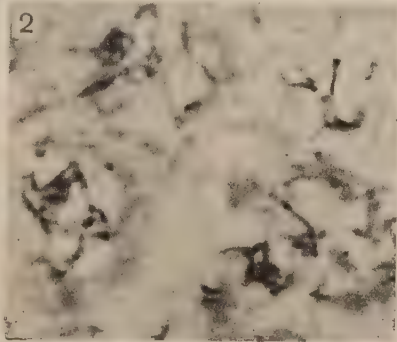
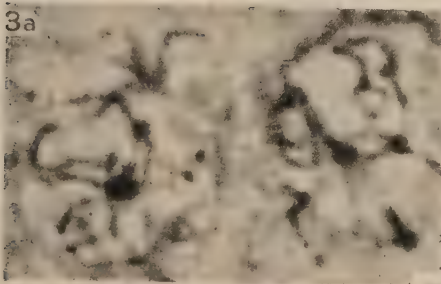
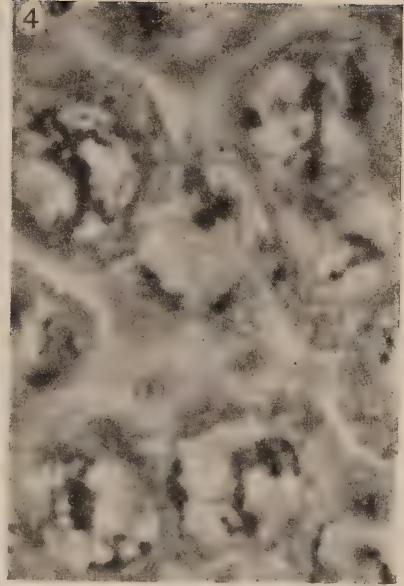
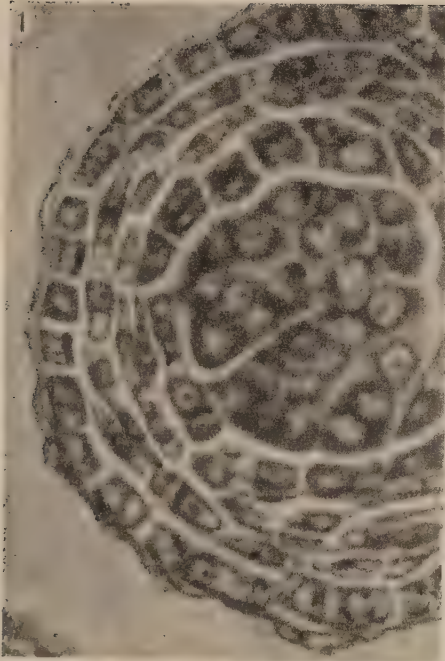
TABLICA I — PLATE I
Bosea cypria Boiss.*:

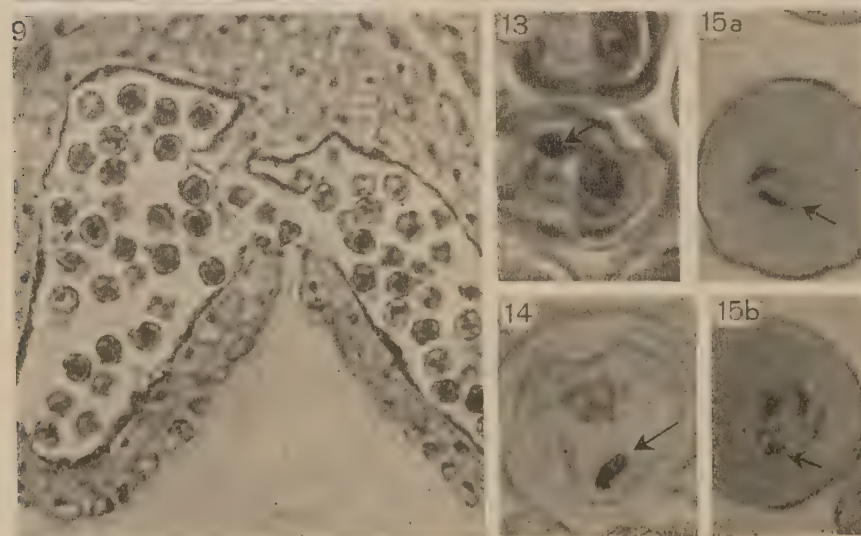
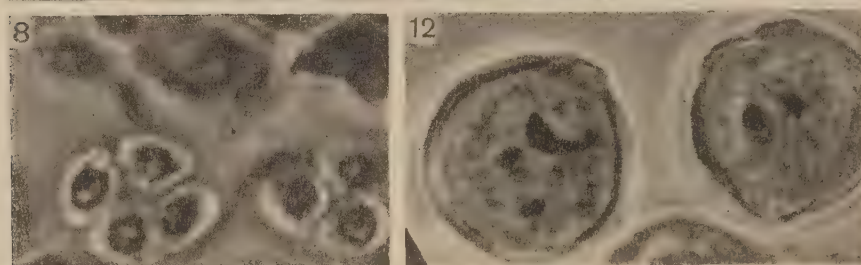
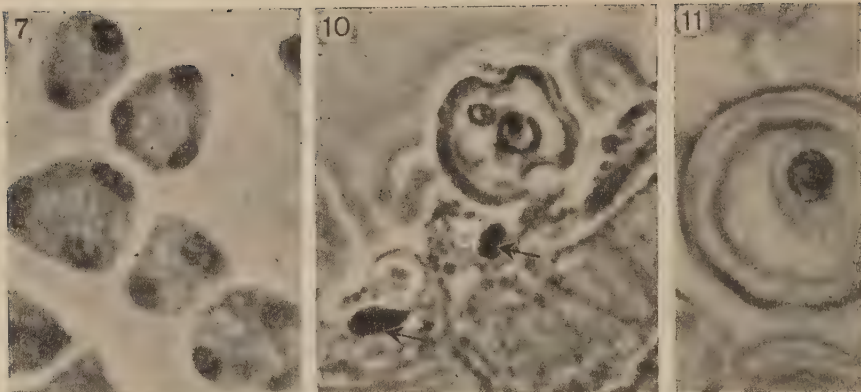
1— pięć warstw ściany pylnika (reakcja Feulgena) 880 ×; 2 — leptoten (reakcja Feulgena) 1900 ×; 3a, 3b — zygoten (reakcja Feulgena) 2650 ×; 4 — diploten (reakcja Feulgena) 1900 ×; 5 — diakineza (reakcja Feulgena) 1500 ×; 6 — I metafaza mejozy (reakcja Feulgena) 1900 ×;

1 — five layers in the anther wall (Feulgen's react.) 880 ×; 2 — leptotene (Feulgen's react.) 1900 ×; 3a and 3b — zygotene (Feulgen's react.) 2650 ×; 4 — diplotene (Feulgen's react.) 1900 ×; 5 — diakinesis (Feulgen's react.) 1500 ×; 6 — the I meiotic metaphase (Feulgen's react.) 1900 ×;

* Fotografie 1—6: mikroskop z kontrastem fazowym.

* Photos fig. 1—6: phase contrast.





TABLICA II — PLATE II

Bosea cypria Boiss.*:

7 — telofaza II mejozy (reakcja Feulgena) 1650 ×; 8 — układ izobilateralny i tetrahedralny (reakcji Feulgena) 1650 ×; 9 — endotecjum i pyłki 2-jądrowe (fiolet kryształiczny) 250 ×; 10 — silnie wybarwione jądra w zanikających komórkach tapetum (reakcja Feulgena) 1060 ×; 11 — pyłek 1-jądrowy, jądro w kształcie soczewki (reakcja Feulgena) 1900 ×; 12, 15a, 15b — pyłek 3-jądrowy, jądra plemnikowe silnie wybarwione, słabo widoczne jądro wegetatywne (reakcja Feulgena) 1900 ×; 13, 14 — pyłek 2-jądrowy, silnie wybarwione jądro komórki generatywnej (reakcja Feulgena) fot. 13 : 1900 ×, fot. 14 : 1650 ×

7 — the second meiotic telophase (Feulgen's react.) 1650 ×; 8 — tetrahedral and isobilateral tetrads (Feulgen's react.) 1650 ×; 9 — fibrous endothecium and two nucleus in pollen grain (crystal violet) 250 ×; 10 — deeply stained nuclei in disappearing tapetum (Feulgen's react.) 1060 ×; 11 — uni nucleate pollen grain; the nucleus in a lenticular's shape (Feulgen's react.) 1900 ×; 12, 15a, 15b — three nucleate pollen grain, the sperms stained very deeply, the tube nucleus weakly, arrow (Feulgen's react.) 1900 ×; 13, 14 — two nucleate pollen grain, the generatives cell nucleus deeply stained (Feulgen's react.), fig. 13: 1900 ×, fig. 14: 1650 ×

* Fotografie 7—13: mikroskop z kontrastem fazowym, fotografie 14, 15a, 15b: mikroskop z obiektywem fluorytowym.

* Photos fig. 7—13: phase contrast, photos fig. 14, 15a, 15b: fluorite objective.

Zawartość kwasu desoksyrybonukleinowego oznaczonego mikrofotometrycznie w jądrach pyłku *Tradescantia bracteata*

*Measurements of desoxyribose nucleic acid by Feulgen-photometry
in nuclei of pollen grains of Tradescantia bracteata*

B. RODKIEWICZ

Uderzającym zjawiskiem w rozwoju pyłku jest utworzenie i zróżnicowanie się jąder generatywnego i wegetatywnego. Pierwszy podział odbywa się w części przysciennej komórki i przeważnie charakteryzuje się asymetrycznym wrzecionem. W rezultacie podziału jedno jądro układa się w pobliżu ściany pyłku, a drugie ku środkowi komórki. Pomimo wcześnie występujących różnic morfologicznych jądra te początkowo wydają się być równocenne, a ich późniejsze przemiany są, według opinii większości autorów, determinowane przez cytoplazmę pyłku, wykazującą zdecydowaną biegunowość (według V a z a r t 1958). Cytoplazma komórki generatywnej jest stosunkowo homogenna, uboższa w białka i kwas rybonukleinowy od cytoplazmy komórki wegetatywnej. Równocенność jąder udało się zademonstrować doświadczalnie przez zastosowanie szoków temperatury (L a C o u r 1949), krótkich promieni (K o e l l e r 1943), a także w naturalnie występujących odmianach genetycznych (L a C o u r 1949). W wymienionych przypadkach biegunowość komórki została zniewelowana w sposób sztuczny lub dzięki pojawieniu się nowych czynników genetycznych i oba jądra rozwijały się według podobnego wzoru.

W normalnym rozwoju jądro generatywne wzbogaca się w KDN, zmienia kształt z kulistego w wydłużony, przesuując się jednocześnie ku środkowi pyłku. Jądro wegetatywne zwiększa objętość i traci stopniowo zasadochłonność (L i n d e m a n n 1956, W o o d a r d 1958, P o l j a k o v a 1958 i inni). Często opisywano wypadki obniżania się intensywności, a nawet całkowitego zniknięcia reakcji Feulgena już we wczesnych fazach rozwoju jąder wegetatywnych. Natomiast cytoplazma komórki wegetatywnej znacznie zwiększa zawartość białek i kwasu rybonukleinowego (P a i n t e r 1943, L a C o u r 1949, W o o d a r d 1958). W końcu jądro wegetatywne ulega całkowitej degeneracji.

Pomiary fotometryczne KDN w jądrach wegetatywnych dawały sprzeczne rezultaty. Część autorów stwierdzała w nich wyższy poziom KDN, niż powinien występować w haploidalnym jądrze, inni znajdowali haploidalną ilość KDN — 1c (Literatura zreferowana przy omawianiu wyników). Z badań tych jednak widać, że w początkowych fazach rozwoju pyłku jądro wegetatywne nie ubożeje w KDN, jak przypuszczano opierając się na ocenie mikroskopowej bez pomiarów obiektywnych. Wrażenie szybkiego zanikania reakcji Feulgena da się wyjaśnić rozrzedzaniem się barwnika w powiększającym się jądrze wegetatywnym i kontrastem pomiędzy jego słabym zabarwieniem a intensywnym zabarwieniem jądra generatywnego.

MATERIAŁ I METODY

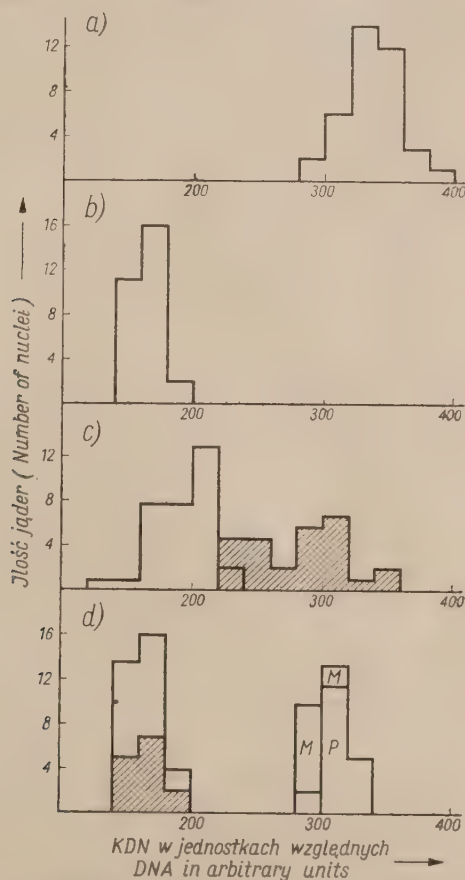
Pylniki i wierzchołki wzrostu korzeni *Tradescantia bracteata* hodowanej w doniczkach w szklarni utrwalano w płynie Carnoy (alkohol i kwas octowy 3:1). Materiał zbierano wczesną wiosną w marcu i jesienią we wrześniu. Następnie in toto w ściśle określonych warunkach przeprowadzano reakcję Feulgena (6 min. hydroliza w 1N HCl w t 60°C, 1½ godz. w odczynniku Schiffa, 30-minutowe płukanie w 3 zmianach płynu do płukania). Z zabarwionego materiału sporządzano gniecione preparaty w kropli gliceryny na szkiełku przykrywkowym. Względą zawartość KDN mierzono w densitometrze Deelego (Deeley 1955). Pomiary wykonywano jedynie na rozgniecionych jądrach o dość regularnym kolistym kształcie. Z tego powodu nie można było mierzyć jąder generatywnych w późniejszych fazach rozwoju. Dalszą trudność sprawiało dostatecznie dobre rozgniecenie obu jąder w jednym pyłku. W większości wypadków tylko jedno jądro nadawało się do pomiaru, toteż jedynie w nielicznych pyłkach udało się zmierzyć zawartość KDN w obu jądrach.

OBSERWACJE WŁASNE

Przeprowadzono dwie serie pomiarów fotometrycznych, jedną na materiale szklarniowym utrwalonym wiosną, a drugą również na materiale szklarniowym, ale utrwalonym jesienią. Obrazy morfologiczne rozwoju pyłku w obu materiałach były w zasadzie podobne i zgodne z opisami rozwoju pyłku u *Tradescantia bracteata* (La Cour 1949) i u *T. virginiana* (Gimesi i Maroti 1951).

Zawartość KDN w jądrach pyłków zebranych wiosną i jesienią kształtuje się w sposób nieco różny. Mikrospory z materiału wiosennego z utworzonymi grubymi ścianami (Tabl. Ia), posiadają jądra, które przy porównaniu z diploidalnymi komórkami wierzchołka wzrostu korzenia (histogram a), zawierają KDN w ilości odpowiadającej haploidalnej liczbie chro-

mosomów (histogr. b). Wielkość odczytów jest dość stała, jak wykazuje histogram, i nie zależy od zagęszczenia substancji jądrowej zmieniającego się wyraźnie w mikrosporach. Po podziale jądra mikrospory w obu jądrach potomnych znajdują się dokładnie (jak na pomiary fotometryczne) jednakowe ilości KDN (Tabela 1). W miarę różnicowania się w obu jądrach zwiększa się zawartość KDN (histogram c). W tym czasie albo oba jądra



Histogram 1. Zawartość KDN w jądrach trzykrotki po reakcji Feulgena. a — klasa 2c w merystemie korzenia; b — młode mikrospory; c — różnicujące się jądra wegetatywne i generatywne (zakreskowane) z pyłku zebranego wiosną; d — różnicujące się jądra wegetatywne i generatywne (zakreskowane) z pyłku zebranego jesienią. Profazy (P) i metafazy (M) pierwszego podziału w pyłku zebrany wiosną i jesienią.

DNA content in *Tradescantia* pollen after Feulgen reaction. a — 2c class in root meristem; b — young microspores; c — differentiating vegetative and generative (shaded) nuclei in spring pollen; d — differentiating vegetative and generative (shaded) nuclei in autumn pollen. Prophases (P) and metaphases (M) of first division in pollen gathered in spring and autumn

pozostają jeszcze kuliste (Tabl. Ie), albo generatywne ulega nieznacznemu wydłużeniu. Synteza KDN w jądrze wegetatywnym odbywa się wolniej niż w generatywnym, nie osiągając wartości 2c odpowiadającej diploidalnemu jądru. Nierównomierną szybkość syntezy demonstruje nie tylko histo-

Tabela 1

Zawartość KDN w jądrze wegetatywnym i generatywnym
pyłku trzykrotki. Pary jąder z jednego pyłku
KDN w jednostkach względnych
DNA in arbitrary units

Jądra wegetatywne Vegetative nuclei	Jądra generatywne Generative nuclei
165	169
150	146
147	152
140	150

gram c, ale jeszcze wyraźniej pomiary jąder znajdujących się w jednym pyłku (Tabela 2). Zawartość KDN w jądrach wegetatywnych jest nieco niższa w porównaniu z odpowiednimi im generatywnymi. Synteza KDN w jądrze generatywnym odbywa się jeszcze, zanim zmieniło ono

Tabela 2

Zawartość KDN w różnicujących się jądrach wegetatywnym
i generatywnym znajdujących się w jednym pyłku trzykrotki
Pyłek zbierany wiosną
KDN w jednostkach względnych
DNA in arbitrary units

Jądra wegetatywne Vegetative nuclei	Jądra generatywne Generative nuclei
220	320
217	290
210	273
203	305
195	290

kształt, tak że pomiar jest niemożliwy. W rezultacie syntezy jądra osiągają wartość 2c, natomiast w jądrze wegetatywnym nie zanotowano większej ilości KDN niż 1,3—1,4 c, nawet jeśli mierzono je w starszym nieco pyłku, gdzie jądra generatywne są wydłużone (Tabl. If). Jednak, jak widać, obserwuje się w jądrach wegetatywnych wyraźne podniesienie się ilości KDN w porównaniu z wartością haploidalną — 1c.

W materiale zebrany jesienią ani w jądrach wegetatywnych, ani w generatywnych w ciągu okresu różnicowania się, aż do utworzenia wydłużonego jądra generatywnego, nie zauważno istotnego wzrostu ilości KDN powyżej poziomu 1c (Histogram d). Być może w jądrze generatywnym synteza następuje już po zmianie kształtu, ale to nie było możliwe do sprawdzenia przy zastosowanej metodzie.

Metafazy i profazy (Tabl. I b, c) pierwszego podziału zarówno w materiale wiosennym, jak i jesiennym zawierają takie same ilości KDN, odpowiadają one wartości 2c. W anafazie (Tabl. Id) każda grupa chromosomów posiada 1c.

DYSKUSJA

Przedstawione dane pozwalają, jak się zdaje, na wytłumaczenie sprzecznych wyników otrzymywanych w pracach przy pomiarach mikrospektrofotometrycznych KDN w jądrach wegetatywnych niektórych gatunków trzykrotki i innych roślin.

Należy oczywiście pamiętać o niebezpieczeństwie interferencji białek, lub innych związków, z wynikami fotometrii po reakcji Feulgena. Taka możliwość poważnego zniekształcenia pomiarów zwiększa się szczególnie w wypadku porównywania obiektów, o których wiadomo lub przypuszcza się, że ich skład chemiczny różni się bardzo znacznie od siebie. Wydaje się, że powyższe zastrzeżenie w omawianej pracy nie jest specjalnie ważne. Porównuje się bowiem ze sobą nie tylko jądra generatywne i somatyczne, ale i wartości KDN jąder wewnątrz tych kategorii. W wielu momentach otrzymywano wyniki zgodne z założeniami teoretycznymi, na przykład zawartość KDN po mejozie wynosi 1c, w profazie podziału w mikrosporze 2c, również 2c komórek generatywnych jest takie same jak 2c komórek tkanki zróżnicowanej.

Pasteels i Lison (1951) nie stwierdzili zwiększania się ilości KDN w jądrach wegetatywnych *Tradescantia virginiana*, *Lilium croceum* i *Scilla nutans*. Opisują oni również równomierny rozdział KDN pomiędzy jądro wegetatywne i generatywne i wzrost ilości KDN w tym ostatnim do 2c. U *Tradescantia palludosa* jądro generatywne przekształca się z 1c na 2c (Swift 1950). Podobnie Woodard (1958) u tej samej rośliny obserwował wzrost w jądrze generatywnym z 1c do 2c przy jednoczesnym braku syntezy w jądrze wegetatywnym. Natomiast Bryan (1951) znalazł bardzo wysoką zawartość KDN w obu jądrach pyłku u tejże *T. palludosa*. Jądro wegetatywne według niego osiąga 3c, ale w telofazie pyłku; zupełnie odmiennie niż inni autorzy stwierdził on 2c KDN w każdym jądrze potomnym. Moses i Taylor (1955) wzmiankują wzrost ilości KDN w jądrach wegetatywnych trzykrotki do 1,4c. Oznaczanie chemiczne

fosforu KDN w mikrosporach i dojrzałym pyłku *Lilium longiflorum* (Ogur i in. 1951) wskazują na duży wzrost ilości KDN. Komórki pyłku zawierały 7 razy więcej P z KDN niż haploidalne mikrospory.

Synteza KDN w jądrze wegetatywnym i początkowym okresie rozwoju jądra generatywnego u *Tradescantia bracteata* może być uzależniona od warunków zewnętrznych. W omawianym wypadku różnica w syntezie związana była prawdopodobnie z porą roku, w której dojrzewały rośliny, chociaż rosły one przez cały czas w szklarni.

Niejasne natomiast pozostaje znaczenie wzrostu ilości KDN w jądrze wegetatywnym, które z reguły nie ulega podziałowi (ale w rzadkich wypadkach może się dzielić) i często dość szybko degeneruje. Synteza KDN może się tu wiązać z intensywną syntezą białek i kwasu rybonukleowego w cytoplazmie komórki wegetatywnej. Związek, a nawet zależność tych procesów sugerowano niejednokrotnie. Zwiększenie się ilości KDN w jądrze wegetatywnym odbywa się być może na drodze endopoliploidyzacji, jakkolwiek takiego procesu do końca nie udało się prześledzić, zawartość bowiem KDN nie przekraczała liczby 1,3—1,4c.

STRESZCZENIE

Oznaczano fotometrycznie zawartość KDN w jądrach pyłku *Tradescantia bracteata*. W profazie i metafazie I podziału ilość KDN wynosi 2c, czyli odpowiada diploidalnej liczbie chromosomów. Jądra wegetatywne i generatywne otrzymują równe ilości KDN. W materiale zbieranym wiosną w obu jądrach odbywa się synteza KDN. Jądro generatywne osiąga poziom 2c, wegetatywne 1,3—1,4c. W materiale jesiennym nie zauważono syntezy ani w jądrach wegetatywnych, ani w początkowych fazach rozwoju jądra generatywnego.

Praca została wykonana w John Innes Horticultural Institution. Za udostępnienie aparatury autor dziękuje dyrekcji Instytutu, a za stypendium Min. Szkolnictwa Wyższego.

Katedra Anatomii i Cytologii Roślin UŁ
Łódź

(Wpłynęło: dn. 19.11.1959 r.)

SUMMARY

DNA content in successive stages of single nuclei in pollen of *Tradescantia bracteata* was measured by Feulgen photometry (Plate I a-f). The plants were cultivated in greenhouse and the anthers were fixed in March and September with alcohol and acetic acid (3:1). DNA was equally distributed between vegetative and generative nuclei (table I). In nuclei from spring material the synthesis of DNA takes place. In generative nucleus the rate of synthesis is faster (table 2); these nuclei reach the value of 2c, while vegetative nuclei — only 1.3—1.4c (histogr. c). In autumn material the increase of DNA-content was not observed in vegetative nuclei nor in generative-ones before their elongation (histogr. d). When evaluating the results obtained the possible influence of different nuclear substances on the photometric measurements of DNA must be considered. Specially dangerous are the comparisons of nuclei from different types of cells.

Author's sincere thanks are due to the John Innes Horticultural Institution for the disposal of all working facilities and apparatus as well as to the Ministry of Higher Education for scholarship.

Department of Plant Anatomy and Cytology
University of Lodz, Lodz, Poland

LITERATURA

- Bryan J. H., 1951, *Chromosoma* 4: 369—392.
Deeley E. M., 1955, *J. Sci. Instr.* 32: 263.
LaCour L. F., 1949, *Heredity* 3: 319—338.
Gimesi N., Maroti M., 1951, *Ann. Biol. Univ. Budapest* 1: 69—75.
Lindemann R., 1956, *Planta* 48: 2—23.
Moses M. J., Taylor J. H., 1955, *Expl. Cell Res.* 9: 474—488.
Ogur M., Erikson R. O., Rosen G. U., Sax K. B., Holden C., 1951, *Expl. Cell Res.* 2: 73—89.
Painter T. S., 1943, *Bot. Gazet.* 105: 58—68.
Pasteels J., Lison L., 1951, *Compt. rend. Ac. Sc. Paris* 233: 196.
Poljakova T. F., 1958, *Vestn. Leningr. Univ.* 3: 63—76.
Swift H., 1950, *Proc. Ntl. Ac. Sc. US.* 36: 643—654.
Vazart B., 1958, *Protoplasmatologia VII* (3a) Wien Springer pp. 158.
Woodard J. W., 1958, *J. Bioph. Biochem. Cytol.* 4: 383—389.

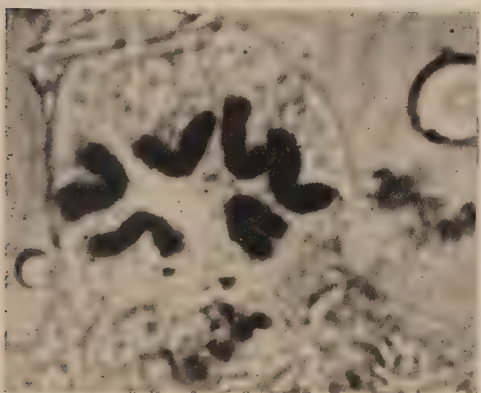
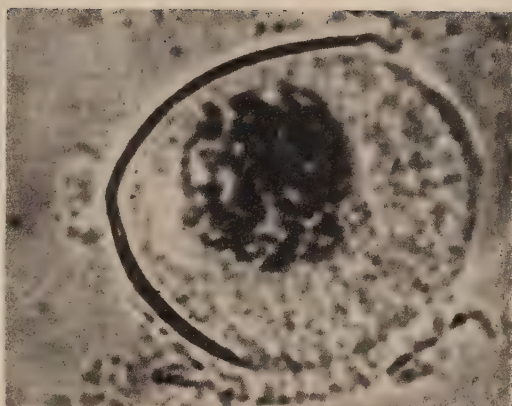
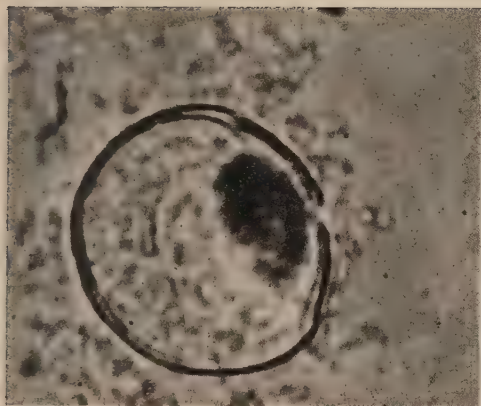
TABLICA I — PLATE I

Rozwój pyłku trzykrotki

a — mikrospora; b — profaza I podziału w pyłku; c — metafaza I podziału; d — anafaza I podziału; e — jądro wegetatywne i generatywne niedługo po zakończeniu podziału; f — zróżnicowane jądra wegetatywne i generatywne (Preparaty barwione Feulgenem. Zdjęcia wykonane spod tego samego powiększenia)

The development of *Tradescantia* pollen

a — microspore; b — prophase I of pollen mitosis; c — metaphase; d — anaphase I; e — vegetative and generative nuclei soon after the completion of mitosis; f — differentiated vegetative and generative nuclei. (Feulgen stained preparations. Photos of the same magnification)



Wpływ boru i fosforu na absorpcję i przemieszczanie sacharozy

*The influence of boron and phosphorus on the absorption
and translocation of sucrose*

Z. TURNOWSKA-STARCK

U większości roślin sacharoza stanowi formę transportową cukrów w tkankach sitowych (Loomis 1945, Turkina i Dubinina 1953, Kursanow i in. 1953, Turkina 1954, Kursanow, Wyskiebiencewa 1954, Wanner 1955, Zeigler 1956, Zimmermann 1957, Swanson, El-Shishiny 1958). Przenikanie cukrów przez błony plazmatyczne jest procesem endoergicznym, ściśle uzależnionym od metabolizmu komórek (Phillis, Mason 1937, Weatherley 1954, Harley, Smith 1956, Collander 1957, Pennel Weatherley 1958).

Niektórzy badacze przypuszczają, że cukry przenikają do komórek w postaci estrów z kwasem fosforowym (Dormer, Street 1949, Street, Lowe 1950), lub też przemieszczają się z komórki do komórki w postaci związków heksozofosforanowych (Wanner 1955). Rothstein (1954) wykazał powiązanie procesu fosforylacji z pobieraniem glukozy przez komórki drożdży.

Badania, dotyczące roli fosforu w aktywnym transporcie i przemieszczaniu przez sita, idą głównie w dwóch kierunkach: oznacza się estry sacharozo-fosforowe w roślinach i enzymy powodujące ich syntezę (Albaum 1956, Daudoroff 1943) lub też zawartość różnych estrów cukrowo-fosforowych w wiązках sitowo-naczyniowych, oraz aktywność fosfataz i fosforylaz w tkankach przewodzących (Kursanow, Wyskiebiencewa 1954, Bauer 1953, Kursanow, Turkina 1954, Sheil i in. 1953). U wielu roślin wspomniane enzymy są w tych tkankach bardzo aktywne, co nie przesądza jednak sprawy bezpośredniego udziału fosforu w przemieszczaniu cukrów w sitach lub w ich aktywnym przenikaniu w innych tkankach.

Säid (1948) podkreśla pewien związek pomiędzy stopniem zaopatrzenia roślin w fosfor i absorpcją sacharozy. W jego doświadczeniach absorpcja była nieznaczna w przypadku deficytu fosforu. ^{32}P przemieszczał się w większym stopniu, gdy go wprowadzano przez liście wraz z sacharozą (doświadczenia Barrier i Loomis 1957).

Wszystkie przytoczone badania nie rozstrzygają jednak roli fosforu w procesie przemieszczania cukrów.

W ostatnich latach coraz większą uwagę zwraca się na wpływ boru na te procesy.

Węglowodany tworzą z łatwością związki kompleksowe z kwasem borowym oraz z kwasem arylborowym (Zittle 1951, Calvin, Kressman 1957, Torssell 1956). Dotychczas jednak nie wyizolowano z roślin żadnego związku zawierającego bor, pomimo prób podejmowanych w tym kierunku (Winfield 1945a). Może to być wynikiem dużej labilności opisywanych związków.

Biorąc pod uwagę powyżej opisane własności boru, zbadane w doświadczeniach *in vitro*, i fakt gromadzenia cukrów w liściach (Johnston, Doore 1929, Scripture i in. 1945, White-Stevens 1938, Jakowlewa 1955, Odhnóff 1957, Neals 1959) oraz obniżenie ich zawartości w korzeniach w przypadku deficytu boru (White-Stevens 1938, Oren 1945, Wayne i in. 1956), wpływ boru na przemieszczanie wydaje się bardzo prawdopodobny. Liczni badacze przypuszczają, że bor odgrywa w tym procesie zasadniczą rolę (Gauch, Dugger 1953, 1954, Sisler i in. 1956, Szkolnik i in. 1958). Gauch i Dugger stwierdzili znacznie większą radioaktywność poszczególnych organów w przypadku wprowadzenia do roślin sacharozy wraz z borem, w porównaniu z roślinami, którym dostarczono samą sacharozę. Wspomniani badacze sądzą, że bor wpływa bądź na przemieszczanie cukrów w sitach, bądź też na aktywne przenikanie (active transport) poprzez błony plazmatyczne.

Żadna z tych prac nie daje jednak pełnego wyjaśnienia roli boru w tych procesach.

O możliwości wpływu boru na przemieszczanie cukrów świadczą też pośrednio i inne prace (Mitchell i in. 1953, Spurr 1957, Dugger 1957).

Skok (1957a, b, 1958) bardzo krytycznie odnosi się do wspomnianych wyżej teorii; we własnych doświadczeniach nie potwierdził wpływu boru na przemieszczanie cukrów radioaktywnych. Przypuszcza on (podobnie jak szereg innych autorów — Odhnóff 1957, Torssell 1956), że bor wpływa raczej na proces wzrostu. Zdaniem Skoka zahamowanie prze-

mieszczenia, w przypadku deficytu borowego, do wierzchołków wzrostu, może być wynikiem osłabienia aktywności najmłodszych komórek, które są ważnymi akceptorami węglowodanów.

Inni autorzy tłumaczą zahamowanie odpływu asymilatów z liści wykazujących deficyt boru, nekrotycznymi zmianami w tkankach przewodzących, a głównie we floemie.

Znacznie mniejsza ilość prac poświęcona jest badaniom wpływu boru na przepuszczalność protoplazmy lub też na aktywny transport.

O'Kelley (1957) wykazał nieznaczny wzrost absorpcji cukrów pod wpływem boru (doświadczenia prowadzono na ziarnach pyłku). Nelson i Gorham (1957) stwierdzili zwiększone przenikanie radioaktywnej glukozy do liści soi, jeżeli do roztworu dodano H_3BO_3 . Turnowska-Starck (1959) badała wpływ tego mikroelementu na absorpcję sacharozy przez epidermę cebuli. Nie stwierdzono tam jednak wyraźnego wpływu boru na przenikanie cukru do komórek.

Jak wynika z powyższego przeglądu literatury, zagadnienie wpływu boru na powyższe procesy nie jest dostatecznie wyjaśnione i wymaga dalszych, szczegółowych badań. Są one tematem niniejszej pracy.

METODYKA DOŚWIADCZEŃ

Doświadczenia prowadzono w ciągu trzech lat (1956, 1957, 1958) na odciętych liściach fasoli odmiany „Saxa“, pochodzących z tego samego piętra, w jednakowym stadium rozwojowym roślin. Liście te charakteryzowały się najcieńszą kutikulą, co wykazały doświadczenia Niewęgłowskiej prowadzone w Zakładzie Fizjologii Roślin SGGW. Był to zawsze pierwszy trójdzielny liść, który nie zakończył wprawdzie wzrostu, jednak osiągnął niemal swe końcowe rozmiary.

W pierwszym roku doświadczeń fasola rosła na poletkach, natomiast w następnych latach — w kulturach wodnych. Nasiona zaprawiano 0,1% sublimatem w ciągu trzech minut i wysiewano na szalkach Petriego, umieszczonych w termostacie, w temperaturze 25—28°C. Po kilku dniach kielkujące nasiona przenoszono do kielkowników z wodą wodociągową, a następnie do szklanych słoików ze szkła bezborowego o pojemności około 1 litra na pożywkę o następującym składzie:

na 1 wazon (4 rośliny), czyli 0,7 litra wody:

NH_4NO_3	—	0,4 g
$CaCl_2 \cdot 6H_2O$	—	0,1 g
K_2SO_4	—	0,25 g
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	—	0,25 g
$Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O$		0,2 g
NaCl		0,1 g

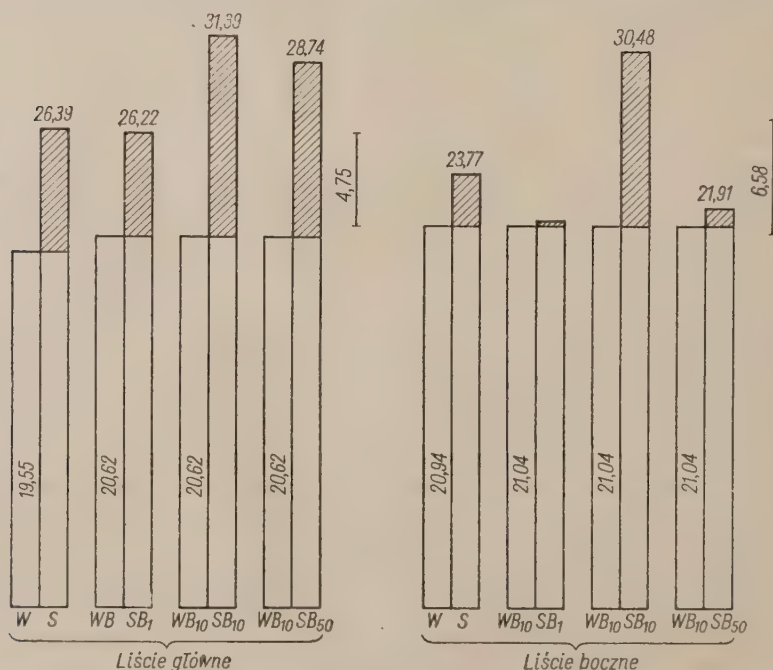
mikroelementy:

Zn	0,05 mg	jako $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
Cu	0,1 mg	jako $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
Mn	0,25 mg	jako $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
Mo	0,01 mg	jako $(\text{NH}_4)_6\text{MoO}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
Fe		jako cytrynian w ilości 10 mg

Zależnie od celu doświadczenia niektóre serie roślin hodowano na pożywkach ze zróżnicowaną dawką boru lub fosforu.

Część liści, po odcięciu od roślin, analizowano na zawartość węglowodanów, a pozostałe przetrzymywano w ciemności w ciągu 36 godzin w termostacie o temperaturze 26—28°C, w celu obniżenia poziomu węglowodanów. W tym czasie liście były zanurzone ogonkami w wodzie destylowanej. Po głodzeniu pobierano drugą kontrolną próbkę do analizy na zawartość węglowodanów.

W doświadczeniach prowadzonych w 1956 roku jeden z bocznych liści złożonego liścia fasoli odcinano, gdyż miał on stanowić kontrolę zawartości



Ryc. 1. Wpływ różnych dawek boru na absorpcję i przemieszczanie węglowodanów. Doświadczenie I/1956. Rośliny z pola. Zawartość węglowodanów w mg cukrów prostych na 1 g świeżej masy. (Część zakreskowana — wzrost zawartości cukrów)

cukrów w stosunku do pozostałego liścia bocznego. Ponieważ jednak te odcięte liście wędły (pomimo umieszczenia w wilgotnej atmosferze), we

wszystkich przytoczonych wynikach nie brano ich pod uwagę. Środkowy listek złożonego trójdzielnego liścia * fasoli zanurzano na 10 godzin do 10% roztworu sacharozy, a towarzyszący mu liść boczny zabezpieczano przed utratą turgoru. W tych warunkach liście przetrzymywano w ciemności w temperaturze 26—28°C. Po tym czasie liść główny wyjmowano z roztworu, płukano trzykrotnie wodą destylowaną i utrwalano w 80% alkoholu etylowym. Tak samo utrwalano i analizowano liść boczny, natomiast ogonków, w pierwszym roku doświadczeń, nie analizowano.

W większości przypadków doświadczenia prowadzono w czterech powtórzeniach.

W następnych latach zmieniono nieco metodykę doświadczeń. Do każdej próbki brano nie jeden, lecz 4 liście, co w większym stopniu pozwalało wyeliminować wahania w zawartości cukrów między poszczególnymi powtórzeniami badanych kombinacji. Zaniechano też odrywania jednego z bocznych listków. Blaszkę liścia głównego zanurzano w roztworze sacharozy lub w wodzie, w naczyniach z pleksiglasu o pojemności około 0,4 litra, po 8 liści w każdym naczyniu. Wszystkie naczynia umieszczono w termostacie w wilgotnej atmosferze. Część ogonka odcinano przed doświadczeniem, bezpośrednio przed zanurzeniem liści. Wodę używaną do przygotowania odpowiednich roztworów przewietrzano w ciągu 30 minut. Po ekspozycji liście płukano trzykrotnie wodą destylowaną i następnie część ich utrwalano we wrzącym 80% etanolu, a w pozostałych — oznaczano suchą masę. W obu przypadkach liście dzielono na trzy części: 1) liście główne, 2) liście boczne, 3) ogonki.

W doświadczeniach w 1958 roku suchą masę oznaczano w tych samych liściach co węglowodany. W tym celu, po ekspozycji, każdy liść dzielono na połówki przecinając je wzdłuż żyłki głównej. W jednych połówkach oznaczano suchą masę oraz zawartość boru lub fosforu, natomiast pozostałe utrwalano w etanolu i oznaczano w nich węglowodany, po odparowaniu etanolu w łaźni wodnej. Do takiego podziału liści upoważniły nas wstępne doświadczenia, w których wykazano niemal identyczną zawartość węglowodanów w obu połówkach liścia (różnice nie przekraczały 5%). Analizowane liście rozcierano przy pomocy szklanego homogenizatora (B o j a r k i n 1955), po czym poddawano hydrolizie 2% HCl w ciągu trzech godzin w temperaturze 100°C. Po zobojętnieniu roztworu do pH = 7, oznaczano sumę węglowodanów metodą F u j i t a A k i j i, D a n z o I w a t a k e (1931). W niektórych doświadczeniach w roku 1958 oznaczano również cukry proste i sacharozę (po hydrolizie inwertazą z drożdży). Bor oznaczano w suchej masie po spopieleniu w 450°C metodą kur-

* W dalszym ciągu ta część liścia fasoli nazywana jest liściem głównym.

kuminową (Dible, Berger, Truog 1954). Fosfor oznaczano po spaleniu na mokro metodą kolorymetryczną (Fiske, Subbarow 1925).

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Doświadczenia wstępne

Wstępne doświadczenia przeprowadzono na odciętych liściach fasoli rosnącej na żyznej glebie bielcowej. Rośliny wysiano 13.VIII, a zebrano do doświadczeń 18.IX. Po 36 godzinach przetrzymywania liści w ciemności umieszczono je w następujących roztworach na 10 godzin w ciągu nocy:

Woda	W
Woda + 10 mg B/l jako H_3BO_3	WB ₁₀
10% sacharoza	S
10% sacharoza + 1 mg B/l jako H_3BO_3	SB ₁
„ 10 „ „ „	SB ₁₀
„ 50 „ „ „	SB ₅₀

Doświadczenie przeprowadzono w 4 powtórzeniach. Zawartość węglowodanów w liściach przed i po głodzeniu (średnie z 2 powtórzeń) przytoczono w tabeli 1. W czasie głodzenia zawartość węglowodanów maleje.

Tabela 1

Zawartość węglowodanów w liściach fasoli przed i po głodzeniu (w mg cukrów prostych na 1 g świeżej masy)

	Przed głodzeniem	Po głodzeniu
Liść główny	31,85	18,69
Liść boczny	33,62	20,97

Po głodzeniu stwierdzono jeszcze pewne ilości skrobi (przy pomocy próby Sachs'a), co jest dowodem, że liście brane do doświadczeń nie wykazywały skrajnego głodu węglowodanowego. Zawartość węglowodanów w liściach różnych kombinacji po 10 godz. zanurzenia w opisanych roztworach ilustruje ryc. 1.

Przyrost cukrów w liściach głównych był dość znaczny we wszystkich kombinacjach. Dodatek boru do sacharozy spowodował większe przenikanie cukrów do liści głównych w porównaniu z kombinacją S tylko przy dawce 10 mg boru na litr, co jest statystycznie udowodnione przy $P = 0,05$. Pozostałe różnice leżą w granicach błędu doświadczenia. Przedział ufności w tym doświadczeniu jest duży, gdyż zarówno zawartość węglowodanów w poszczególnych liściach, jak i ilość cukrów pobranych z roztworów wahała się w szerokich granicach. Wyraźniej uwidacznia się wpływ dodatku boru na wzrost zawartości węglowodanów w liściach bocznych, będący

wynikiem przemieszczania cukrów. W kombinacji SB_{10} udowodniono statystycznie (nawet przy $P = 0,01$) przemieszczanie cukrów do liści bocznych. Pozostałe różnice leżą w granicach błędu.

Z powyższego doświadczenia wynika wniosek, na którym oparto się w dalszych doświadczeniach, że z tych trzech zastosowanych dawek boru optymalną okazała się — 10 mg boru na litr. Dlatego też najczęściej tę ilość dodawano w dalszych doświadczeniach.

W roku 1956 przeprowadzono również doświadczenia nad wpływem fosforanu sodu na absorpcję i przemieszczanie sacharozy. Rośliny przygotowywano analogicznie jak w doświadczeniu poprzednim. Nasiona wysiewano 13.IX, a doświadczenie przeprowadzono 6.X, w godzinach dziennej. Liście głodzono 48 godzin. Wyniki ilustruje tabela 2.

Tabela 2

Zawartość węglowodanów w liściach fasoli (w mg cukrów prostych na 1 g świeżej masy)

Liście	W	S	WP	SP	Liście po głodzeniu
Liście główne	14,78	26,47	13,43	25,84	16,53
Liście boczne	15,37	18,77	14,43	21,67	15,46

Przedziały ufności

$P = 0,05$

$P = 0,01$

liście główne

1,86

2,89

liście boczne

3,29

4,61

Oznaczenia: WP = woda + 0,2 g Na_2HPO_4 na 100 ml,

SP = 10 % sacharoza + 0,2 Na_2HPO_4 na 100 ml.

Jak wynika z przytoczonych danych, nie stwierdzono dodatniego wpływu fosforanu ani na absorpcję sacharozy, ani na jej przemieszczenie. Różnice leżą w granicach błędu.

Fasola z kultur wodnych z pełnej pożywki

Doświadczenie 1957 r.

Nasiona wysiano 29.VI.1957 r., 13.V. przesadzano na pełną pożywkę zawierającą 2 mg boru na litr jako H_3BO_3 , a liście zebrano do doświadczeń — 25.V. o godz. 19.30. Po 36 godzinach głodzenia doświadczenie założono w godzinach rannych.

Doświadczenie obejmowało następujące kombinacje:

Woda

Woda + $Na_2HPO_4 \cdot 0,4$ g na 100 ml

Woda + 10 mg boru na litr jako H_3BO_3

10% sacharoza

„ „ + 0,4 g Na_2HPO_4 na 100 ml

„ „ + 10 mg B na litr jako H_3BO_3

W

WP₁

WB₁₀

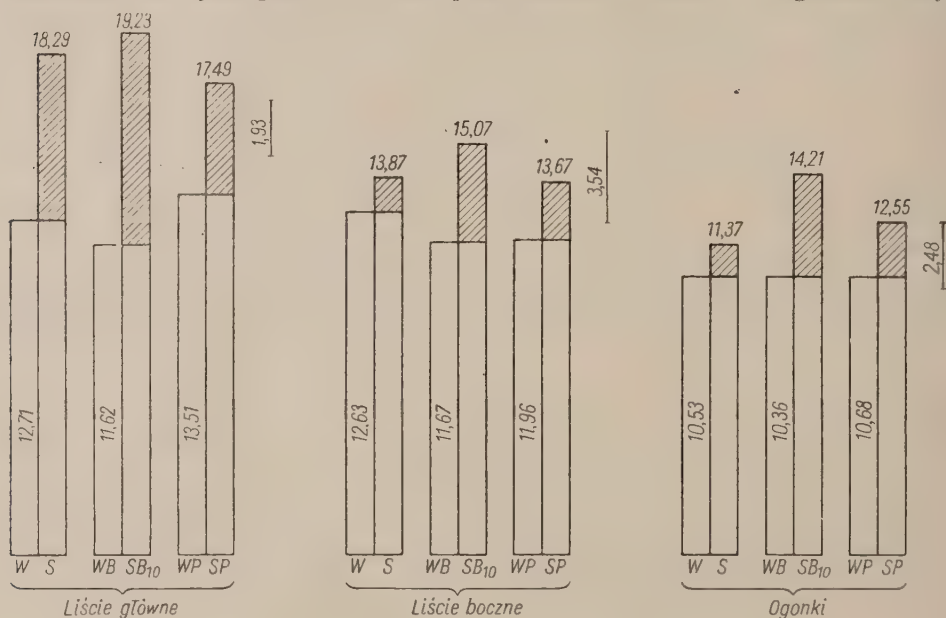
S

SP

SB₁₀

Blaszki liściowe przed głodzeniem zawierały 32,68 mg węglowodanów na 1 g świeżej masy, natomiast ogonki — 16,09 mg. Zawartość węglowodanów po doświadczeniu ilustruje ryc. 2.

Chociaż przy wprowadzeniu 10 mg boru na litr do roztworu sacharozy, wzrost zawartości węglowodanów w liściu głównym w kombinacji *SB* w porównaniu z odpowiednią kontrolą (*WB*) jest większy od wzrostu ich zawartości w przypadku stosowania samej sacharozy, to jednak różnice leżą w granicach błędu. Przemieszczanie do liści bocznych we wszystkich kombinacjach jest statystycznie nie udowodnione, choć w przypadku stosowania boru jest prawie równe przedziałowi ufności. W ogonkach wy-



Ryc. 2. Wpływ boru i fosforu na absorpcję i przemieszczanie węglowodanów. Doświadczenie I/1957. Pełna żywka. Oznaczenia jak na ryc. 1.

kazano przemieszczanie cukrów tylko w kombinacji sacharoza + bor oraz istotną różnicę między kombinacjami *SB* i *S*. Wpływu fosforanu nie stwierdzono w żadnym przypadku.

Z analiz liści na zawartość fosforu wynika, że w kombinacjach *WP* i *SP* w liściach głównych zawartość tego pierwiastka wzrastała z 6,0 mg P na 1 g suchej masy (w kombinacjach kontrolnych) do 11,9 mg na 1 g suchej masy. Nie stwierdzono natomiast przemieszczania fosforu do liści bocznych i ogonków (oznaczanych łącznie). Średnia zawartość fosforu w liściach bocznych i ogonkach na 1 g suchej masy w kombinacjach kontrolnych wynosiła 6,5 mg, a w kombinacjach *SP* — 6,4 mg.

Ponieważ w tych doświadczeniach analizowano wszystkie części liścia, można było przeprowadzić bilans węglowodanów i obliczyć procentowo, ile cukrów przemieściło się w stosunku do zaabsorbowanych. W tym celu obliczono ogólny przyrost zawartości węglowodanów w mg, w całych liściach zanurzonych w sacharozie w porównaniu z liśćmi kontrolnymi — zanurzonymi w wodzie; następnie obliczono, jaki procent cukrów przemieścił się do ogonków i do liści bocznych. W celu porównania zawartości węglowodanów w poszczególnych kombinacjach, a nawet powtórzeniach liści lub ogonków o różnej masie, obliczono (w każdej próbce składającej się z 4 liści) zawartość węglowodanów przypadającą na średnią masę liści głównych, bocznych lub ogonków. Tę średnią masę obliczono biorąc pod uwagę wszystkie powtórzenia i kombinacje. Reprezentuje ona w opisanym doświadczeniu 96 liści. Uzyskane w ten sposób wyniki przedstawione są w tabeli 3.

Tabela 3

Wpływ boru na absorpcję i przemieszczanie węglowodanów w liściach fasoli (w mg cukrów prostych)
Doświadczenie I/57

Kombinacje	Wzrost zawartości węglowodanów w liściach głównych w mg	Przemieszczanie w mg do			Sumaryczna absorpcja w mg	% przemieszczania do		
		liści bocznych	ogonków	sumarycznie		liści bocznych	ogonków	razem
S	7,14	2,75	0,38	3,13	10,27	26,7	3,7	30,4
SB	9,81	7,61	1,81	9,42	19,23	39,6	9,4	49,0

Przedziały ufności:

dla absorpcji 9,79
dla przemieszczenia 3,17

	Średnia masa liści w próbkach	Średni błąd średniej arytmetycznej	% udział poszczególnych części liści
Liście główne	1,28	0,1	32,2
Liście boczne	2,22	0,15	55,9
Ogonki	0,47	0,05	11,9
			100,0

By ocenić, czy sumaryczne wielkości absorpcji i przemieszczania różnią się pomiędzy sobą w obu kombinacjach, przeprowadzono dodatkowe obliczenia statystyczne. W tym przypadku średnią zawartość węglowodanów w całych liściach (lub w liściach bocznych i ogonku) odejmowano od

poszczególnych liczb obrazujących sumaryczną zawartość węglowodanów w całych liściach (lub liściach bocznych i ogonkach) w kombinacji *S* lub *SB*. Dla uzyskanych w ten sposób liczb, obrazujących sumaryczną absorpcję (lub przemieszczanie), obliczono przedziały ufności. Są one bardzo duże, gdyż przy takim sposobie obliczania nie uwzględnia się zmienności zawartości węglowodanów w kombinacjach kontrolnych.

Z liczb tych wynika, że chociaż statystycznie udowodniono wpływ boru na przemieszczanie tylko w ogonkach, a w pozostałych częściach liści zaznaczyła się jedynie pewna tendencja tego wpływu, to sumując różnice w zawartości węglowodanów w poszczególnych kombinacjach i różnych częściach liści widzimy wyraźny wpływ tego mikroelementu na oba badane procesy. Z tabeli 3 wynika, że w kombinacji z borem do liści głównych weszła prawie dwukrotnie większa ilość cukrów w porównaniu z kombinacją z samą sacharozą, a przemieściło się 3-krotnie więcej cukrów.

W kombinacji *SB* prawie połowa zaabsorbowanych cukrów (49%) została przemieszczona do liści bocznych i do ogonków, natomiast w kombinacji *S* — nieco mniej (30,4%).

Doświadczenie 1958 r.

Rośliny wysiano 25.V, a na pełną pożywkę (zawierającą 1 mg boru na wazon) przesadzono 9.V. Jak wspomniano w części metodycznej, w 1958 r. z tych samych liści pobierano połówki na oznaczanie suchej masy i węglowodanów. Ponadto w doświadczeniach stosowano sacharozę dodatkowo

Tabela 4

Zawartość węglowodanów w liściach fasoli przed i po głodzeniu
(w mg cukrów na 1 g świeżej masy)
(średnie z 4 powtórzeń)

Część rośliny	Przed głodzeniem	Po 36 godzinach głodzenia			
		cukry proste	dwucukry	skrobia	suma
Liście główne	50,82	2,76	0,81	12,27	15,84
Liście boczne	46,67	2,54	0,55	11,09	14,18
Ogonki	34,85	3,01	1,01	8,01	12,03

oczyszczoną (przekrystalizowaną z alkoholu). Jej zanieczyszczenie borem wynosiło tylko 3,9 µg na 1 g sacharozy.

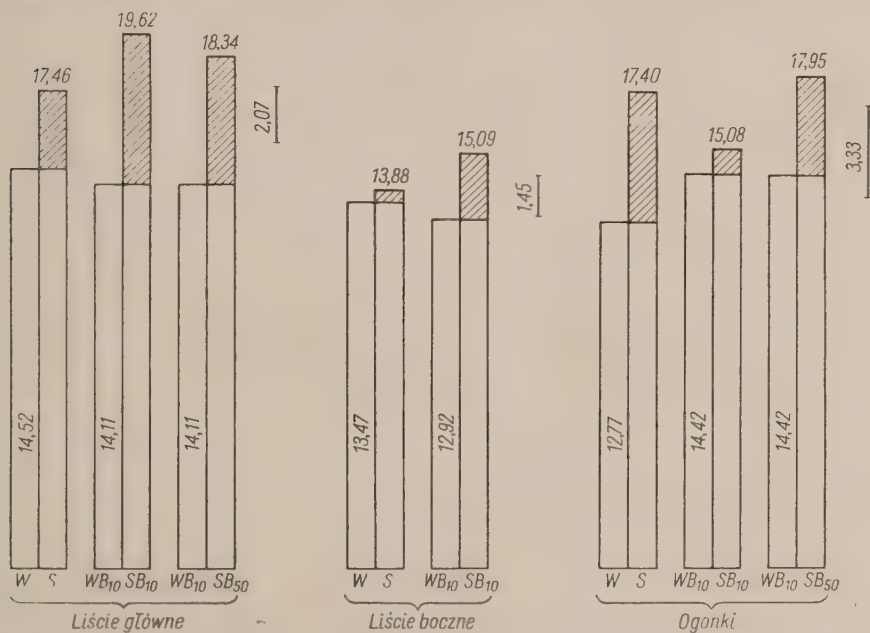
W doświadczeniu tym oznaczano poszczególne formy węglowodanów (monosacharydy, sacharozę i polisacharydy). Wyniki dotyczące zawartości węglowodanów, przed i po ekspozycji w ciemności, zestawiono w tabeli 4.

Doświadczenie założono 24.V w godzinach rannych. Zawartość węglo-

wodanów po doświadczeniu ilustruje rys. 3. Jak widać również i w tym przypadku bor wywiera wpływ na wzrost zawartości węglowodanów w liściu głównym, szczególnie przy dawce 10 mg B/1, co jest potwierdzeniem wyników z doświadczenia z 1956 r.

Przemieszczanie do liści bocznych stwierdzono tylko w kombinacji z dodatkiem 10 mg B 1, co udowodniono nawet przy $P = 0,01$, natomiast w ogonkach w tej kombinacji zaobserwowano bardzo nieznaczny wzrost zawartości węglowodanów w przeciwieństwie do kombinacji S, a nawet SB₅₀. Przemieszczanie do ogonków udowodniono tylko w kombinacji S.

Analizując zawartość poszczególnych form węglowodanów stwierdzono zasługujący na uwagę fakt bardzo małej zawartości cukrów prostych



Ryc. 3. Wpływ różnych dawek boru na absorpcję i przemieszczanie węglowodanów. Doświadczenie I/1958. Pełna pożywka. Oznaczenie jak na ryc. 1.

i sacharozy oraz dużą ilość polisacharydów w kombinacjach kontrolnych. Wprowadzona do liści głównych sacharoza nawet po dziesięciu godzinach pozostaje prawie całkowicie w stanie niezmienionym. Sumaryczny wzrost zawartości węglowodanów tylko nieznacznie przewyższa wartość samej sacharozy. W liściu głównym stwierdzono pewien wzrost ilości cukrów prostych, szczególnie w kombinacji SB.

W liściach bocznych nie stwierdzono różnic w zawartości cukrów prostych, ani też w ilości sacharozy, natomiast w kombinacji SB wykazano wzrost zawartości polisacharydów.

Tabe

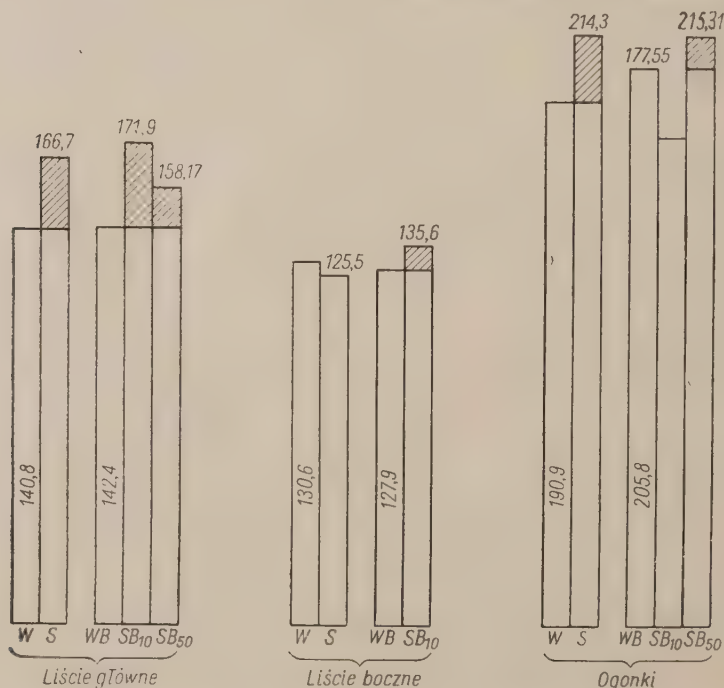
Zawartość poszczególnych form węglowodanów w odciętych liściach

Doświad

	Liście główne					Przedział ufności 0,05
	W	S	WB ₁₀	SB ₁₀	SB ₅₀	
Cukry proste	2,63	3,18	2,35	3,67	3,26	0,65
Dwucukry	0,73	4,48	0,97	5,56	4,32	1,38
Polisacharydy	11,16	9,80	10,79	10,39	10,76	$F_t > F_e$
Suma węglowod.	14,52	17,46	14,11	19,62	18,34	2,07

W ogonkach zaobserwowano przede wszystkim przyrost sacharozy we wszystkich kombinacjach, w których liściom dostarczano ten dwucukier.

W omawianym doświadczeniu obliczono również sumaryczną absorpcję cukrów oraz ilość przemieszczonych węglowodanów w poszczególnych



Ryc. 4. Wpływ różnych dawek boru na absorpcję i przemieszczanie węglowodanów. Doświadczenie I.1958. Pełna pożywka. Zawartość węglowodanów w mg cukrów prostych na 1 g suchej masy. Pozostałe oznaczenia jak na ryc. 1.

kombinacjach wyrażoną w procentach absorpcji. Sumaryczna absorpcja jest i tym razem większa w kombinacji sacharoza plus bor (tabela 6).

la 5

ciach fasoli (w mg na 1 g świeżej masy) Rośliny z pełnej pożywki
czenie I/58

Liście boczne				Przedział ufności 0.05	Ogonki					Przedział ufności 0,05
<i>W</i>	<i>S</i>	<i>WB</i> ₁₀	<i>SB</i> ₁₀		<i>W</i>	<i>S</i>	<i>WB</i> ₁₀	<i>SB</i> ₁₀	<i>SB</i> ₅₀	
2,42	2,37	2,17	2,25	$F_t > F_e$	2,37	3,28	2,78	2,42	3,04	$F_t > F_e$
0,75	1,27	0,46	1,03	0,74	1,91	3,45	1,16	2,30	2,67	0,56
10,32	10,24	10,29	11,81	1,46	8,49	10,65	10,48	10,34	12,24	2,68
13,47	13,88	12,92	15,09	1,45	12,77	17,40	14,42	15,08	17,95	3,33

Wykazano wyraźny wpływ boru na przemieszczanie cukrów do liści bocznych oraz stwierdzono duże ich nagromadzenie w ogonkach w kombinacji *S* i bardzo nieznaczne w kombinacji *SB*. Procent przemieszczonych cukrów jest w obu przypadkach niemal jednakowy.

Tabela 7 ilustruje zawartość suchej masy i boru w poszczególnych częściach liści z różnych kombinacji.

Procentowa zawartość suchej masy jest większa w liściach zanurzonych w sacharozie lub w sacharozie z borem w porównaniu z kombina-

T a b e l a 6

Wpływ boru na absorpcję i przemieszczanie węglowodanów w odciętych liściach fasoli
(w mg cukrów prostych)

Kombi- nacje	Wzrost zawartości węglowod. w liściach głównych w mg	Przemieszczanie w mg			Suma- ryczna absorpcja w mg	% przemieszczania		
		do liści bocznych	do ogonków	suma- ryczne		do liści bocznych	do ogon- ków	razem
<i>S</i>	2,90	0,64	1,48	2,12	5,02	12,7	29,4	42,1
<i>SB</i> ₁₀	5,40	3,25	0,21	3,46	8,86	36,6	2,4	39,0

Przedziały ufności:

dla absorpcji 3,42

dla przemieszczenia $F_t > F_e$

Część liścia	Średnia masa liści w próbkach	% udział poszczególnych części liści
Liście główne	0,981	34,5
Liście boczne	1,549	54,3
Ogonki	0,321	11,2

cjami kontrolnymi, czego nie usprawiedliwia ilość zaabsorbowanych cukrów. Stąd można wysunąć wniosek, że w badanych liściach zmienia się nie zawartość suchej masy, lecz uwodnienie liści. W roztworze sacharozy

T a b e

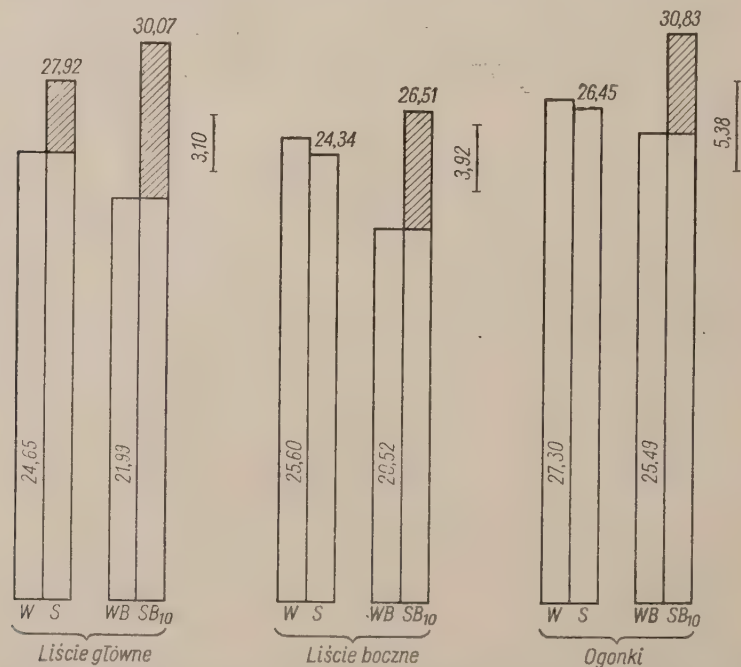
Zawartość boru i suchej masy w odciętych liściach

	Liście główne					Przedział ufności
	W	WB	S	SB ₁₀	SB ₅₀	
Procenty suchej masy	10,09	9,91	10,39	11,48	11,68	0,43* 0,59**
Bor w μg na 1 g s. m.	62,3	85,6	75,8	94,6	181,0	22,91* 31,68**

* Przy poziomie ufności $P = 0,05$ ** Przy poziomie ufności $P = 0,01$

woda może być odciągana z tkanek, co może odbić się nie tylko na procentowej zawartości suchej masy liści głównych, lecz również w pewnym stopniu — liści bocznych i ogonków.

Ponieważ stwierdzono zmiany w procentowej zawartości suchej masy w liściach kombinacji *S* i *SB*, obliczenia zawartości węglowodanów na



Ryc. 5. Wpływ boru na absorpcję i przemieszczanie węglowodanów. Doświadczenie III/1958. Deficyt boru. Oznaczenia jak na ryc. 1.

suchą masę obciążone są dodatkowym błędem, wynikającym z wprowadzenia nowego, zmiennego parametru, jakim jest w danym przypadku względna zawartość suchej masy. Sucha masa zmienia się między innymi

I a 7

ciach fasoli zaniurzanych w różnych roztworach

Liście boczne					Przedział ufości	Ogonki					Przedział ufości
<i>W</i>	<i>WB</i>	<i>S</i>	<i>SB</i> ₁₀	<i>SB</i> ₅₀		<i>W</i>	<i>WB</i>	<i>S</i>	<i>WB</i> ₁₀	<i>WB</i> ₅₀	
10,31	10,13	10,89	11,07	11,44	0,68* 0,94**	6,75	6,95	8,14	8,48	8,38	0,94* 1,30**
63,3	66,5	71,1	75,3	70,5	$F_t > F_e$	53,0	54,8	45,9	51,6	52,2	$F_t > F_e$

na skutek wprowadzenia do liści cukrów, czyli jest uzależniona od badanego czynnika. Dla porównania jednak w jednym doświadczeniu przytoczono dane, w których zawartość węglowodanów przeliczono na 1 g suchej masy (ryc. 4). Przy takim sposobie przedstawiania wyników prawdziwości są takie same, tylko różnice pomiędzy kombinacjami bardziej zacierają się, ponieważ węglowodany w kombinacjach *S* i *SB* przeliczone są na większą suchą masę.

Z zestawienia zawartości boru (wyrażonego w mg na 1 g suchej masy) wynika, że duże ilości tego pierwiastka zostały zaabsorbowane przez liść. Wielkość absorpcji boru jest uzależniona od jego stężenia w roztworze. Przytoczone liczby wskazują na brak przemieszczania boru do innych części liścia (różnice leżą w granicach błędu), nawet w przypadku gdy zawartość boru w liściu głównym wzrosła trzykrotnie.

FASOLA WYKAZUJĄCA OBJAWY GŁODU BOROWEGO

Doświadczenia 1957.

Nasiona wysiano 29.IV, a na pożywkę pozbawioną boru przesadzono 13.V. Po 7 dniach zaobserwowano pierwsze objawy głodu borowego na korzeniach i wierzchołkach pędu. Młody, rozwijający się pierwszy, trójdzielny liść był kruchy, a jego blaszka zaczęła się wyginać ku dołowi. 23.V dodano po 0,1 mg boru na wazon (czyli na 4 rośliny) w postaci H_3BO_3 , by nie dopuścić do śmierci całych roślin. Po kilku dniach w większości wazonów rozwinęły się trójdzielne liście, choć powierzchnia ich była przeszło dwukrotnie mniejsza od liści roślin dostatecznie zaopatrzonych w bor. Liście i ogonki pozostały jednak nadal kruche, o nienormalnym zabarwieniu. W wielu wazonach, w których w czasie głodu pozamierały stożki wzrostu, po dodaniu boru rośliny rozwinęły pąki w pachwinach liści. Takich roślin nie brano do dalszych doświadczeń.

Liście do doświadczenia ścięto 1.VI i po 36 godzinach głodzenia zanurzano w różnych roztworach w godzinach dziennych. Materiał był

T a b e

Zawartość boru i węglowodanów w odciętych liściach fasoli (bor w μg)

Doświadcze

	Liście główne				Przedział ufności 0,05
	<i>W</i>	<i>WB</i>	<i>B</i>	<i>SB</i>	
Węglowodany po ekspozycji	19,55	18,86	37,47	38,05	7,82
Bor (średnie z 2 oznacz.)	24,5	95,8	85,1	139,2	—
Węglowodany przed głodzeniem			38,18		
Po 36 godz. głodzenia			21,61		

bardzo niejednorodny zarówno pod względem wielkości liści, jak również stopnia deficytu borowego (co wynika z analiz na zawartość boru w poszczególnych liściach). Poziom węglowodanów w poszczególnych liściach był również niejednakowy.

Wyjściową zawartość węglowodanów przed i po głodzeniu oraz ilość węglowodanów i boru po doświadczeniu obrazuje tabela 8. Z przytoczonych liczb widać wyraźnie, że liście były ubogie w bor. Normalnie odżywione liście fasoli zawierają 60,80 mg boru na 1 g suchej masy. Porównując ilości węglowodanów w kombinacjach *S* i *SB* z wynikami z poprzednich doświadczeń należy stwierdzić znacznie większy wzrost ich zawartości w liściach głównych, przy czym obie kombinacje nie różnią się między sobą pod tym względem (w granicach błędu doświadczenia). Bor tylko nieznacznie wpłynął na przemieszczenie zarówno do ogonków, jak i do liści bocznych.

Nieco wyraźniej zaznacza się wpływ boru na przemieszczanie i absorpcję po przeliczeniu tych wyników na wartości bezwzględne (tabela 9). W kombinacji *SB* do liści bocznych przemieściło się 39% cukrów zaabsorbowanych, a do ogonków (które stanowią 16% masy całych liści) około 10%, co w sumie wynosi 49%. W kombinacji *S* sumaryczne przemieszczanie stanowi około 38%. Różnica ta jest spowodowana mniejszym przemieszczaniem do liści bocznych.

W roku 1957 powtórzono jeszcze raz doświadczenie z fasolą, która na początku wegetacji dostała 0,1 mg B 1. Rośliny hodowano w szklarni w październiku. Zewnętrznych objawów braku boru nie stwierdzono. Liście wszystkich roślin były cienkie i przypominały liście etiolowane, łatwo wędły po odcięciu od rośliny. Zawartość węglowodanów przed głodzeniem była przeszło dwukrotnie niższa od zawartości w liściach pochodzących z roślin wysiewanych latem. Wynosiła ona około 14 mg na 1 g świeżej masy. W doświadczeniach tych nie stwierdzono wpływu boru ani na absorpcję, ani na przemieszczanie. Ponieważ jednak liście te były

1 a 8

na 1 g suchej masy, węglowodany — w mg cukrów prostych na 1 g św. m.)

nie II/57

Liście boczne				Przedział uflności 0,05	Ogonki				Przedział uflności 0,05
<i>W</i>	<i>WB</i>	<i>S</i>	<i>SB</i>		<i>W</i>	<i>WB</i>	<i>S</i>	<i>SB</i>	
18,86	17,82	23,82	26,79	8,31	15,15	13,51	20,98	21,04	5,36
33,3	25,3	41,4	39,9	—	36,2	23,0	27,5	54,2	—
	36,04					21,14			
	—					15,13			

nieporównywalne z roślinami używanymi w poprzednich doświadczeniach, uzyskanych wyników nie brano pod uwagę.

Doświadczenie 1958 r.

Nasiona wysiano 6.V, siewki przesadzono na pożywkę bez boru — 17.V. Po 5 dniach zaobserwowano nieznaczne sztywnienie najmłodszego, trójdzielonego listka i wierzchołka pędu. Pierwsza para liści wykazywała dużą kruchość. Jeszcze wyraźniejsze objawy deficytu boru obserwowano po 6 dniach na korzeniach i wówczas dodano roślinom po 0,1 mg B na wazon. Już po kilku dniach wytworzyły się nowe korzonki oraz nastąpił szybki

Tabela 9

Wpływ boru na absorpcję i przemieszczanie węglowodanów w odciętych liściach fasoli z deficytem borowym

Kombi- nacje	Wzrost zawartości węglowod. w liściu głównym w mg	Przemieszczanie w mg			Suma- ryczna absorpcja w mg	% przemieszczania		
		do liści bocznych	do ogonków	suma- ryczna		do liści bocznych	do ogon- ków	razem
<i>S</i>	10,22	4,76	1,69	6,45	16,67	28,5	10,1	38,1
<i>SB</i> ₁₀	10,94	8,43	2,18	10,61	21,55	39,1	10,1	49,1

Przedziały uflności:

dla absorpcji $F_t > F_e$ dla przemieszczania $F_t > F_e$

Części liścia	Średnia masa liści w próbkach w g	% udział poszczególnych części liścia
Liście główne	0,57	31,7
Liście boczne	0,94	52,2
Ogonki	0,29	16,1

Tabe

Zawartość boru, suchej masy i węglowodanów przed gło
Doświad

	Liście główne				Przedział ufności
	W	WB	S	SB	
Procent suchej masy	9,36	9,31	10,09	10,07	$F_t > F_e$
µg boru na 1 g s. masy	39,86	68,01	40,57	67,55	10,39 *
					14,57 **
Węglowodany przed głodz.			35,81		

* Przy poziomie ufności $P = 0,05$ ** Przy poziomie ufności $P = 0,01$

Tabe

Zawartość poszczególnych form węglowodorów w odciętych liściach
Doświad

	Liście główne				Przedział ufności 0,05
	W	S	WB ₁₀	SB ₅₀	
Cukry proste	9,48	9,58	8,63	10,82	1,43
Dwucukry	1,69	4,36	1,04	5,75	1,13
Polisacharydy	13,48	13,98	12,32	13,50	3,45
Suma węglowodanów	24,65	27,92	21,99	30,07	3,10

wzrost trójdzielnych liści. Liście do doświadczeń zebrano 2 czerwca i po 36 godzinach głodzenia założono doświadczenie w godzinach dziennych.

W tabeli 10 zestawiono zawartość węglowodanów przed głodzeniem, procent suchej masy oraz zawartość boru w poszczególnych kombinacjach.

Z analiz na zawartość boru wynika, że liście miały wyraźnie obniżoną zawartość tego mikroelementu, jednak nie w takim stopniu, jak w doświadczeniu poprzednim. Wykazano też dużą absorpcję boru przez liście zarówno w kombinacji WB, jak i SB. Nie stwierdzono natomiast przemieszczania boru do liści bocznych w żadnej kombinacji, do ogonków zaś bor przemieszczał się w niewielkiej ilości i to zarówno w kombinacji S, jak i SB (przemieszczanie boru w kombinacji S świadczy o tym, że nawet z roztworu oczyszczonej sacharozy rośliny pobrały pewną ilość tego mikroelementu). Nie należy jednak zapominać, że oznaczenia boru w ogonkach obciążone są największym błędem analitycznym ze względu na ich bardzo małą masę (35—40 mg suchej masy).

Wyniki analiz na zawartość węglowodanów ilustruje ryc. 5. Widać tu wszędzie nieznaczny wpływ boru zarówno na wzrost zawartości węglowodanów w liściach głównych, jak i na przemieszczanie.

Przyrost cukrów w liściach głównych stwierdzono w obu kombina-

1a 10

dzeniem w odciętych liściach fasoli z deficytem boru
czenie III/58

Liście boczne				Przedział ufości	Ogonki				Przedział ufości
<i>W</i>	<i>WB</i>	<i>S</i>	<i>SB</i>		<i>W</i>	<i>WB</i>	<i>S</i>	<i>SB</i>	
9,59	9,74	9,92	10,01	$F_t > F_e$	8,26	8,43	8,66	8,81	$F_t > F_e$
37,70	36,24	39,11	35,32	$F_t > F_e$	33,86	34,80	41,94	42,18	6,45
37,86					23,69				

1a 11

fasoli (w mg na 1 g świeżej masy). Rośliny z deficytem borowym
czenie III/58

Liście boczne				Przedział ufości 0,05	Ogonki				Przedział ufości 0,05
<i>W</i>	<i>S</i>	<i>WB</i> ₁₀	<i>SB</i> ₁₀		<i>W</i>	<i>S</i>	<i>WB</i> ₁₀	<i>SB</i> ₁₀	
9,67	9,41	7,95	10,50	1,81	9,54	9,17	8,96	10,61	3,80
1,72	1,32	1,02	1,76	0,84	2,86	3,82	2,48	4,58	1,07
15,21	13,61	11,55	14,25	3,45	14,90	13,46	14,05	15,64	$F_t > F_e$
25,60	24,34	20,52	26,51	3,92	27,30	26,45	25,49	30,83	5,38

ejach doświadczalnych. Różnice pomiędzy nimi leżą co prawda w granicach błędów, jednak tendencja przejawia się ta sama co w doświadczeniach poprzednich. Prawie we wszystkich przypadkach wykazano mniejszą ilość węglowodanów, w kombinacjach *WB*; szczególnie jaskrawo uwidoczniło się to w liściach bocznych, gdzie różnice pomiędzy *WB* i *W* są statystycznie udowodnione.

W liściach zanurzonych w sacharozie nie stwierdzono przemieszczenia do liści bocznych, natomiast w kombinacji *SB* jest ono udowodnione nawet przy $P=0,01$. W ogonkach przemieszczanie wykazano również tylko w kombinacji z borem. W tym doświadczeniu w liściach zaobserwowano znacznie większą zawartość węglowodanów, będącą wynikiem głównie większej ilości cukrów prostych, w porównaniu z zawartością w liściach normalnie zaopatrzonych w bor (tabela 11).

Po zanurzeniu liści głównych do sacharozy, podobnie jak w poprzednim doświadczeniu, wzrasta głównie zawartość tego dwucukru. W liściach bocznych poszczególnych kombinacji stwierdzono mniej więcej jednakową ilość sacharozy, natomiast w ogonkach — wyraźny wzrost, co najlepiej uwidacznia się w kombinacji sacharoza plus bor.

W kombinacji *SB* wykazano wzrost zawartości monosacharydów w po-

równaniu z odpowiednią kontrolą, zarówno w liściach głównych, jak i bocznych.

Zawartość polisacharydów w liściach głównych i ogonkach jest we wszystkich kombinacjach niemal jednakowa, natomiast w liściach bocznych stwierdzono obniżoną ilość w kombinacji WB w porównaniu z W.

W tabeli 12 przedstawiono sumaryczną absorpcję sacharozy oraz cha-

Tabela 12
Wpływ boru na absorpcję i przemieszczanie węglowodanów
Liście z deficytem borowym
Doświadczenie III/58

Kombinacje	Wzrost zawartości węglowod. w liściach główn. w mg	Przemieszczanie w mg			Sumaryczna absorpcja w mg	% przemieszczania		
		do liści bocznych	do ogonków	sumarycznie		do liści bocznych	do ogonków	razem
<i>S</i>	3,20	0,0	0,0	0,0	3,20	0,0	0,0	0,0
<i>SB</i> ₁₀	7,92	9,34	2,14	11,48	19,40	40,82	11,0	51,82

Przedziały ufności:

dla absorpcji 5,7
dla przemieszczania 5,3

Część liścia	Średnia masa liści w próbkach w g	% udział poszczególnych części liści
Liście główne	0,98	33,4
Liście boczne	1,56	53,0
Ogonki	0,40	13,6

rakter przemieszczania węglowodanów z liścia głównego do innych części. Jak wynika z przytoczonych danych, dodatek boru do sacharozy powoduje bardzo znaczny wzrost sumarycznej absorpcji, podobnie jak w doświadczeniach poprzednich (tabela 3, 6, 9), oraz wzrost przemieszczania. W tym przypadku również mniej więcej połowa całej ilości wprowadzonych cukrów przemieściła się do liści bocznych i ogonków. W kombinacji *S* nie stwierdzono wzrostu zawartości węglowodanów w żadnej części liścia.

ZESTAWIENIE WYNIKÓW DOŚWIADCZEŃ DOTYCZĄCYCH WPŁYWU BORU NA ABSORPCJĘ I PRZEMIESZCZANIE SACHAROZY

We wszystkich doświadczeniach stwierdzono mniej lub bardziej wyraźny wpływ boru na absorpcję i przemieszczanie węglowodanów. Nie wszędzie jednak różnice pomiędzy kombinacjami przekraczały przedział

uności. Dlatego też obliczono przedziały uności dla sumarycznej absorpcji i przemieszczania, łącznie dla poszczególnych lat 1957, 1958 (tabela 13).

Tabela 13

Wpływ boru na absorpcję i przemieszczanie węglowodanów

Charakterystyka doświadczeń	Sumaryczna absolutna			Sumaryczne przemieszczanie		
	<i>S</i>	<i>SB</i>	Prz. uf.	<i>S</i>	<i>SB</i>	Prz. uf.
Poż. pełna dośw. I/57, II/58	7,67	14,12	6,17	2,42	6,14	3,66
Deficyt B skrajny głód dośw. II/57	16,67	21,55	$F_t > F_e$	6,45	10,61	$F_t > F_e$
Początkowe objawy głodu dośw. III/58	3,20	19,40	5,70	0,0	11,49	

Z przytoczonych liczb wynika, że zarówno u roślin normalnie zaopatrzonych w bor, jak i przy nieznacznym jego deficycie, dodatek tego mikroelementu wpływa wyraźnie zarówno na absorpcję, jak i na przemieszczanie węglowodanów. Jedynie w przypadku skrajnego głodu borowego nie stwierdzono takiej zależności.

W tabeli 14 przedstawiono dane liczbowe obrazujące wyniki wszystkich doświadczeń (łącznie z rokiem 1956). Liczby przedstawiono w procentach w stosunku do zawartości węglowodanów liści głównych w kombinacji W (woda), które przyjęto za 100%.

Zestawienie to (str. 240—241) wykazuje wyraźnie te same prawidłowości co w tabeli 13.

DOŚWIADCZENIA Z FASOLĄ NIEDOSTATECZNIE ZAOPATRZONĄ W FOSFOR

Przeprowadzono serię doświadczeń z liśćmi niedostatecznie zaopatrzonymi w fosfor (rośliny hodowano na pożywce, w której CaH_2PO_4 zastąpiono równoważną ilością CaCl_2 . Nasiona wysiano 16.V.1957 r., a na pożywkę bez fosforu przesadzono 25.V. Liście do doświadczeń zebrano 10.VI. Rośliny wykazywały nieznaczne zahamowanie wzrostu, o 3—4 dni później rozwinęły pierwszy trójdzielny liść w porównaniu z roślinami kontrolnymi, a liście różniły się zabarwieniem.

W poszczególnych kombinacjach doświadczalnych liście główne zanurzano w następujących roztworach:

Woda	W
Woda + 0,4 g Na_2HPO_4 na 100 mg	WP
10% sacharoza	S
10% sacharoza + 0,4 g Na_2HPO_4 na 100 ml	SP

Tabe
Wpływ boru na absorpcję i

		Woda (<i>W</i>)		
		liście główne	liście boczne	ogonki
Pełna pożywka	Zawartość węglowodanów w procentach	100	100,5	85,6
	Wzrost zawartości węglowodanów w procentach	—	—	—
	Sumaryczna absorpcja w procentach	—	—	—
Deficyt boru	Zawartość węglowodanów w procentach	100	100,6	96,0
	Wzrost zawartości węglowodanów w procentach	—	—	—
	Sumaryczna absorpcja w procentach	—	—	—

Tabe
Wpływ fosforanu sodu na absorpcję i transport sacharozy

	Liście główne				Przedział ufności
	<i>W</i>	<i>WP</i>	<i>S</i>	<i>SP</i>	
1957					
4 powtórzenia	22,66	20,87	23,26	21,85	$F_t > F_e$
1958					
3 powtórzenia	23,82	—	30,69	—	$F_t > F_e$

Węglowodany wyrażono w mg cukrów prostych na 1 g świeżej masy.

Wyniki oznaczeń węglowodanów przedstawiono w tabeli 15. W żadnej kombinacji nie stwierdzono absorpcji sacharozy, a w konsekwencji nie obserwowano przemieszczania. Wykonano analizy na zawartość fosforu w liściach analogicznie zanurzanych do roztworu, według podanego wyżej schematu, i również nie stwierdzono przenikania fosforanów do liści. Zawartość fosforu wynosiła 2,66 mg P na 1 g suchej masy.

Dla sprawdzenia uzyskanych wyników doświadczenia powtórzono w 1958 roku. Wysiew — 24.V na pożywkę bez fosforu, przesadzono 9.V wprowadzając tylko kombinacje *W* i *S* — w tym przypadku nie stwierdzono absorpcji sacharozy (tabela 15). Należy jednak zaznaczyć, że błąd tego doświadczenia jest bardzo duży (mała ilość kombinacji i tylko trzy powtórzenia).

W roku 1958 przeprowadzono ponadto doświadczenia na liściach z obniżoną zawartością fosforu (4 rośliny otrzymały 30 mg P). Nasiona

la 14

przemieszczanie węglowodanów

Woda + bor (<i>WB</i>)			Sacharoza (<i>S</i>)			Sacharoza + bor (<i>SB</i>)		
liście główne	liście boczne	ogonki	liście główne	liście boczne	ogonki	liście główne	liście boczne	ogonki
99,1	97,5	91,0	133,7	110,3	105,6	150,1	129,6	107,6
—	—	—	33,7	9,8	20,0	50,1	32,1	16,6
—	—	—	63,5			98,8		
92,4	86,7	88,2	147,9	109,0	107,3	154,1	120,6	117,3
—	—	—	47,9	8,4	11,3	54,1	33,9	29,1
—	—	—	67,6			117,1		

la 15

w odciętych liściach fasoli wykazujących deficyt fosforu

Liście boczne				Przedział ufności	Ogonki				Przedział ufności
<i>W</i>	<i>WP</i>	<i>S</i>	<i>SP</i>		<i>W</i>	<i>WP</i>	<i>S</i>	<i>SP</i>	
21,15	18,44	19,69	17,79	$F_t > F_e$	25,56	18,55	20,71	18,44	1,7
25,72	—	27,09	—	$F_t > F_e$	25,71	—	28,81	—	$F_t > F_e$

wysiano 30.IV, a na pożywkę przesadzono 14.V. Liście do doświadczeń zebrano 25.V i po 36 godzinach ciemności zanurzono je w takich samych roztworach, jak w poprzednim doświadczeniu w 1957 r., a także wprowadzono 2 nowe kombinacje ze zwiększoną dawką fosforanów:

Woda + 0,8 g Na_2HPO_4	na 100 ml	<i>WP</i> ₂
10% sacharoza + 0,8 g Na_2HPO_4	na 100 ml	<i>SP</i> ₂

Odczyny roztworów były następujące: 1) $\text{pH} = 8,55$, 2) $\text{pH} = 8,45$.

Wyniki zestawiono w tabeli 16, z której wynika, że wzrost zawartości cukrów w liściach głównych jest znikomy. W żadnej kombinacji nie stwierdzono przemieszczania do liści bocznych. Tylko w kombinacji *SP*₂ wykazano istotny wzrost zawartości cukru w ogonkach w porównaniu z kontrolą. Pozostałe różnice leżą w granicach błędu doświadczenia.

Tabela 16

Wpływ fosforanu sodu na absorpcję i transport sacharozy w odciętych liściach fasoli
(mała dawka fosforu).

	W	WP_1	WP_2	S	SP_1	SP_2	Przedział ufości
Liść główny	25,92	25,32	26,48	30,48	26,54	29,65	4,24
Liść boczny	25,69	24,99	27,82	27,31	24,96	28,72	$F_t > F_e$
Ogonek	21,61	20,48	21,98	22,86	21,91	24,31	1,89

DYSKUSJA

W badaniach dotyczących przemieszczania węglowodanów, duże trudności nastęrcza wprowadzanie cukrów do tkanek. W niniejszej pracy zanurzano liść fasoli do hipotonicznego roztworu sacharozy o wartości osmotycznej ok. 6,5 atm. Metoda ta pozwala oznaczać, oprócz przemieszczania węglowodanów, również absorpcję sacharozy. Podstawową jej wadą jest obniżenie intensywności oddychania liści zanurzonych — o 25 do 35% (Wasilewska, 1959), w porównaniu z liśćmi oddychającymi w warunkach normalnych. Mogło to w pewnym stopniu osłabić aktywne przemieszczanie cukrów, gdyż proces absorpcji związków organicznych uzależniony jest od warunków tlenowych (Phillis, Mason 1937, Kursanow i in. 1948, Brown 1952, Weatherley 1955, Burr, Hartt 1957, Pennell, Weatherley 1958).

Wszystkie doświadczenia prowadzone w ciemności, co pozwoliło wyeliminować proces fotosyntezy, a najprawdopodobniej nie wpłynęło decydująco na przemieszczanie węglowodanów. Nelson, Gorham (1957) wykazał nawet intensywniejsze przemieszczanie cukrów w ciemności niż na świetle.

WPŁYW BORU NA ABSORPCJĘ I PRZEMIESZCZENIE SACHAROZY

Wyjaśnienie fizjologicznej roli boru jest niezmiernie trudne, ponieważ wpływa on na szereg reakcji chemicznych i procesów fizjologicznych (Szkolnik 1950, Gauch, Dugger 1954, Majewski 1956, Skok 1958, Winfield 1945b). W niniejszej pracy w większości doświadczeń dodatek boru do roztworu sacharozy zwiększał wyraźnie absorpcję. Prawidłowość tę stwierdzono zarówno u roślin normalnie zaopatrzonych w bor, jak i u wykazujących nieznaczny jego deficyt.

W doświadczeniu prowadzonym na liściach z widocznym deficytem borowym (doświadczenie II/57) bor w bardzo niewielkim stopniu zwięks-

szyl absorpcję. W tym doświadczeniu obserwowano natomiast prawie dwukrotnie większą absorpcję cukrów w liściach głównych zanurzonych zarówno w sacharozie, jak i w sacharozie z borem, czego nie obserwowano w żadnym innym doświadczeniu. Można przypuszczać, że w komórkach tych liści nastąpiły jakieś zmiany w strukturze protoplazmy prowadzące prawdopodobnie do wzrostu jej przepuszczalności.

W większości doświadczeń — zarówno w liściach z nieznacznym deficytem boru, jak i normalnie zaopatrzonych w ten składnik — bor powodował wzmożony odpływ węglowodanów do liści bocznych i ogonków. W niektórych przypadkach różnice pomiędzy kombinacjami „sacharoza plus bor“ i „sacharoza“ pozostały jednak w granicach błędu.

W doświadczeniu II/57 (liście wykazujące skrajny głód boru) przemieszczanie odbywało się tylko do ogonków, natomiast w liściach bocznych stwierdzono zaledwie nieznaczny wzrost zawartości cukrów. W tym przypadku nie udowodniono statystycznie wpływu boru na przemieszczanie. Osłabienie wędrówki cukrów w powyższym doświadczeniu mogło być wynikiem częściowej nekrozy tkanek przewodzących (jeden z charakterystycznych objawów braku boru). W tej sytuacji nawet dodanie boru do sacharozy tylko nieznacznie wpłynęło na przemieszczanie cukrów.

Na uwagę zasługuje fakt, że w większości doświadczeń obserwowano bardzo małe przemieszczenie cukrów do liści bocznych i ogonków w kombinacjach z samą sacharozą (wzrost zawartości cukrów leży najczęściej w granicach błędu). Szczególnie jaskrawo zaznaczyło się to zahamowanie wędrówki wprowadzonych cukrów w doświadczeniu z 1958 r. na liściach z deficytem borowym (ryc. 5), gdzie nie stwierdzono żadnego przemieszczania ani do ogonków, ani do liści bocznych (należy przypomnieć, że w tym doświadczeniu stosowano dokładnie oczyszczoną sacharozę).

Na ogół w kombinacjach „sacharoza plus bor“ około połowy wprowadzonych do liści głównych cukrów przemieszczało się do innych części liści. Natomiast w kombinacjach z samą sacharozą procent ten wahał się od 0 do 32%, zależnie od stopnia zaopatrzenia roślin w bor. Wynika z tego, że wahania w przemieszczaniu cukrów w kombinacjach z samą sacharozą są znacznie większe i bardziej uzależnione od ilości boru w roślinie. Należy przypuszczać, że bor modyfikuje w pewnym stopniu natężenie odpływu cukrów wprowadzonych z zewnątrz.

Doświadczenia prowadzono na izolowanych, wykształconych liściach fasoli. Ich aktywność wzrostowa najprawdopodobniej była bardzo mała. Tym nie mniej obserwowano tu wpływ boru zarówno na absorpcję, jak

i na przemieszczanie węglowodanów, co sugeruje możliwość bardziej bezpośredniego wpływu boru na badane procesy, niezależnie od procesu wzrostu, jak to sugeruje Skok.

Niestety i ta praca nie daje odpowiedzi, na czym polega ten wpływ. Przytoczone wyniki wskazują jedynie na niezmiernie małe prawdopodobieństwo przemieszczania cukrów w postaci kompleksów cukrowo-borowych. Przeciwno tej hipotezie świadczy mała ruchliwość boru zaabsorbowanego w dużych ilościach przez liść główny, przy jednoczesnym przemieszczaniu cukrów do liści bocznych i ogonków. Zwiększona ilość boru w liściu głównym nie dowodzi jednak, że pierwiastek ten przedostał się do wnętrza komórek, a nie zatrzymał się np. w mikrokapilarach błon komórkowych.

Na dowód, że cukry przedostały się do tkanek liści, można przytoczyć doświadczenia Wasilewskiej (1959), w których stwierdzono wzrost intensywności oddychania liści uprzednio zanurzonych w roztworze sacharozy oraz ich przemieszczanie.

WPLYW FOSFORANÓW NA ABSORPCJĘ I PRZEMIESZCZANIE SACHAROZY

W przedstawionych w niniejszej pracy doświadczeniach nie wykazano wpływu fosforanów ani na absorpcję, ani na przemieszczanie sacharozy. W przypadku roślin z deficytem fosforowym nie obserwowano przenikania cukrów do liści w żadnej kombinacji. Być może uzależnione to jest od anatomo-morfologicznej budowy liści ubogich w fosfor. W tej serii doświadczeń nie stwierdzono też przenikania fosforanów do komórek.

W przypadku liści dobrze zaopatrzonych w fosfor, stwierdzono absorpcję zarówno cukrów, jak i fosforanów, pomimo, że pH roztworów było stosunkowo wysokie. (Z pracy Tukeya 1955 wynika, że fosforany są absorbowane w większych ilościach przy niskim pH). Nie stwierdzono jednak różnic między kombinacjami.

STRESZCZENIE WYNIKÓW

Przeprowadzono badania dotyczące wpływu boru i fosforu na absorpcję i przemieszczanie sacharozy w odciętych liściach fasoli.

W celu wprowadzenia cukrów do liści część środkową trójdzielnego liścia fasoli zanurzano na okres 10 godzin w roztworze: sacharozy, sacharozy z dodatkiem boru (jako H_3BO_3) lub z dodatkiem Na_2HPO_4 .

Intensywność przemieszczania oznaczano na podstawie wzrostu zawartości węglowodanów w liściach bocznych i ogonkach w porównaniu z odpowiednią kontrolą; doświadczenia prowadzono w ciemności.

Przeprowadzane badania wskazują, że:

1. Dodanie Na_2HPO_4 nie wpłynęło ani na absorpcję, ani na przemieszczanie sacharozy.

2. Dodanie boru do roztworu sacharozy zwiększało znacznie jej absorpcję i w mniejszym stopniu wpływało na przemieszczanie cukrów do innych części liścia.

3. Obserwowany wpływ boru na te procesy może świadczyć o bezpośrednim jego udziale w przemieszczaniu cukrów przez sita albo w aktywnym transporcie cukrów poprzez protoplazmę lub też w jakimś innym procesie.

4. W kombinacjach, w których liście zanurzano w roztworze samej sacharozy, obserwowano bardzo nieznaczne przemieszczanie cukrów zarówno do liści bocznych, jak i ogonków. Prawdopodobnie ta wystąpiła najwyraźniej w doświadczeniu z liśćmi wykazującymi deficyt boru.

5. Potwierdzono znany w literaturze wpływ stopnia zaopatrzenia roślin w bor na ilościowy skład poszczególnych węglowodanów (gromadzenie węglowodanów w liściach z deficytem boru).

Pani prof. dr H. Bireckiej składam serdeczne podziękowanie za pomoc i cenne wskazówki udzielane mi w czasie wykonywania niniejszej pracy.

*Zakład Fizjologii Roślin SGGW
w Warszawie*

(Wpłynęło dn. 15.12.1959 r.)

SUMMARY

The investigation concerns the influence of boron and phosphorus on the absorption and translocation of sucrose in detached leaves of bean plants.

The terminal leaflet of trifoliate bean leaves was immersed into a 10% solution of sucrose or 10% solution of sucrose with 10 p.p.m. of boron (as boric acid), or a solution of sucrose with sodium phosphate (Na_2HPO_4). 10 hours later the leaves were divided into three parts: terminal leaflets, lateral leaflets, petioles.

In all these parts carbohydrates were determined after hydrolysis by 2% HCl. In some samples the monosaccharides, sucrose as well as polysaccharides were also determined.

All the experiments show that phosphates influence neither the absorption nor the translocation of sugars.

The sugar absorption increased in the presence of boron in the solution in which the leaflets were immersed. In these cases an increase in the translocation especially to the lateral leaflets was observed.

The content of boron in all the parts of the leaves was determined. It was stated that the terminal leaflets absorbed a remarkable amount of boron from the solution.

At the same time the boron content in the other parts of the leaves remained on the previous level. Thus there is little probability that the sugar moves in sieve tubes in the form of sugar-borate compounds.

LITERATURA

- Albaum H. G., 1956, Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. IX, 155—176, Ruhland.
- Barrier G. R., Loomis W. E., 1957, Plant Physiology 30: 225—231.
- Bauer L., 1953, Planta, 42: 367—451.
- Bojarkin A. N., 1955, Fizjologija rastienij 2: 298—302.
- Brown R., 1952, Internat. Review of Cytology 1, Ac. press Inc. New Jork, 107—118.
- Burr G. O., Hartt H. W. in., 1957, Annual Review of Plant Physiology 8: 275—308.
- Calvin C., Kressman T. R. E., 1957, Ion exchangers in organic and biochemistry, Interscience Publishers.
- Collander R., 1957, Annual Review of Plant Physiol. 8: 335—348.
- Daudoroff M., 1943, J. Biol. Chem. 151, 351.
- Dible W. T., Truog E., Berger K. C., 1954, Anal. chem. 26: 418—421.
- Dormer K. J., Street H. E., 1949, Annals of Bot. 13: 199—217.
- Dugger W. M. Jr., Humphreys J. E., Calhoun B., 1957, Plant Physiol., 32: 364—370.
- Fujita Akiji, Danzo Iwatake, 1931, Biochem. Zeitschrift 242: 43—60.
- Fiske C. H., Subbarow Y., 1925, J. Biol. Chem. 66: 375.
- Gauch H. G., Dugger W. M., 1953, Plant Physiol. 28: 457—466.
- Gauch H. G., Dugger W. M., 1954, The physiological action of boron in higher plants. A review and interpretation, Bull. Maryland Univ. Agr. Expt. Sta., Bul. A, 80, (Tech.).
- Harley J. L., Smith D. S., 1956, Annals of Bot. 20: 513—543.
- Jakowlewa W. W., 1955, Sbornik statiej „O pitanii rastienij“, 174—185, Sielchozgez, Moskwa.
- Johnston E. S., Doore W. H., 1929, Plant Physiology, 4: 31—62.
- Kursanow A. L., Kriukowa N. N., Siebienko D. S., 1948, Biochimija, 13: 456—465.
- Kursanow A. L., Turkina M. W., Dubinowa J. M., 1958, DAN SSSR, 95: 1115.
- Kursanow A. L., Wyskiebiencewa J. J., 1954, Fizjologija rastienij 1: 156—163.
- Loomis W. E., 1945, Science 101: 398—400.
- Majewski F., 1956, Postępy nauk rolniczych 38: 47—62.
- Mitchell J. W., Dugger W. M., Gauch H. G., 1953, Science 118: 354—355.
- Neals T. F., 1959, Nature 183, 483.
- Nelson C. D., Gorham R., 1957, Can. J. Bot. 35: 339—347.
- Odhnoff C., 1957, Physiologia Plantarum 10: 984—1000.
- O'Kelley J. C., 1957, Am. Journ. of Bot. 44: 239—244.
- Oren R., Gum, Drown H. D., Durrell R. C., 1945, Plant Physiology 20: 267—275.
- Pennell G. A., Weatherley P. E., 1958, New Phytologist 57: 326—339.
- Phillis E., Mason T. G., 1937, Annals of Bot. 1: 231—237.
- Rothstein A., 1954, Symposia Soc. Expt. Biol. 8: 165—202.
- Säid H., 1948, Nature, 162, 496.
- Scripture P. N., McHarque J. S., 1945, Journ. Amer. Soc. Agron. 37: 360—364.
- Sheil M., McGregor Street M. E., 1953, Annals of Bot. 17: 385—397.

- Sisler E. G., Dugger Jr. W. M., Gauch H. G., 1956, *Plant Physiology* 31: 11—17.
- Skok J., 1957 a, *Plant Physiol.* 32: 308—312.
- Skok J., 1957 b, *Plant Physiol.* 32: 648—658.
- Skok J., 1957 c, The role of boron in the plant cell, *Trace elements*, Academic press. New York, London, 227—243.
- Spurr A. R., 1957, *Science* 126: 78—80.
- Street W. E., Lowe J. S., 1950, *Annals of Bot.* 14: 307—329.
- Swanson C. A., El-Shishiny E. D. H., 1958, *Plant Physiology* 33: 33—37.
- Szkolnik M. J., 1950, Znaczenie mikroelementów w życiu roślin i ziemle-dielii, Moskwa-Leningrad.
- Szkolnik M. J., Abduraszиков S. A., 1958, *Fizjologija rasienij* 5: 393—399.
- Torssell K., 1956, *Physiologia Plantarum* 9: 652—664.
- Tukey S. H., 1958, Effectiveness of foliar absorption of plant nutrients. *Nuclear radiation in food and agriculture*, 157—167. D. Von Nostrand Comp.
- Turkina M. W., Dubinina J. M., 1953, *DAN SSSR* 95: 199—202.
- Turkina M. W., 1954, *Biochimija* 19: 357—363.
- Turnowska-Starck Z., 1959, *Acta Soc. bot. Pol.*, 28: 409—424.
- Wanner H., 1955, *Biological Abstract* 29, 24724.
- Wasilewska D., 1959, Nieopublikowane. Praca magisterska Zakł. Fizjologii Roślin S.G.G.W.
- Wayne J., Mc Ilrath, Palser B., 1956, *Bot. Gaz.* 118: 43—52.
- Weatherley P. E., 1954, *New Phytologist* 53: 204—216.
- Weatherley P. E., 1955, *New Phytologist* 54: 13—28.
- White-Stevens R. H., 1938, *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 36: 537—543.
- Winfield M. E., 1945, *Austral. J. exp. Biol.* 23: 111—117.
- Winfield M. E., 1945, *Austral. J. exp. Biol.* 23: 267—272.
- Zeigler H., 1956, *Planta* 47: 447—500.
- Zimmerman M. H., 1957, *Plant Physiology* 33: 213—217.
- Zittle C. A., 1951, *Advances in Enzymology* 12: 493—527.

Recherches sur le caractère chimique de la plaque cellulaire

M. J. OLSZEWSKA

Le problème du caractère chimique de la plaque cellulaire au cours de son développement demeure à l'heure actuelle assez obscur. Frey-Wyssling dans sa dernière monographie sur la membrane cellulaire (1959) considère que „Die Zellplatte lässt sich vital mit den basischen Farbstoffen Methylenblau und Neutralrot (Becker 1933) anfärben, was darauf hinweist, dass sie bereits saure Zellwandstoffe wie z. B. Pektine enthält. Es ist daher wahrscheinlich, dass sie ursprünglich tropfige Entmischung in der „Äquatorialebene des Phragmoplasten durch die Bildung von Polyuroniden bedingt ist” (p. 4).

Becker au cours de ses travaux (1932, 1933, 1934) qui ont établi l'opinion contemporaine sur la morphologie de la plaque cellulaire en voie de formation ne s'est pas attaché à résoudre l'aspect chimique de ce processus.

La présence de protéines et de polysaccharides dans la plaque cellulaire fut constatée par Shimamura et ôta (1956) au cours de leurs recherches cytochimiques sur le phragmoplaste.

La possibilité d'existence de lipides dans les membranes cellulaires a été supposée par Hansteen-Cranner (1919), mais c'est Idelman (1958) qui a démontré que la cloison est formée de granulations lipoprotéiques contenant des groupements SH liés aux protéines. Suivant cet auteur, la lame moyenne également renfermerait des lipides. Buva et Puissant (1958) ont observé au microscope électronique que dans le plan équatorial du phragmoplaste, les structures ergastoplasmiques sont noyées dans un substrat plus osmiophile qu'ailleurs.

Les recherches présentes ont pour but de suivre le caractère chimique de la plaque cellulaire, dès le début de sa différenciation, c'est à dire dès l'apparition des premières structures granulaires dans la zone équatoriale du phragmoplaste, jusqu'au moment où la jeune cloison atteint la membrane de la cellule maternelle.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le matériel choisi est le méristème radiculaire d'*Allium cepa* (matériel fixé, coupes à la paraffine d'une épaisseur de 8μ) ainsi que les poils staminaux et les jeunes pétales de *Tradescantia virginiana* et *T. bracteata* (matériel frais).

Les réactions cytochimiques ont été effectuées suivant les indications fournies par Pearse (1957), ou suivant les méthodes décrites dans les travaux originaux.

Pour la démonstration des lipides et lipoprotéides, le Soudan noir B (solution saturée dans de l'éthanol à 70°) a été utilisé. Ce colorant a été employé soit sur le matériel frais, soit sur le matériel fixé suivant la méthode de Mc Manus.

Les lipides neutres ont été mis en évidence à l'aide du mélange de Soudan III et IV (solution saturée dans de l'éthanol à 70°), ainsi qu'à l'aide de oil red dissous dans de l'isopropanol. Ces réactions n'ont été effectuées que sur le matériel frais. Pour obtenir une localisation des lipides neutres dans le méristème radiculaire d'oignon, le matériel fixé dans un mélange formol-calcium de Baker a été coloré par le bleu de Nil (solution à 1% à 60°C).

Pour caractériser les acides gras la méthode de Fischler (Pearse 1957) ainsi que la méthode de Borolier et Suchowsky (1958) ont été utilisées sur le matériel frais.

Les phospholipides ont été décelés suivant la méthode de Baker (Pearse 1957) dans le méristème radiculaire d'*Allium cepa*.

Les méthodes qui viennent d'être indiquées ont été appliquées avant ou après délipidation. Les lipides des coupes fixées dans le liquide de Bouin ont été extraits par la pyridine; les acides gras ont été éliminés du matériel non fixé par le mélange éthanol absolu-éther.

Pour constater la présence de protéines, la réaction avec le bleu de bromophénol (Mazia, Brewer, Alfert 1953) sur le méristème radiculaire d'oignon traité par les fixateurs de Carnoy, Bouin et Baker a été exécutée.

Les groupements SH ont été démontrés, dans le méristème radiculaire, par le test de Frédéric et Chèvremont (Pearse 1957) ainsi que par celui de Bennett (Pearse 1957).

Certaines coupes, après fixation dans le liquide de Carnoy, de Bouin, de Mc Manus ou de Baker, ont été traitées soit par la trypsine (0,1 mg/ml dans le tampon phosphate 0,05 M) pendant 1 heure à 37°C , soit par la pepsine (2 mg/ml dans HCl 0,02 N) pendant 2 heures à la même température. Ces coupes ont été collées sur les lames par le liquide d'Ulrich.

L'action des protéases a été suivie soit de la réaction au bleu de bromo-

phénol, soit des réactions caractéristiques des groupements SH, soit de la coloration au Soudan noir B.

Pour l'ARN la technique de Brachet a été employée (Pearse 1957). Une série de coupes a été traitée par la ribonucléase cristalline (Armour, 0,1 mg/ml) pendant 2 h. à 37°C.

Les polysaccharides ont été révélés par la réaction PAS selon Hotchiss (Pearse 1957) dans le méristème radiculaire d'*Allium cepa* fixé au Bouin. Une série de coupes témoins a subi le double traitement recommandé par Mc Manus et Cason (Pearse 1957).

Pour la détection de la cellulose le matériel fixé a été coloré au chlorure de zinc iodé.

La présence de pectines dans le méristème radiculaire fixé par différentes méthodes, ainsi que dans les poils staminaux in vivo, a été démontrée par le rouge de ruthénium.

La plasmolyse a été produite dans les poils staminaux de *Tradescantia* par KNO_3 0,5 M suivant Becker (1934).

Les figures, réalisées avec l'appareil à dessiner d'Abbé, ont été à dessein schématisées pour mettre en évidence la localisation des réactions cytochimiques. Toutes les observations ont été exécutées au microscope Lumipan-Zeiss.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Les granulations, qui apparaissent vers la zone moyenne du phragmoplaste, et qui constituent les structures les plus primitives de la plaque cellulaire, sont colorées sur le matériel frais par le Soudan III et IV ou

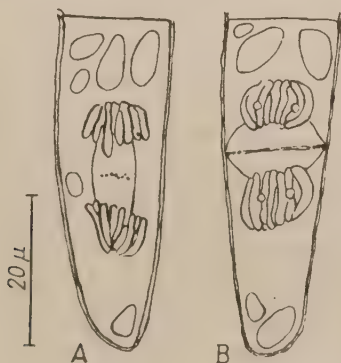


Fig. 1. Poils staminaux de *Tradescantia virginiana*. Les structures granuleuses dans la partie la plus jeune de la plaque sont colorées par le Soudan III et IV

par oil red (fig. 1 A). Sur le matériel fixé dans un mélange de Baker, les mêmes grains prennent une coloration rouge avec le bleu de Nil. Ces

résultats prouvent que les granulations en question renferment des lipides neutres. Pendant la télophase plus avancée, lorsque la plaque atteint les membranes de la cellule maternelle, on voit très nettement que les lipides neutres donnent une réaction uniquement dans les parties les plus jeunes de la plaque cellulaire (fig. 1 B). Au cours de la même période de la télophase, c'est près de la surface supérieure de la cellule maternelle que ces globules sont les plus évidents.

Ces granulations sont colorées par le Soudan noir B dans les coupes fixées (méthode de McManus) ainsi que dans le matériel frais (fig. 2 B).

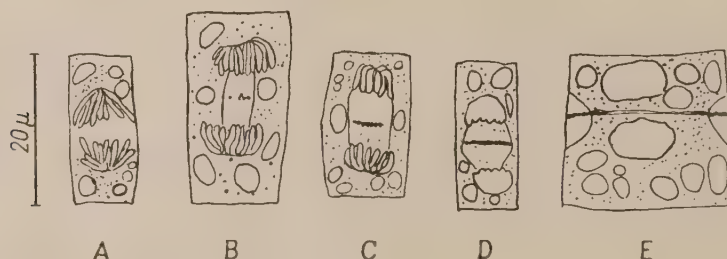


Fig. 2. Méristème racinaire d'*Allium cepa*. Fixation et coloration par le Soudan noir B selon McManus. Les parties les plus jeunes, ainsi que les parties jeunes de la plaque donnent une réaction positive

Néanmoins, au cours de la télophase plus avancée, le Soudan noir colore plus de grains que les réactifs décelant les lipides neutres (fig. 2 C). Le Soudan noir donne une réaction positive même dans la partie plus âgée de la plaque, là où elle semble être déjà continue (fig. 2 E).

La région interzonale, ainsi que le phragmoplaste pendant toute la télophase, sont presque entièrement privés de granules cytoplasmiques montrant une réaction positive avec le Soudan noir, tandis que les autres territoires en contiennent une grande quantité. Les granules présents dans le phragmoplaste sont des microsomes — c'est à dire des sphérosomes d'après la terminologie actuelle — dont l'existence dans cet organe avait été constatée par Bělař (1930).

Le fait que le Soudan noir colore plus largement la plaque que les réactifs révélant les lipides neutres, nous a conduit à conclure que la plaque plus âgée contient également des corps gras; cependant, ces derniers sont différents des lipides neutres. Les secteurs considérés de la plaque sont colorés en bleu par le bleu de Nil, mais on sait que cette coloration n'est spécifique ni des lipoides, ni des acides gras.

La recherche des acides gras a confirmé leur présence dans les parties un peu plus âgées de la plaque cellulaire, là où le Soudan noir montre encore une réaction positive. L'aspect des concrétions contenant les acides

gras dépend du traitement subi par le matériel. La méthode de Fischler montre dans la plaque une ligne de bâtonnets, rarement un chapelet de granulations (fig. 3 A), tandis que la technique de Borolier et Suchowsky ne noircit que des petites grains (fig. 3 B, C). Les acides gras se trouvent dans ces parties de la plaque qui sont déjà presque entièrement privées de lipides neutres.

Dans les secteurs les plus jeunes de la plaque, il n'y a pas de phospholipides. Par contre, nous avons pu constater leur présence — sous forme

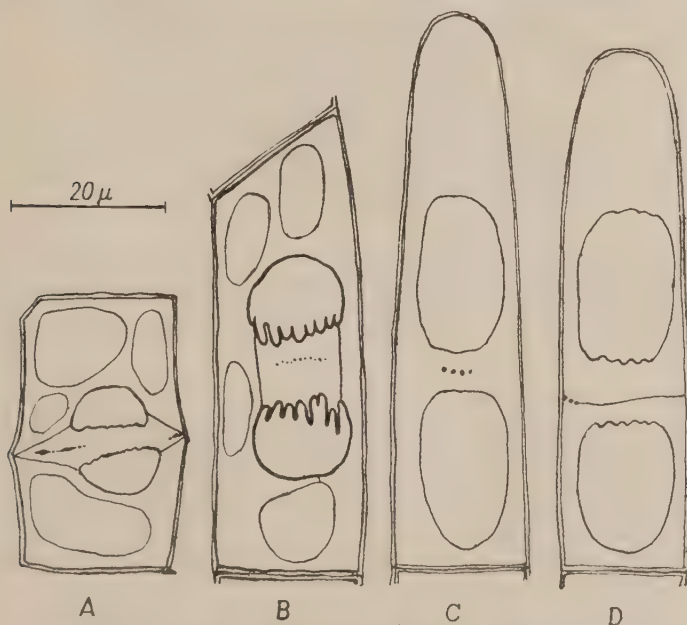


Fig. 3. *Tradescantia virginiana*. Résultats des réactions caractérisant les acides gras. A — selon Fischler sur les pétales; on remarque une réaction positive dans les parties jeunes de la plaque sous forme de bâtonnets et granulations. B, C, D — selon Borolier et Suchowsky sur les poils staminaux. Les figures C et D représentent une même cellule observée à deux niveaux différents: C — près de la surface supérieure, D — sur le plan médian; la localisation de la réaction est la même que sur la fig. A, mais elle montre uniquement des granulations

de petits globules — dans les parties de la plaque qui contiennent des acides gras (fig. 4). Exception faite de la région la plus jeune de la plaque, l'hématéine acide colore les mêmes structures que le Soudan noir, il en est de même en ce qui concerne les granulations cytoplasmiques. Néanmoins, les grains de la plaque colorés par le Soudan noir sont beaucoup plus grands que ceux colorés par l'hématéine acide.

A partir de la télophase moyenne on voit sur les chromosomes de nom-

breux corpuscules colorés par l'hématéine acide (fig. 4 B, C). Les nucléoles des noyaux en repos contiennent aussi des substances colorées par l'hématéine acide. Ces observations ressemblent — au point de vue morphologique — à celles de Rattenbury et Serra (1952) suivant lesquelles la substance nucléolaire, chez certaines plantes, apparaît d'abord

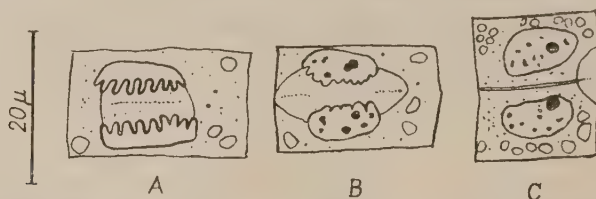


Fig. 4. Méristème racinaire d'*Allium cepa* fixé dans le mélange formol-calcium de Baker, coloré par l'hématéine acide. Une réaction positive dans les parties jeunes de la plaque sous forme de petites granulations

sous la forme de gouttelettes dispersées à la surface des chromosomes („droplet type"). Selon ces auteurs, ces gouttelettes sont ensuite accumulées au niveau des organisateurs nucléolaires, puis transformées en nucléoles.

Nous n'avons jamais constaté de réaction positive avec le Soudan noir B, ni avec le bleu de Nil, non plus qu'avec l'hématéine acide de Baker, sur les préparations traitées préalablement par la pyridine.

La partie la plus jeune de la plaque, constituée par les lipides neutres, ne contient jamais de protéines (fig. 5 B, D). Les protéines ne se laissent démontrer qu'à la périphérie des secteurs colorables par le Soudan noir.

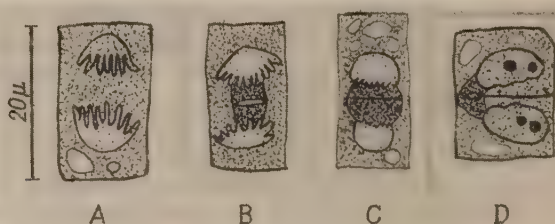


Fig. 5. Méristème racinaire d'*Allium cepa* fixé au Carnoy. L'intensité de la coloration après la réaction avec le bleu de bromophénol selon Mazia et coll. est montrée. Les parties les plus jeunes de la plaque sont privées de protéines (B), les parties plus âgées en contiennent

Pendant la télophase plus avancée toute la partie continue de la plaque renferme des protéines. Cependant, dans les cellules larges, on voit que les parties les plus âgées en sont privées (fig. 6).

Sur les préparations prétraitées à la pyridine et ensuite colorées par le bleu de bromophénol, on distingue des taches incolores correspondant aux parties les plus jeunes de la plaque (fig. 6).

Les coupes soumises à l'action des protéases ne montrent qu'une couleur bleue très pâle.

Les protéines présentes dans la plaque et dans le phragmoplaste se caractérisent par des groupement SH, ce qui fut constaté par Idelman (1958). La plaque dans sa partie protéique donne une réaction fortement

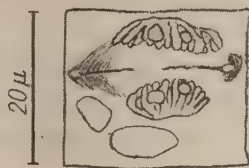


Fig. 6. Méristème racinaire d'*Allium cepa* fixé au Bouin, extraction des lipides par la pyridine; le résultat de la coloration par le bleu de bromophénol est marqué simplement au niveau du phragmoplaste et de la plaque. On voit les places incolores correspondant aux parties les plus jeunes de la plaque et qui étaient occupées par les lipides extraits

positive avec le test de Frédéric et Chèvremont, ainsi qu'avec celui de Bennett. Dans les coupes prétraitées par les protéases le résultat de ces réactions est presque négatif.

Pour savoir si les parties les plus âgées de la plaque, qui ne se colorent plus par le Soudan noir, ne renferment pas de lipides masqués liés aux

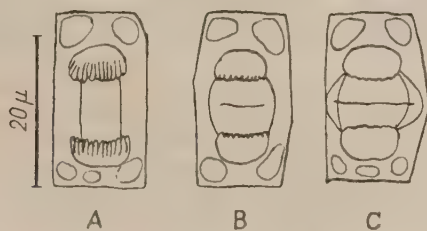


Fig. 7. Méristème racinaire d'*Allium cepa* fixé au Bouin. Localisation des polysaccharides après la réaction PAS. Les polysaccharides sont présents dans la plaque à partir de la télophase moyenne

protéines, on a traité à la pepsine et à la trypsine le matériel fixé par des méthodes préservant les corps gras (Mc Manus, Baker). Les coupes soumises à la digestion enzymatique ont été ensuite colorées par le

Soudan noir. En ce qui concerne la plaque cellulaire, les images obtenues ressemblaient à celles des coupes non digérées, bien que de nombreux globules graisseux soient apparus dans le cytoplasme et notamment tout près du noyau. Cette expérience prouve que la plaque est dépourvue de lipides masqués indécélables par le Soudan noir.

La réaction caractérisant l'ARN a toujours été négative dans la plaque. Les mêmes résultats furent obtenus par Shimamura et ôta (1956).

Les polysaccharides apparaissent dans la plaque cellulaire en même temps que les protéines (fig. 7) et restent comme un élément intégrant dans les parties de la plaque les plus âgées, privées de protéines, ainsi que dans les membranes des cellules adultes.

Nous n'avons pu réussir la coloration avec le chlorure de zinc iodé. Les membranes des cellules en repos étaient colorées en violet-clair, mais il n'était pas possible de distinguer avec certitude cette couleur dans la plaque cellulaire.

Pendant toute la télophase, la réaction avec le rouge de ruthénium est négative *in vivo* ainsi que dans le matériel fixé. *In vivo* les pectines n'apparaissent que 30 à 40 min. après la fin de la cytokinèse; de ré-

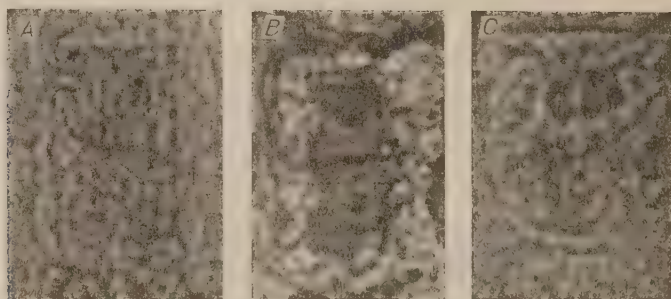


Fig. 8. Télophase dans le méristème racinaire d'*Allium cepa*. A — fixation selon Baker, coloration par le bleu de Nil; télophase précoce, dans le zone équatorial du phragmoplaste les gouttelettes de lipides neutres sont évidentes. B — fixation selon McManus, coloration par le Soudan noir; télophase moyenne, toute la plaque donne une réaction positive. C — fixation au Bouin, extraction par la pyridine, coloration par le Soudan noir; télophase moyenne, au niveau de la plaque le résultat de la réaction est négatif

sultats analogues ont été observés sur le matériel fixé. La couleur rouge est évidente en premier lieu dans la partie centrale (partie la plus âgée), et ensuite gagne en 10 à 20 min. env., la totalité de la nouvelle membrane. Ces observations concordent avec celles de Becker (1934) faites sur le même matériel (les poils staminaux de *Tradescantia*).

Nous avons repris les expériences de Bělař (1930) et de Becker (1932, 1934) concernant la plasmolyse des cellules au cours des différentes étapes de la télophase. Notre but étant de déterminer à quel moment les cellules-filles sont complètement individualisées au cours de l'évolution de la plaque, nous avons coloré par le Soudan noir les cellules plasmolysées.

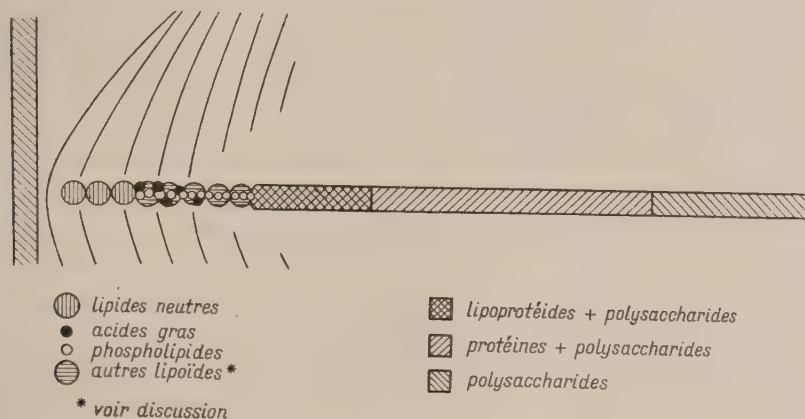


Fig. 9. Schéma montrant le caractère chimique de la plaque cellulaire au cours de son développement suivant les résultats obtenus dans cette étude. À droite — le milieu de la cellule maternelle, à l'extrême gauche — la membrane limitante. À gauche — les parties les plus jeunes de la plaque sont montrées sur le phragmoplaste

lysées. Nous avons établi, que dans les cellules séparées par une plaque contenant des lipides dans ses parties les plus jeunes (ces parties étant contigües à la membrane de la cellule maternelle), les protoplastes-fils ne se décolent pas de la plaque. Les cellules plasmolysables sont toujours séparées par une cloison dépourvue de lipides.

DISCUSSION

Les résultats des recherches cytochimiques décrites ci-dessus permettent d'établir une évolution de la nature chimique de la plaque cellulaire au cours du temps. Toutes les étapes représentées sur le schéma (fig. 9) peuvent être nettement suivies dans les cellules larges, c'est à dire dans les cellules du méristème racinaire d'*Allium cepa* qui seront transformées en vaisseaux de métaxylème.

Ce sont les lipides neutres qui constituent les éléments les plus primitifs de la plaque cellulaire. Bientôt on y trouve des acides gras à côté des phospholipides. Il faut noter que les phospholipides, après la réaction

de Baker, se présentent sous forme de globules beaucoup plus petits que ceux donnant une réaction positive avec le Soudan noir dans les mêmes parties de la plaque. Deux possibilités peuvent donc exister: 1) La méthode de fixation employée entraîne la perte d'une partie des phospholipides; La Cour, Chayen et Gahan (1958) ont prouvé par chromatographie que le liquide de Baker, malgré ses qualités, extrait une certaine quantité des phospholipides des méristèmes radiculaires d'oignon. 2) Des lipides, de caractère chimique indéterminé peuvent être présents à côté des phospholipides.

En comparant la longueur de la partie de la plaque qui se colore par le Soudan noir avec la longueur de celle qui donne une réaction positive avec le bleu de bromophénol, on peut supposer que la plaque, pendant une certaine étape de son développement, peut contenir également des lipoprotéides.

Les polysaccharides apparaissent très tôt; ils se situent à la périphérie de la zone renfermant encore des lipides. Ensuite ils sont accompagnés par les protéines. A la fin du développement de la plaque, les polysaccharides sont les seuls éléments qu'il est possible de démontrer avec certitude.

La formation de la cellulose, conséquence de la polymérisation des polysaccharides, n'a lieu que 30 min. après la fin de la cytokinèse, comme l'ont montré les observations de Becker (1934) au microscope polarisant: la cellulose apparaîtrait donc en même temps que les substances pectiques. Mais il est possible que le processus de formation de la cellulose commence beaucoup plus tôt: Inoué (1953) considère que la jeune plaque, au cours de la télophase, présente en lumière polarisée, une biréfringence positive dans le plan de la future membrane cellulaire. La cellulose et les pectines dans une jeune membrane ont été montrées par Dauphiné (1939).

On peut se demander si les divers constituants de la plaque cellulaire qui apparaissent successivement, sont les produits de la transformation des lipides neutres, éléments primitifs.

Le problème de la transformation des lipides neutres en hydrates de carbone n'est pas totalement résolu. On sait néanmoins (Deuel 1957) que les glucides peuvent provenir du glycérol libre. En ce qui concerne les acides gras, certains seulement peuvent donner naissance aux hydrates de carbone. Les transformations des lipides, et de leurs éléments en hydrates de carbone exigent des quantités considérables d'oxygène, et le rendement de ces réactions est bas (5—50%). Cependant, il résulte des expériences de Becker (1932) sur la coloration vitale de la plaque cellulaire par le bleu de méthylène, que la formation de la plaque cellu-

laire est liée à une libération d'oxygène, puisque le bleu de méthylène conserve sa couleur bleue.

Il est possible, en principe, que les acides gras provenant des lipides neutres s'incorporent dans les phospholipides. De nombreuses réactions provoquent l'incorporation de phosphore minéral dans les phospholipides, entre autres la formation des glycér phosphates. Cependant pour que la liaison des acides gras avec les glycér phosphates puisse s'accomplir, la présence du CoA est nécessaire.

Parmi les acides aminés, la glycine constitue le produit de la décomposition de la choline et de l'éthanolamine (élément des céphalines). Par contre, un certain type de phospholipides contient normalement de la sérine.

Les polysaccharides qui apparaissent dans la plaque cellulaire pourraient provenir de la transformation des lipides neutres et de celle des phospholipides. La présence et la localisation des acides gras dans la plaque cellulaire montrent que la mise en liberté des lipides neutres est bientôt suivie par leur hydrolyse, dont les produits — le glycér ol et les acides gras — pourraient être oxygénés en hydrates de carbone ou transformés en phospholipides.

L'origine des protéines dans la plaque cellulaire n'est pas clairement établie. Il est probable qu'elles constituent les produits de décomposition, soit de la choline et des complexes phospholipidiques analogues, soit de phospholipides contenant de la sérine; mais les réactions intensives caractérisant les protéines peuvent être également attribuées à la présence des enzymes catalysant les transformations des corps gras en glucides. La présence transitoire des protéines est un argument en faveur de la seconde hypothèse.

Les considérations ci-dessus n'ont qu'un caractère théorique: les insuffisances des techniques cytochimiques ne nous permettent pas de démontrer si tous les éléments chimiques de la plaque, et même les polysaccharides (constituants définitifs), se forment in situ et résultent de la décomposition et de la transformation des lipides neutres, ou bien, si ces substances proviennent du phragmoplaste: il est plus probable que ces deux processus coexistent.

Suivant Becker (1934) la cytodiérèse est le processus de séparation des phases dans une zone définie du cytoplasme sous forme de gouttelettes; au cours de ce processus, le protoplaste primitif se sépare en deux protoplastes dérivés: la substance libérée du cytoplasme sous forme de gouttes devient, à la suite de transformations physico-chimiques, une cloison solide, séparant les deux cellules.

D'après les présentes observations, nous pouvons pleinement confir-

mer cette définition et la compléter par des résultats d'ordre cytochimique. L'apparition des gouttelettes de lipides neutres peut être considérée comme une sorte de lipophanèrose, si on définit la lipophanèrose comme „la mise en liberté des lipides cellulaires par destruction spontanée ou artificielle des complexes lipoprotéidiques” (Macheboeuf 1937).

Ayant mis en évidence le fait que les structures les plus primitives de la plaque sont les gouttelettes de lipides neutres (on sait que cette catégorie de lipides se présente toujours sous forme de gouttelettes ou de granules, donc l'aspect en gouttes n'est pas un artefact), on peut admettre comme définitivement démontré que la plaque cellulaire se constitue non pas à partir d'une ébauche continue, mais à partir de gouttelettes (voir Robyns 1926/27, Bělař 1930, ainsi que le résumé de Becker 1932).

RÉSUMÉ

On a étudié, par des méthodes cytochimiques, la plaque cellulaire au cours de son développement. On a constaté que les lipides neutres, provenant de la séparation des phases à l'intérieur du phragmoplaste (comme l'a proposé Becker 1932, 1934), se présentent d'abord sous forme de gouttelettes. Ensuite ont été décelés les acides gras et les phospholipides; la présence des autres lipoides a été admise. Au cours de l'étape suivante, alors que la plaque est déjà continue, on a montré successivement les lipoprotéides et les polysaccharides, les protéines et les polysaccharides, et enfin les polysaccharides seuls. L'existence de pectines ne peut être constatée que 30 min. après la fin de la cytocinèse.

D'après les données sur le métabolisme des lipides, on a considéré la possibilité de formation in situ de certains constituants de la plaque, à partir des éléments primaires, c'est à dire des lipides neutres.

Nous désirons exprimer notre profonde gratitude envers Mme le Professeur dr. A. Wałek-Czernecka, qui nous a aidé constamment de ses conseils précieux et de ses critiques bienveillantes.

*Laboratoire d'Anatomie
et de Cytologie Végétales
Université de Łódź, Pologne*

STRESZCZENIE WYNIKÓW

Badano za pomocą metod cytochemicznych przegrodę pierwotną w różnych fazach jej rozwoju. Stwierdzono, że najpierw w postaci kropelek, pojawiają się tłuszcze obojętne, wylaniające się z fragmoplastu drogą odmieszania, jak to postulował Becker (1932, 1934). Następnie można wykryć kwasy tłuszczowe, fosfolipidy, a obok nich prawdopodobnie inne tłuszcze złożone. W dalszym etapie, kiedy przegroda ma już charakter ciągłej płytki, występują lipoproteidy i polisacharydy, białka i poli-

sacharydy, a w końcu same polisacharydy. Pektyny pojawiają się w ok. pół godz. po zakończeniu cytokinezy.

Na podstawie danych o metabolizmie tłuszczów uznano za możliwe powstawanie pewnych składników przegrody pierwotnej in situ z jej zaczątków, tj. z tłuszczów obojętnych.

Zakład Anatomii i Cytologii Roślin

Uniwersytetu Łódzkiego

(Wpłynęło dn. 7.1.1960 r.)

BIBLIOGRAPHIE

- Becker W. A., 1932, Badania eksperymentalne nad barwieniem za życia dzielących się komórek. *Studia nad cytokinezą*, Acta Soc. Bot. Pol. 9: 381—419.
- Becker W. A., 1933, Applications de la coloration vitale à l'étude de la cytodierèse, C. R. Ac. Sc. 196: 2022—24.
- Becker W. A., 1934, Badania eksperymentalne nad barwieniem za życia dzielących się komórek. III. Dalsze studia nad cytokinezą, Acta Soc. Bot. Pol. 11: 139—203.
- Bělař K., 1930, Beiträge zur Kausalanalyse der Mitose. III. Untersuchungen an den Staubfadenzellen und Blattmeristem von *Tradescantia virginica*, Zeitschr. f. Zellf. u. mikr. Anat. 10: 73—134.
- Borolier J., Suchowsky G., 1958, Eine neue Methode zur Darstellung von Doppelbindungen in den Fettsäurebausteinen von Lipoiden, Acta Histochem., 5: 297—299.
- Buvat, R., Puissant A., 1958, Observation sur la cytodierèse et l'origine des plasmodesmes, C. R. Ac. Sc. 247: 233—236.
- Dauphiné A., 1939, Origine et évolution de la lamelle moyenne dans les membranes pecto-cellulosiques, Rev. Gén. Bot. 51: 321—326.
- Deuel H. J. Jr, 1957, The Lipids, Vol. III. Interscience Publ. Inc., New York, 1065 p.
- Frey-Wyssling A., 1959, Die Pflanzliche Zellwand. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg.
- Hansteen-Cranner B., 1919, Beiträge zur Biochimie und Physiologie der Zellwand und der plasmatischen Grenzschichten, Ber. dsch. bot. Ges. 37: 380—391.
- Idelman S., 1958, Les lipides et les groupements sulphhydriels liés aux protéines au cours de la mitose de *Tradescantia reflexa*, C. R. Ac. Sc. 246: 3499—3501.
- Inoué S., 1953, Polarisation optical studies on the mitotic spindle. I. The demonstration of spindle fibers in living cells, Chromosoma 5: 487—500.
- La Cour L. F., Chayen J., Gahan P. S., 1958, Evidence for lipid material in chromosomes, Expl. Cell. Res. 14: 469—485.
- Macheboeuf M., 1937, Etat des lipides dans la matiere vivante, Exposé de Biologie, Paris, Hermann et Cie éd., 78 p.
- Mazia D., Brewer P. A., Alfert M., 1953, The cytochemical staining and measurement of protein with mercuric bromophenol blue, Biol. Bull. 104: 57—67.
- Pearse A. C., 1957, Histochemia teoretyczna i stosowana, PZWŁ, Warszawa.
- Rattenbury J. A., Serra J. A., 1952, Types of nucleolus reconstitution in telophase and the question of the "nucleolar organizer". Portug. Acta Biol. (A), 3: 239—260.
- Robyns W., 1926 27. Le fuseau de caryocinèse et le fuseau de cytokinèse dans les divisions somatiques des Phanérogames, Cellule 37: 143—179.
- Shimamura T., Ôta T., 1956, Cytochemical studies on the mitotic spindle and the phragmoplast of plant cells, Expl. Cell Res. 11: 346—361.

Dalsze badania nad wpływem kinetyny na kiełkowanie ziaren pyłkowych i wzrost łagiewek pyłkowych

*Nouvelles observations sur l'influence de la kinétine sur la germination
des grains de pollen et sur la croissance des tubes polliniques*

A. GÓRSKA-BRYLASS

WSTĘP

Biologiczna aktywność kinetyny jest w dalszym ciągu przedmiotem badań wielu autorów. Wyniki tych badań wskazują na ogromną aktywność kinetyny w procesach wzrostowych i rozwojowych roślin i zwierząt. Stymuluje ona wzrost i rozwój takich organów jak liście (Scott i Liverman 1956, Miller 1956, Wardlaw i Mitra 1958), korzenie (Guttman 1956, Supniewski, Krupińska i in. 1957, Mitra i Allsopp 1959), pąki (Gorton, Eakin 1957) i łodygi (Supniewski, Krupińska). Stwierdzono również, że kinetyna intensyfikuje procesy wzrostu i podziału u roślin niższych (Dmochowski, Maciejewska-Potapczykowa i in. 1957, Olszewska 1958, Maltzahn 1959, Kennel 1959).

Wyniki badań dotyczących wpływu kinetyny na poszczególne organy u roślin nie zawsze są jednak zgodne. Stwierdzono na przykład, że kinetyna pobudza wzrost korzeni *Allium cepa* (Guttman l. c.), a hamuje wzrost korzeni *Allium sativum* (Deysson 1959b), stymuluje wzrost łodygi i korzeni kiełkujących nasion słonecznika i bobu (Supniewski, Krupińska i in. l. c.), lecz hamuje wzrost wycinków hypocotyła słonecznika (de Ropp 1956).

Kontrowersyjne są również niektóre obserwacje dotyczące wpływu kinetyny na te same obiekty. Supniewski i współpr. podają, że kinetyna nie ma żadnego wpływu na rozwój szeregu bakterii, między innymi na rozwój *Escherichia coli*, podczas gdy Kennel obserwował stymulacyjny wpływ kinetyny na tę bakterię. Należy zaznaczyć, że obaj badacze stosowali to samo stężenie kinetyny. Niezgodne są również wyniki wspomnianych autorów dotyczące wpływu kinetyny na drożdże. Supniewski i współpr. obserwowali pobudzenie rozwoju drożdży bro-

warnianych i piekarniczych w obecności kinetyny, natomiast doświadczenia Kennela nie wykazały jej wpływu na zwiększenie ilości komórek w kulturach *Saccharomyces pombe*. Supniewski i współpr. podkreślają znaczne różnice w intensywności działania kinetyny na kiełkujące nasiona różnych roślin.

Niezgodność wyników dotyczących wpływu kinetyny na wzrost i rozwój różnych roślin, a przede wszystkim stwierdzone niejednakowe działanie kinetyny na te same organy u poszczególnych roślin skłoniły mnie do podjęcia dalszych badań nad wpływem kinetyny na kiełkowanie pyłku i wzrost łagiewek pyłkowych, które były przedmiotem mojej poprzedniej publikacji (Górska-Brylass 1959). W pracy tej stwierdziłam, że kinetyna jest czynnikiem silnie stymulującym wzrost łagiewek pyłkowych *Primula sinensis* i pobudza kiełkowanie ziaren pyłkowych *Lupinus luteus*, pozostając bez wpływu na ostateczny procent kiełkujących pyłków.

Praca niniejsza jest kontynuacją pracy poprzedniej. W oparciu o szerszy materiał doświadczalny zmierza ona do wyjaśnienia, o ile stymulacyjny wpływ kinetyny na kiełkowanie ziaren pyłkowych i wzrost łagiewek pyłkowych jest zjawiskiem stałym.

MATERIAŁ I METODY

Do badań nad szybkością kiełkowania ziaren pyłkowych użyty był pyłek *Cyclamen persicum* Mill., *Hyacinthus orientalis* L., *Convallaria majalis* L., *Lupinus mutabilis* Sw., *Tradescantia virginica* L. oraz *Primula officinalis* Jacq.

Szybkość wzrostu łagiewek pyłkowych obserwowana była u *Hyacinthus orientalis* L., *Convallaria majalis* L., *Cyclamen persicum* Mill. Wpływ kinetyny na maksymalną długość łagiewek pyłkowych badany był na pyłku: *Lysimachia vulgaris* L., *Cyclamen persicum* Mill., *Convallaria majalis* L., *Primula officinalis* Jacq., *Lupinus mutabilis* Sw., *Tradescantia virginica* L. i *Begonia semperflorens* Link.

Pyłek pobierany do wszystkich wymienionych doświadczeń pochodził z roślin hodowanych w szklarni i ogrodzie Zakładu Anatomii i Cytologii Roślin Uniwersytetu Łódzkiego. Pobierałam pyłek zawsze o tej samej porze dnia z świeżo rozkwitłych kwiatów.

Metody badań były te same co w pracy poprzedniej (Górska-Brylass 1959). Ziarna pyłkowe wysiewałam na pożywcę zawierającej 10% agaru z dodatkiem sacharozy — były to kultury kontrolne. Optymalne stężenia sacharozy, ustalane osobno dla każdej rośliny, wynosiło od 5—20%. Kultury doświadczalne prowadzono na tej samej pożywce z dodatkiem kinetyny w stęż. 0,05 μM /ml. Oba rodzaje kultur prowadzone były równolegle. Stężenie 0,05 μM /ml zostało już uprzednio ustalone jako opty-

malne dla kiełkujących ziaren pyłkowych. Pylek, pobierany jednocześnie z kilku kwiatów i przed wysiewem dokładnie wymieszany, wysiewałam na płaskich kroplach pożywki umieszczonych na szkiełkach przedmiotowych, które układane były pionowo w małych, wilgotnych i szczelnie zamkniętych kamerach. Rolę kamer spełniały wanienki do barwienia (metoda Müller-Stol i Lercha 1957). Dla porównania szybkości kiełkowania ziaren pyłkowych w kulturze kontrolnej i w kulturze z kinetyną utrwaliałam w formalinie wysiewy pochodzące z obu kultur. Utrwalanie powtarzałam trzykrotnie w określonych odstępach czasu ustalonych dla każdego gatunku w zależności od szybkości kiełkowania. W ostatniej serii preparatów ilość kiełkujących ziaren pyłkowych zbliżona już była do maksymalnej. Tak utrwaloną hodowlę na kroplach pożywki pokrywałam cienką warstwą gliceryny z żelatyną i zamykałam szkiełkiem przykrywkowym, uzyskując w ten sposób preparaty nadające się do obserwacji mikroskopowej.

Utrwalanie materiału było konieczne, gdyż jak się okazało, bezpośrednio zamknięcie kultur w glicerynie z żelatyną nie przerywało wzrostu łagiewek pyłkowych.

Ilość kiełkujących ziaren pyłkowych obliczałam w mikroskopie Zeissa przy powiększeniu $80\times$. Procent kiełkujących ziaren pyłkowych ustalałam na podstawie obliczeń z 30 pól widzenia dla każdej z trzech serii preparatów pochodzących z obu kultur.

Dla zbadania szybkości i przebiegu wzrostu łagiewek pyłkowych szkiełka przedmiotowe, na których prowadzona była kultura, umieszczałam na stoliku lanametru. W celu zapewnienia odpowiedniej wilgotności rosnącym łagiewkom do brzegów szkiełka przedmiotowego przyłożone były paski bibuły filtracyjnej, przez które podsiąkała woda. Od góry szkiełko z hodowlą było szczelnie osłonięte szalką Petriego, w której zrobiony był niewielki otwór pozwalający na swobodne manewrowanie obiektywem.

Proces wydłużania się łagiewek pyłkowych, od momentu wykiełkowania do chwili ustania wzrostu, obserwowałam na ekranie lanametru zaznaczając na nim co godzinę położenie szczytu łagiewki pyłkowej.

Do badań używałam dwu lanametrów, dzięki czemu mogłam jednocześnie obserwować proces wzrostu łagiewek w hodowli kontrolnej i w hodowli z kinetyną. Szybkość wzrostu oznaczałam na podstawie obserwacji wydłużania się 10 łagiewek w każdej z hodowli.

Maksymalna długość osiągana przez łagiewki oznaczana była po 24 godzinach od chwili wysiania, tj. wtedy gdy już na pewno zakończony był wzrost łagiewek pyłkowych. Krople pożywki z wykiełkowanymi pyłkami pokrywane były cienką warstwą gliceryny z żelatyną (uprzednio stwierdziłam, że w glicerynie z żelatyną nie zmienia się długość łagiewek).

Na tak przygotowanych preparatach dokonywałam pomiarów długości łagiewek w lanametrze posługując się krzywomierzem kartograficznym. Dla wyrównania warunków doświadczenia brałam pod uwagę wyłącznie pyłki rozsiane pojedynczo oraz skupione po 2—3 ziarna. Średnią długość łagiewek ustaliłam na podstawie pomiarów 200 łagiewek.

Kielkowanie ziaren pyłkowych

Badania przeprowadzone były w okresie od lutego do czerwca 1959 roku. Pyłki różnych roślin kielkowały w niejednakowym czasie od chwili wysiania, a mianowicie: *Cyclamen persicum* po trzech godzinach, *Hyacinthus orientalis*, *Primula officinalis* i *Convallaria majalis* po 40 minutach, *Lupinus mutabilis* po 25 min., *Tradescantia virginica* po 15 min. Badany w poprzedniej pracy pyłek *Lupinus luteus* kielkował po 20 min., a pyłek *Primula sinensis* po 30 min.

Procent kielkujących pyłków obliczany po 24 godzinach prowadzenia hodowli był bardzo różny u poszczególnych roślin (tabela 1). Zjawisko

Tabela 1

Procent kielkujących pyłków obliczany po 24 godzinach prowadzenia hodowli

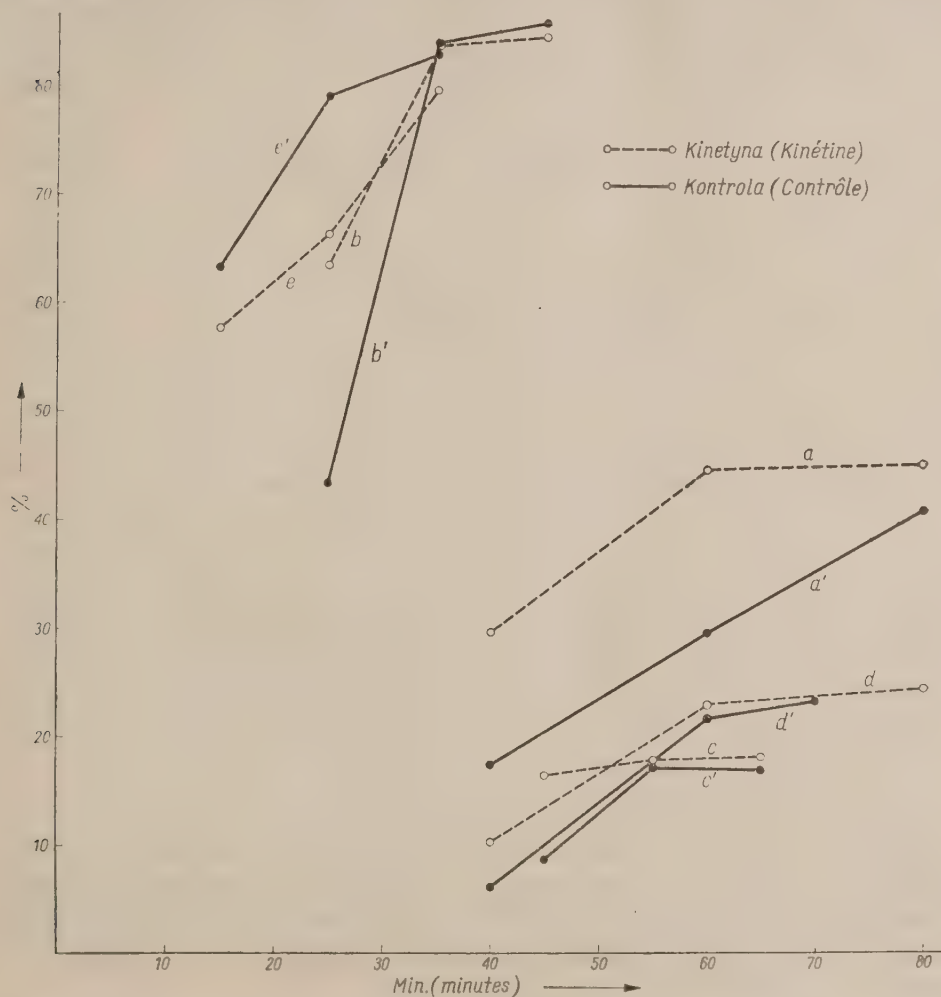
Gatunek	Hodowla kontrolna	Pożywka z kinetyną
<i>Lupinus mutabilis</i> Sw.	89,0	88,1
<i>Cyclamen persicum</i> Mil.l	25,3	25,6
<i>Convallaria majalis</i> L.	16,5	17,1
<i>Hyacinthus orientalis</i> L.	23,2	23,2
<i>Tradescantia virginica</i> L.	86,3	86,5
<i>Primula officinalis</i> Jacq.	49,2	50,1
<i>Lupinus luteus</i> L.*	71,5	70,9

* Dane z poprzedniej pracy.

to należy przypisać nie tylko różnicom gatunkowym. Jest rzeczą znaną, że siła kielkowania ziaren pyłkowych jest zależna od stopnia ich dojrzałości, a także od takich czynników, jak temperatury kwitnienia, stanu pogody i pory dnia. Dla wyrównania warunków doświadczenia pyłek pobierany był z świeżo rozkwitłych kwiatów o jednakowej porze dnia. Inne czynniki nie mogły być ustabilizowane, co niewątpliwie wpłynęło na tak znaczne wahania w ostatecznym procencie kielkujących ziaren pyłkowych.

Wpływ kinetyny na kielkowanie ziaren dawał się zauważyć tylko w początkowym okresie kielkowania, przy czym nie był jednakowy dla pyłków różnych gatunków. W okresie tym w kulturze z kinetyną kielko-

wanie ziarn pyłkowych *Primula officinalis* i *Lupinus mutabilis* przebiegało szybciej, co wyrażało się wyższym odsetkiem kiełkujących pyłków (ryc. 1a, a' oraz b, b').

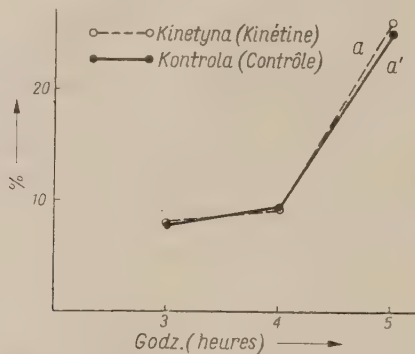


Ryc. 1. Krzywe kiełkowania ziaren pyłkowych: a, a' — u *Primula officinalis* L.; b, b' — u *Lupinus mutabilis* Sw.; c, c' — u *Convallaria majalis* L.; d, d' — u *Hyacinthus orientalis* L.; e, e' — u *Tradescantia virginica* L.

Curves de la germination des grains de pollen: a, a' — de *Primula officinalis* L.; b, b' — de *Lupinus mutabilis* Sw.; c, c' — de *Convallaria majalis* L.; d, d' — de *Hyacinthus orientalis* L.; e, e' — de *Tradescantia virginica* L.

Podobne wyniki uzyskałam w badaniach poprzednich u *Lupinus luteus*, którego ziarna pyłkowe w kulturze z kinetyną osiągały dwukrotnie wyższy procent kiełkujących pyłków od kontroli.

U *Convallaria majalis* i *Hyacinthus orientalis* obserwowałam tylko nieznaczne zwiększenie ilości kiełkujących ziaren pyłkowych w kulturze z kinetyną (ryc. 1c, c', d, d'). U *Tradescantia virginica* procent kiełkujących ziaren w kulturze z kinetyną był nawet niższy jak w kulturze kontrolnej (ryc. 1e, e'). Kiełkowanie ziaren pyłkowych *Cyclamen persicum* przebiegało



Ryc. 2. Kiełkowanie ziaren pyłkowych u *Cyclamen persicum* Mill.

Germination des grains de pollen de *Cyclamen persicum* Mill.

podobnie w obu kulturach (ryc. 2a, a'). Niezależnie od sposobu działania kinetyny (stymulującego czy hamującego) w początkowym okresie kiełkowania, substancja ta pozostawała bez wpływu na ostateczny procent kiełkujących ziaren pyłkowych u wszystkich badanych roślin (tab. 1).

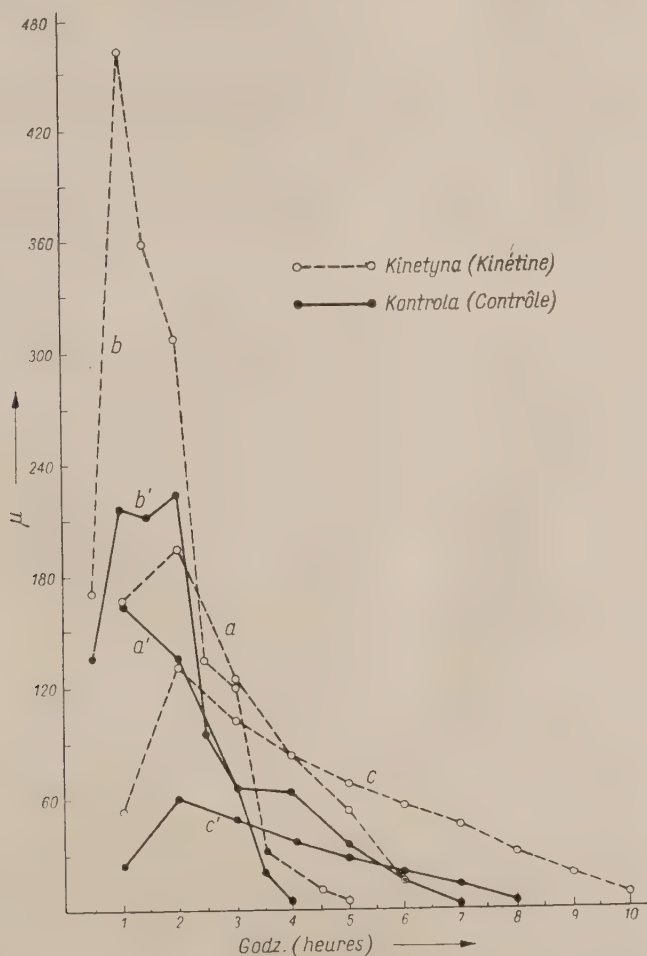
Maksymalna długość osiągana przez łagiewki pyłkowe

Badania nad maksymalną długością osiąganą przez łagiewki rosnące w kulturze z kinetyną i w kulturze kontrolnej przeprowadzane były w okresie od stycznia do czerwca 1959 r. Obejmowały one siedem gatunków wymienionych w rozdziale: „Materiał i Metody”. Wyniki badań zestawione są w tabeli 2.

Łagiewki pyłkowe poszczególnych gatunków różniły się długością (tab. 2, rubr. 3). Ponadto długość łagiewek pyłkowych w obrębie każdego gatunku wykazywała stale dość znaczne wahania. Dotyczy to zarówno łagiewek rosnących w kulturze z kinetyną, jak i w kulturze kontrolnej. Krańcowe długości łagiewek poszczególnych gatunków podane są w 4 rubryce tabeli 2. Stymulacyjny wpływ kinetyny na maksymalne wydłużenie łagiewek obserwowany był u wszystkich łagiewek zarówno najkrótszych, jak i najdłuższych (tab. 2, rubr. 4). Pozorny wyjątek stanowią najkrótsze łagiewki *Begonia semperflorens*. Należy jednak zaznaczyć, że w tym wy-

padku ilość łagiewek długości $50\ \mu$ była znacznie mniejsza w hodowli z kinetyną niż w hodowli kontrolnej.

Porównanie średnich długości łagiewek rosnących w kulturze kontrolnej i w kulturze doświadczalnej, zamieszczone w rubryce 5, wykazuje, że



Ryc. 3. Krzywe przyrostów długości łagiewek pyłkowych: a, a' — u *Convallaria majalis* L.; b, b' — u *Hyacinthus orientalis* L.; c, c' — u *Cyclamen persicum* Mill.

Curves de l'augmentation de la longueur des tubes polliniques, a, a' — de *Convallaria majalis* L.; b, b' — de *Hyacinthus orientalis* L.; c, c' — de *Cyclamen persicum* Mill.

u wszystkich zbadanych roślin łagiewki hodowane na pożywce z kinetyną osiągały długość większą od łagiewek kontrolnych. Różnice wynosiły od 78% do 162,8%.

Poza roślinami wymienionymi w tabeli 2, zwiększenie o 89,6% długości łagiewek hodowanych w środowisku z kinetyną obserwowałam również u *Hyacinthus orientalis*. Wynik ten został ustalony na podstawie pomiarów tylko 20 łagiewek, w związku z badaniem szybkości wzrostu łagiewek pyłkowych; ilustrują ten przypadek krzywe b i b' na ryc. 3.

Tabela 2

Maksymalne długości łagiewek pyłkowych w mikronach osiągnięte w kulturze z kinetyną i kulturze kontrolnej

Gatunek	Rodzaj pożywki	Średnia arytmetyczna	Krańcowe długości łagiewek	Porównanie śred- nich długości w % (długość kontrol- na = 100)
1	2	3	4	5
<i>Cyclamen persicum</i> Mill.	kontrola	271,5	81,8— 449,9	100
	kinetyna	707,5	122,7—1881,4	251,0
<i>Convallaria majalis</i> L.	kontrola	135,9	60,6—343,4	100
	kinetyna	241,9	121,2— 424,2	178,0
<i>Primula offici- nalis</i> Jacq.	kontrola	693,9	333,0—1318,6	100
	kinetyna	1515,1	985,6—2464,2	218,3
<i>Lupinus mutabilis</i> Sw.	kontrola	698,6	328,0—1459,6	100
	kinetyna	1759,7	426,4—2886,4	251,8
<i>Lysimachia vulgaris</i> L.	kontrola	494,7	125,0—1025,0	100
	kinetyna	961,5	250,0—1687,5	194,0
<i>Tradescantia virginica</i>	kontrola	514,8	150,0—1025,0	100
	kinetyna	1353,1	700,0—2187,5	262,8
<i>Begonia sem- perflorens</i> Link.	kontrola	133,3	50,0— 375,0	100
	kinetyna	283,8	50,0— 900,0	212,9
<i>Primula sinen- sis</i> * Lindl.	kontrola	94,3	42,1— 209,3	100
	kinetyna	239,5	12,5— 345,2	291,2

* Dane z poprzedniej pracy.

Szybkość wzrostu łagiewek pyłkowych

Obserwacje wzrostu łagiewek pyłkowych dokonywane były w styczniu i lutym 1959 r. u trzech gatunków roślin: *Convallaria majalis* L., *Cyclamen persicum* Mill., i *Hyacinthus orientalis* L.

Całkowity okres wzrostu łagiewek w kulturze kontrolnej, tzn. od chwili wykiełkowania ziaren pyłkowych do zakończenia procesu wzrostu, wy-

nosił u *Convallaria majalis* 8 godz. (ryc. 3a), u *Hyacinthus orientalis* — 4,5 godz. (ryc. 3b), u *Cyclamen persicum* — 9 godz. (ryc. 3c), u *Primula sinensis* (dane z poprzedniej pracy) — 7 godz.

W kulturze z kinetyną łagiewki osiągały maksymalną długość na ogół później. Łagiewki *Cyclamen persicum* rosły o 2 godz. dłużej niż w kontroli, łagiewki *Hyacinthus orientalis* o 1 godz. dłużej, u *Primula sinensis* (dane z poprzedniej pracy) okres wzrostu trwał o 2 godziny dłużej. Jedynie łagiewki *Convallaria majalis* kończyły wzrost prawie jednocześnie w obu kulturach.

Rytm wzrostu łagiewek pyłkowych *Cyclamen persicum* i *Hyacinthus orientalis* okazał się jednakowy w kulturze kontrolnej i z kinetyną (ryc. 3b, b' i c, c'). Łagiewki *C. persicum* w obu kulturach wydłużały się najsilniej w drugiej godzinie wzrostu. U *Hyacinthus orientalis* maksymalne wydłużenie się łagiewek przypadało w połowie 2 godz. po wykiełkowaniu. Łagiewki *Primula sinensis* (dane z poprzedniej pracy) wykazywały najenergiczniejszy wzrost w drugiej godzinie po wykiełkowaniu.

Rytm wzrostu łagiewek pyłkowych *Convallaria majalis* w kulturze z kinetyną został zmieniony. Łagiewki rosnące w kulturze kontrolnej osiągały maksymalny przyrost długości w pierwszej godzinie wzrostu, podczas gdy łagiewki rosnące w kulturze doświadczalnej rosły najszybciej w ciągu drugiej godziny wzrostu (ryc. 3a, a').

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Zbadanie wpływu kinetyny na kiełkowanie ziaren pyłkowych i wzrost łagiewek pyłkowych na szerszym materiale potwierdziło wyniki pracy poprzedniej i pozwoliło ustalić, o ile wpływ ten jest stały u różnych gatunków.

Badania niniejsze, podobnie jak poprzednie, wykazały wyraźny wpływ kinetyny na długość łagiewek pyłkowych u wszystkich zbadanych gatunków. Maksymalna długość łagiewek wzrosła w obecności kinetyny o 78% do 168,8% w stosunku do długości łagiewek kontrolnych.

Analogicznie zjawisko wydłużania się komórek pod wpływem kinetyny opisują inni autorzy. D m o c h o w s k i i współpr. (1957) poddając działaniu kinetyny wewnętrzną wyściółkę strąków grochu, obserwowali powstawanie długich palczastych komórek. Podobnie Miller (1956), który badał wpływ kinetyny na wzrost liści hodowanych in vitro, otrzymał zwiększenie rozmiarów komórek mięksiszowych. Praca Kennela (1959) wykazała, że komórki drożdży hodowane na pożywce z dodatkiem kinetyny i kwasu indolooctowego są większe i prawie dwukrotnie cięższe niż w kulturach kontrolnych.

Dość różny był wpływ kinetyny na proces kiełkowania ziaren pyłkowych u poszczególnych gatunków. Wpływ ten dał się zauważyć tylko w początkowym okresie kiełkowania. W pewnych przypadkach (*Primula officinalis*, *Lupinus mutabilis* oraz *Lupinus luteus* w pracy poprzedniej) pobudzające działanie kinetyny przerywało wcześniej okres spoczynku ziaren pyłkowych przyspieszając ich kiełkowanie, w innych (*Convallaria majalis*, *Hyacinthus orientalis*, *Cyclamen persicum*), pobudzającego działania kinetyny nie dało się zauważyć lub było ono nieznaczne. W jednym przypadku (*Tradescantia virginica*) działanie kinetyny opóźniło kiełkowanie ziaren pyłkowych.

Ostateczny procent kiełkujących pyłków okazał się niezależny od wpływu kinetyny u wszystkich badanych roślin.

Przerywanie okresu spoczynkowego pod wpływem kinetyny stwierdzili uprzednio Kurtz i Kummerow (1957) u *Hydrocharis*, Dmochowski i współpr. (1957) u bulw ziemniaka oraz Deyson u *Lemna minor* (1959a).

Wpływ kinetyny na szybkość wzrostu łagiewek pyłkowych jest różny u poszczególnych gatunków. U dwu zbadanych gatunków (*Cyclamen persicum*, *Hyacinthus orientalis*) kinetyna, podobnie jak w badaniach poprzednich powoduje przedłużenie okresu wzrostu łagiewek nie zmieniając rytmu wzrostu. U trzeciego z badanych gatunków (*Convallaria majalis*) kinetyna wpływa inaczej na szybkość wzrostu łagiewek: okres wzrostu jest nie zmieniony, natomiast zmianie ulega rytm wzrostu, co wyraża się przesunięciem maksymalnego wydłużenia łagiewek z pierwszej na drugą godzinę wzrostu.

Przedstawione wyniki badań wskazują, że dość różna była reakcja poszczególnych gatunków na działanie kinetyny, zarówno w procesie kiełkowania ziaren pyłkowych, jak i we wzroście łagiewek pyłkowych.

Podobne różnice w reakcji poszczególnych gatunków na obecność kinetyny obserwowali Supniewski i współpr. (1957) badając wpływ tej substancji na kiełkujące nasiona słonecznika, bobu i łubinu. Jest rzeczą znaną, że podobne wyniki otrzymał Addicott (1943), badając wpływ innych pochodnych purynowych na kiełkowanie ziaren pyłkowych i wydłużanie się łagiewek pyłkowych. Związki te stymulowały kiełkowanie pyłków i wzrost łagiewek pyłkowych u jednego gatunku nie działając na pyłek drugiego gatunku.

Być może, obserwowana różnica w działaniu kinetyny na rytm wzrostu łagiewek i szybkość kiełkowania ziaren pyłkowych u różnych gatunków jest związana z okresem podziału jądra generatywnego, który może odbywać się w różnym czasie u poszczególnych gatunków. Wyjaśnienie tego zagadnienia wymaga jednak dokładnych badań cytologicznych.

STRESZCZENIE

Zbadano wpływ kinetyny na kiełkowanie pyłku i wzrost łagiewek pyłkowych u szeregu gatunków roślin. Hodowle prowadzono na pożywce agar-sacharoza z dodatkiem kinetyny w stęż. $0,05 \mu\text{M/ml}$.

Stwierdzono, że kinetyna powoduje zwiększenie maksymalnej długości łagiewek pyłkowych u dziewięciu zbadanych gatunków o 78% do 168,8% w stosunku do długości łagiewek kontrolnych.

Wpływ kinetyny na kiełkowanie ziaren pyłkowych był niejednakowy. U trzech gatunków, na siedem zbadanych, kinetyna przyspieszała kiełkowanie pyłków, u trzech innych substancja ta pozostawała bez wpływu na szybkość kiełkowania, a w jednym przypadku nieznacznie opóźniała kiełkowanie pyłków.

Ostateczny procent kiełkujących pyłków był niezależny od działania kinetyny u wszystkich zbadanych gatunków.

Wpływ kinetyny na proces wzrostu łagiewek pyłkowych był wyraźny u wszystkich trzech zbadanych gatunków, lecz przedstawiał się niejednakowo. W dwu przypadkach (*Hyacinthus*, *Cyclamen*) nastąpiło przedłużenie okresu wzrostu łagiewek, przy czym rytm wzrostu nie uległ zmianie. W jednym przypadku (*Convallaria*) obecność kinetyny spowodowała zmianę rytmu wzrostu, nie wpływając na czas wydłużania się łagiewek.

Pragnę bardzo gorąco podziękować Pani Prof. Dr Annie Wałek-Czerneckiej za pokierowanie tokiem mojej pracy oraz cenne rady i wskazówki. Dziękuję także Pani Dr Marii Olszewskiej, od której otrzymałam wiele życzliwych rad w czasie wykonywania niniejszej pracy.

Miło mi również wyrazić podziękowanie Panu Prof. Dr J. Supniewskiemu za użyczenie zszytych przez niego kinetyny.

Zakład Anatomii i Cytologii Roślin
Uniwersytetu Łódzkiego

(Wpłynęło dn. 3.1.1960 r.)

RÉSUMÉ

Des recherches ont été faites sur l'influence de la kinétine sur la germination des grains de pollen et sur la croissance des tubes polliniques chez plusieurs espèces de plantes.

Les cultures ont été exécutées sur agar-agar — saccharose avec l'addition de la kinétine — en concentration de $0,05 \mu\text{M/ml}$.

Il a été constaté que la kinétine produit l'augmentation de la longueur maximale des tubes polliniques dans neuf espèces examinées de 78% à 168% par rapport à la longueur de ceux des cultures témoins.

L'influence de la kinétine sur la germination des grains de pollen n'a pas été identique. Chez 3 espèces, sur 7 examinées, la kinétine a accéléré la germination des grains de pollen, chez 3 autres cette substance est restée sans influence sur la durée de la germination et dans un cas elle a retardé celle-ci.

Le pourcentage définitif des grains de pollen en train de germiner

a été indépendant de l'action de la kinétine et cela chez toutes les espèces examinées.

L'influence de la kinétine sur la vitesse de la croissance des tubes polliniques a été visible chez toutes les espèces examinées, mais elle n'était pas égale dans tous les cas. Dans 2 cas (*Hyacinthus*, *Cyclamen*) la période de croissance a été prolongée sans que le rythme de la croissance ait été dérangé. Dans un cas la présence de la kinétine a provoqué le changement du rythme de la croissance sans avoir eu aucune influence sur la durée de l'allongement des tubes polliniques.

LITERATURA

- Addicott F. T., 1943, *Plant Physiol.* 18: 270.
 Deysson G., 1959a, *C. R. Ac. Sc.* 248: 841.
 Deysson G., 1959b, *C. R. Ac. Sc.* 248: 1214.
 Dmochowski A., Maciejewska-Potapczykowa W., Sempiońska E., 1957, *Acta Soc. Bot. Pol.* 26: 361.
 Gorton B. S., Eakin R. E., 1957, *Bot. Gaz.* 119: 31.
 Górśka-Brylass A., 1959, *Bull. Sci. Letres Łódź Cl.* 111. 10: 1.
 Guttman R., 1956, *Chromosoma* 8: 341.
 Kennel D., 1959, Thesis, University of California.
 Kurtz L., Kummerow J., 1957, *Naturwiss.* 5: 121.
 Maltzman K. E., 1959, *Nature*, 183: 60.
 Miller C., 1956, *Plant Physiol.* 31: 318.
 Mitra G. C., Allsopp A., 1959, *Nature*, 183: 975.
 Muller-Stol W. R., Lehr G., 1957, *Floral* 144: 297.
 Olszewska M. J., 1958, *Bull. Soc. Sci. Letres Łódź Cl.* III. 9: 1.
 de Ropp R. S., 1956, *Plant Physiol.* 31: 253.
 Scott R. A., Liverman J. L., 1956, *Plant Physiol.* 31: 321.
 Skinner C. G., Claybrook J. R., Talbert F. D., Shive W., 1957, *Plant. Physiol.* 32: 117.
 Supniewski J., Krupińska J., Supniewska H., Wacław B., 1957, *Bull. Acad. Polon. Sci.* 11. 5.
 Wardlaw C. W., Mitra G. C., 1958, *Nature* 181: 400.

Przemiany alkaloidów w łubinie białym po wprowadzeniu lupaniny i hydroksylupaniny

*Alkaloid changes in white lupine after introduction lupanine and
hydroxylupanine*

H. BIRECKA, H. RYBICKA, W. SZYMAŃSKA

Jak wykazały badania nad łubinem białym (Wiewiórkowski, Bratek 1957, Birecka, Rybicka, Ścibor-Marchocka 1959), w gatunku tym obok lupaniny, która występuje w największych ilościach i stanowi tzw. „główny alkaloid“, oraz obok hydroksylupaniny można stwierdzić obecność sparteiny, angustifoliny i trzech albo czterech zasad niezidentyfikowanych dotychczas chemicznie, a reagujących jak alkaloidy.

Według hipotez wysuwanych przez szereg badaczy (Hegnauer 1955, Worker 1956) opartych na doświadczeniach *in vitro*, bądź też na zmianach zachodzących w ilościach alkaloidów w ontogenezie roślin, sparteina ma być tym związkiem, z którego w łubinach powstaje lupanina, a z niej z kolei hydroksylupanina. W poprzednich naszych badaniach (Birecka, Sebyła, Nalborczyk 1959, Birecka, Szklarek, Mazan 1960) stwierdzono, że zarówno w łubinie białym pastewnym, jak i gorzkim, po wprowadzeniu sparteiny (w postaci soli siarczanowej) wzrasta zawartość nie tylko lupaniny i hydroksylupaniny, ale również innych alkaloidów charakterystycznych dla tego gatunku, a w większości niezidentyfikowanych chemicznie. W niniejszej pracy podajemy głównie wyniki uzyskane po wprowadzeniu do roślin lupaniny lub hydroksylupaniny.

METODYKA DOŚWIADCZEŃ

Przedmiotem badań był łubin biały, a) pastewny średniowieczny hodowli Barbackiego i b) gorzki odmiana „Czechowicka“.

Z roślinami tymi przeprowadzono 3 doświadczenia, hodując je uprzednio w wazonach wagnerowskich napełnionych mieszaniną gleby z piaskiem. Metodyka zakładania doświadczeń była analogiczna jak w bada-

niach poprzednich (Birecka, Sebyła, Nalborczyk 1959). W fazie rozwoju, odpowiadającej zakładaniu się pąków kwiatowych na pędzie głównym, rośliny pozbawiono korzeni odcinając łodygi powyżej liścieni i wprowadzono (przez łodygi) wodne roztwory odpowiednich alkaloidów oraz dla kontroli tylko wodę. Następnie rośliny łączono możliwie sterylnie węzem gumowym poprzez szklaną rurkę z kolbą, zawierającą pożywkę mineralną. Sposób wprowadzania alkaloidów, skład pożywki mineralnej, jej sterylizacja oraz sposób umieszczania łodyg był analogiczny jak w badaniach nad przemianami sparteiny (Birecka i in. 1960).

Doświadczenie I. Rośliny (tylko łubinu pastewnego) weszły 29.IV.1958 r. w hali wegetatywnej. Pozbawiono je korzeni 7.V i natychmiast zastosowano alkaloidy w postaci wolnych zasad: a) sparteiny w ilości 3,2 mg, b) lupaniny około 7 mg na roślinę. Roztwory te rośliny pobrały po upływie godziny, a następnie 2×2 ml H_2O również w ciągu około godziny. Doświadczenie trwało 7 dni (część roślin była zaciemniona): sprzętu dokonano natychmiast, tj. po 2 godz. i po 7 dniach. Po zdjęciu roślin pożywkę znajdującą się w rurkach gumowych badano na zawartość alkaloidów. Jedynie w wypadku sparteiny stwierdzono tylko bardzo słabe jej ślady w tych roztworach.

Doświadczenie II. Rośliny weszły 4.VIII.1958 r. w hali wegetacyjnej. Po pozbawieniu roślin korzeni w sposób analogiczny jak w doświadczeniu pierwszym dano im alkaloidy*, ale w postaci soli siarczanowej. Poszczególne rośliny populacji pastewnej otrzymały: lupaniny 6,1 mg, hydroksylupaniny — 5,2 mg. Roślinom populacji gorzkiej dawano lupaniny podwójną ilość, hydroksylupaniny — taką samą jak roślinom pastewnym. Szybkość pobierania tych związków była analogiczna jak w doświadczeniu 1. Rośliny zbierano natychmiast (po pobraniu roztworów i wody), po trzech i 10 dniach.

Doświadczenie III. Rośliny weszły 12.II.1959 r. (w ogrzewanej szklarni). 23.III.59 pozbawiono je korzeni i zastosowano alkaloidy w postaci soli siarczanowej. Rośliny populacji pastewnej otrzymały po 5,3 mg lupaniny i po 4,1 mg hydroksylupaniny. Roślinom populacji gorzkiej dawano podwójne ilości tych alkaloidów w tej samej objętości wody. Jednocześnie analogiczne ilości tych związków w objętości 0,3 ml wstrzykiwano do łodyg roślin populacji pastewnej (tylko hydroksylupaninę) i gorzkiej nie pozbawionej korzeni. Roślinom kontrolnym wstrzyknięto tylko wodę. W żadnym z doświadczeń nie obserwowano różnic w wyglądzie roślin — zarówno populacji pastewnej, jak i gorzkiej — w zależności od ilości czy też jakości stosowanego alkaloidu. U żadnej z roślin nie stwierdzono procesu regeneracji korzeni.

* dl lupanina, temp. top. $99^{\circ}C$; hydroksylupanina, temp. top. $176-177^{\circ}C$.

We wszystkich doświadczeniach w poszczególnych terminach sprzętu zbierano (około południa) po 4 rośliny z każdej kombinacji zabijając je natychmiast w suchym lodzie, a następnie biofilizując. Analizowano oddzielnie liście i łodygi, łącząc w jednej próbie dwie rośliny. Analizę na zawartość alkaloidów wykonano metodą ilościową stosując chromatografię bibułową dla rozdziału (Birecka, Rybicka, Ścibor-Marchocka 1959) przy użyciu fazy rozwijającej: butanol: toluen: kwas solny (Reifer-Przeździecka, Kleczkowska 1959).

WYNIKI BADAŃ MATERIAŁU ROŚLINNEGO

Łubin pastewny. Lupanina w postaci zasady nie przemieściła się do liści ani w czasie jej wprowadzenia, ani też w ciągu następnych 7 dni (na świetle i w ciemności) — znaleziono ją jedynie w łodygach. Jak wykazały analizy, w ciągu tego okresu nie nastąpił wzrost zawartości innych alkaloidów w porównaniu z roślinami kontrolnymi. Nie zmniejszyła się również zawartość lupaniny. Dlatego też wyników dotyczących tej części doświadczenia nie podajemy. Sparteina w postaci zasady w czasie jej wprowadzenia przemieściła się do liści w śladowych jedynie ilościach (tab. 1). Główna jej ilość pozostała w łodydze. Po upływie 7 dni istotną już zawartość sparteiny stwierdza się i w liściach, ale tylko u roślin, które znajdowały się na świetle. W kombinacji tej obserwuje się spadek ilości sparteiny w porównaniu z roślinami analizowanymi natychmiast po wprowadzeniu tego alkaloidu i jednocześnie istotny wzrost zawartości innych zasad w stosunku do roślin kontrolnych. Wzrost ten występuje jedynie w łodygach. W analogicznych roślinach ale zaciemnionych, obserwuje się również wzrost innych alkaloidów w łodygach, nieco jednak niższy niż u roślin na świetle. Należy przy tym podkreślić, że łubin pastewny zaciemniony (kontrolny), w odróżnieniu od roślin na świetle, w ciągu 7 dni doświadczenia nie zwiększył ani masy organicznej, ani też ilości alkaloidów. W obu następnych doświadczeniach z populacją pastewną (tab. 2) w ciągu badanego okresu czasu obserwuje się wyraźny wzrost roślin, szczególnie łodyg. Brak jest istotnych różnic między badanymi kombinacjami pod tym względem (z wyjątkiem ostatnich sprzętów serii z hydroksylupaniną). W przeanalizowanych chromatograficznie roślinach stwierdzono obecność sparteiny, lupaniny, hydroksylupaniny, angustifoliny, a_x , a_y i zasady, której R_f na trzech fazach rozwijających odpowiada R_f oksylupaniny. Ponieważ w obu doświadczeniach ilości sparteiny, angustifoliny i a_y były niewielkie i nie różniły się w zależności od badanych kombinacji w żadnym terminie sprzętu, danych liczbowych dotyczących tych alkaloidów nie podajemy. Jak wskazują analizy roślin kontrolnych (tab. 2) w ciągu 10 czy też 18 dni nastąpiło zwiększenie zawartości alkaloidów

Tabela 1

Ciężar roślin i zawartość w nich alkaloidów (μg w 1 roślinie). Łubin biały pastewny pozbawiony korzeni
(doświadczenie — kwiecień 1958 r.)

Czas sprzętu	Rośliny														
	Części roślin	kontrolne					po wprowadzeniu sparteiny								
		zawartość alkaloidów*					a _x	zawartość alkaloidów*				a _x			
		ciężar g.s.m.	suma- rycznie	lupa- nina	hydro- ksylu- panina	angu- stifo- lina		ciężar g.s.m.	suma- rycznie	lupa- nina	hydro- ksylu- panina		angu- stifo- lina		
Na świetle															
po 2 godz	liście	1,00	89	31	51	ślady	—**	7	1,18	231	168	57	6	—**	ślady
	łodygi	0,92	280	69	157	25	—	29	1,22	2530	2330	170	7	—	23
	razem	1,92	369	100	208	25	—	36	2,40	2761	2498	227	13	—	23
po 7 dniach	liście	1,22	277		170	55***	11	41	1,51	814	567	199	25	—	23
	łodygi	1,86	405	69	279	42	56	28	2,20	1834	538	775	280	119	122
	razem	3,08	682	69	449	97	67	69	3,71	2648	1105	974	305	119	145
w ciemności															
po 7 dniach	liście	0,81	92	27	39	13	—	13	0,80	214	95	100	8	—	11
	łodygi	1,12	238	36	139	19	27	17	1,20	1895	950	673	97	124	51
	razem	1,93	330	63	178	32	27	30	2,00	2109	1045	773	105	124	62

* W analizach roślin nie uwzględniono a_y i alkaloidu o R_f oksylupaniny.

** Rośliny mogły zawierać pewne ilości tego alkaloidu, ale zbyt małe, aby móc je wykryć przy stosowanych rozcieńczeniach.

*** Jest to suma hydroksylupaniny i sparteiny, których nie udało się dobrze rozdzielić.

CieŜar roślin i zawartość w nich alkaloidów* (μg w 1 roślinie). Łubin biały pastwiony pozbawiony korzeni

* Dla alkaloidów chemicznie niezidentyfikowanych przyjęto współczynnik ekstynkcyj przy ilościowym oznaczeniu $= 0,10$ (odnosi się to do wszystkich tabel).

* Dla alkaloidów chemicznie niezidentyfikowanych przyjęto współczynnik ekstynkcyj przy ilościowym oznaczeniu $= 0,10$ (odnosi się to do wszystkich tabel).

głównie wskutek wzrostu ilości lupaniny. Wzrost ten nastąpił przede wszystkim w łodygach omawianego łubinu. Rośliny, do których wprowadzono lupaninę (przemieściła się ona częściowo do liści) w postaci soli siarczanowej, już w ciągu pierwszych trzech dni wykazują pewien wzrost zawartości hydroksylupaniny i pozostałych alkaloidów. W 10 dniu w obu doświadczeniach obserwuje się znacznie większy przyrost ilości tych związków (przy pewnych różnicach szczególnie w przypadku a_x). Po 18 dniach (dośw. 2) zawartość hydroksylupaniny i a_x wzrasta. Warto zaznaczyć, iż większe w porównaniu z roślinami kontrolnymi ilości trzech (poza lupaninę) badanych alkaloidów występują najczęściej w łodygach. W organach tych więcej jest również lupaniny niż w liściach.

Rośliny, do których wprowadzono hydroksylupaninę (przemieściła się ona do liści w mniejszym stopniu niż lupanina), wykazują znaczne zwiększenie ilości — i to już nawet po trzech dniach — przede wszystkim alkaloidu o R_f oksylupaniny. Zawartość a_x wzrasta natomiast w mniejszym stopniu.

Największy wzrost zawartości tych zasad obserwuje się w łodygach. Wyniki oznaczeń lupaniny wskazują raczej na to, iż ilość tego alkaloidu

Tabela 3

Ciężar roślin i zawartość w nich alkaloidów (w μg w 1 roślinie)
 Łubin biały pastewny nie pozbawiony korzeni
 (Doświadczenie marzec — kwiecień 1959 r.)

Czas sprzętu	Części roślin	Rośliny							
		kontrolne				po wprowadz. hydroksylup.			
		zawartość alkaloidów				zawartość alkaloidów			
		Ciężar g.s.m.	lupa- nina	hydro- ksylu- panina	(oksy- lupa- nina?)	Ciężar g.s.m.	lupa- nina	hydro- ksylu- panina	(oksy- lupa- nina?)
Po 2—3 godzinach	liście	0,55	46	27	43	0,51	43	615	30
	łodygi	0,75	81	46	31	0,73	69	687	25
	razem	1,30	127	73	74	1,24	112	1402	55
Po 18 dniach	liście	1,08	51	34	40	1,09	114	582	591
	łodygi	1,38	87	71	64	1,35	52	198	573
	razem	2,46	138	105	104	2,44	166	780	1164

w omawianych roślinach nie uległa zwiększeniu w porównaniu z kontrolą (większa zawartość lupaniny w III terminie sprzętu dośw. 1958 obciążona jest dużym błędem, ponadto plon roślin w tej kombinacji jest znacznie większy niż kontrolnych).

Rośliny z korzeniami, do których wprowadzono hydroksylupaninę drogą iniekcji (tab. 3) nie wykazują również wzrostu ilości lupaniny, nato-

po wprowadzeniu hydroksylupaniny

zawartość alkaloidów—

ciężar g.s.m.	sumaryczna	lupanina	hydroksy- lupanina	(oksylupa- nina?)	a _x
0,66	3780	2092	1235	175	278
0,38	2772	2994	1236	367	175
1,04	6552	3086	2471	542	453
0,92	5027	2686	1265	538	538
0,80	5466	2737	1623	448	658
1,72	10493	5423	2888	986	1196
±0,12		±116	±250	±60	±71
0,48	6149	3281	2086	528	254
0,32	4379	1742	2328	209	100
0,80	10528	5023 ± 1155	4414 ±92	737	354
0,63	5339	1905	2791	393	250
0,75	5410	2117	2446	547	300
1,38	10749	4022	5237	940	550
±0,16		±441	±15	±104	±69
0,71	3844	1382	2072	211	179
1,00	7042	2732	3344	599	367
1,71	10886	4114	5416	810	546
±0,05		±385	±238	±20	±15

miast bardzo zwiększyła się (i to w stopniu znacznie większym niż u roślin pozbawionych korzeni) zawartość alkaloidu o R_f oksylupaniny. Istotnych zmian w ilości a_x w tym doświadczeniu nie obserwowano.

Łubin gorzki. W obu doświadczeniach rośliny wykazują istotny wzrost, szczególnie łodyg (tab. 4). Jednakże przyrosty masy organicznej wczesną wiosną w szklarni były w analogicznym okresie czasu (10 dni) mniejsze niż w warunkach hali wegetacyjnej we wrześniu.

Należy jednak podkreślić, iż rośliny w hali w chwili zakładania doświadczenia miały znacznie większą masę liści. Obserwowane różnice w ciężarze roślin w zależności od badanych kombinacji są nieistotne.

Analizy wykazały obecność w łubinie gorzkim analogicznych chromatograficznie alkaloidów jak w populacji pastewnej. Ilości sparteiny w roślinach były minimalne; u roślin kontrolnych (zarówno pozbawionych, jak i nie pozbawionych korzeni) stanowiły 1—3% ogólnej zawartości alkaloidów. W innych kombinacjach stwierdzono analogiczne, bezwzględne ilości, nie ulegające istotnym zmianom w czasie trwania doświadczenia. Podobnie rzecz się miała z angustifoliną i a_y ; dlatego też zawartości tych alkaloidów nie podajemy.

W obu doświadczeniach stwierdza się istotny przyrost ilości alkaloidów w roślinach kontrolnych. Jednakże przyrost ten jest znacznie większy w analogicznym okresie w doświadczeniu pierwszym.

Wzrost zawartości alkaloidów we wszystkich przypadkach występuje głównie w łodygach.

Zastosowana lupanina w dużych stosunkowo ilościach przemieściła się do liści. W doświadczeniu pierwszym po 10 dniach nie obserwuje się zwiększenia innych alkaloidów z wyjątkiem może hydroksylupaniny (jednakże błąd oznaczenia w tym przypadku jest duży). W doświadczeniu drugim, w analogicznym okresie, w kombinacji tej występuje istotny wzrost hydroksylupaniny i a_x . W okresie późniejszym wzrasta również zawartość alkaloidu o R_f oksylupaniny.

Hydroksylupanina wprowadzona do roślin przemieściła się również w znacznych ilościach do liści. W serii tej w obu doświadczeniach nie stwierdza się — w granicy dokładności oznaczeń — wzrostu ilości lupaniny.

Nie stwierdza się również na ogół wzrostu innych alkaloidów z wyjątkiem dwóch przypadków, a mianowicie: alkaloidu o R_f oksylupaniny (dośw. II) w jednym również przypadku przyrost zawartości a_x jest udowodniony.

W roślinach nie pozbawionych korzeni (kombinacja kontrolna) w ciągu 18 dni istotnie zwiększyła się ilość alkaloidów, ale tylko lupaniny (tab. 5). Należy podkreślić, że sumaryczna zawartość tych związków (mimo

T a b e l a 5

CieŜar roślin i zawartość alkaloidów (w μg w 1 roślinie)
 Łubin biały gorzki (rośliny nie pozbawione korzeni)

Doświadczenie marzec — kwiecień 1959 r.

Czas sprzetu		Czści roślin	Rośliny											
			kontrolne						po wprowadzeniu lupaniny					
			zawartość alkaloidów —						zawartość alkaloidów					
		Ciężar g.s.m.	suma- ryczna	lupa- nina	hydro- ksylu- panina	(oksy- lupa- nina?)	a _x	ciężar g.s.m.	suma- ryczna	lupa- nina	hydro- ksylu- panina	(oksy- lupa- nina?)	a _x	
Po 2—3 godzinach	liście	0,29	1707	1114	229	249	115	0,26	2770	2200	185	247	138	
	łodygi	0,37	2074	1094	411	352	217	0,35	6914	5775	301	593	245	
	razem	0,66	3781	2208	640	601	332	0,61	9684	7975	486	840	383	
Po 10 dniach	liście							0,53	7152	6084	292	451	325	
	łodygi							0,72	4538	3200	752	485	101	
	razem							1,25	11690	9284	1044	936	426	
Po 18 dniach	liście	0,74	3214	2284	267	323	340	0,80	10832	7800	496	1320	1216	
	łodygi	0,74	1589	977	295	173	144	1,05	4326	2453	759	569	545	
	razem	1,48	4803	3261	562	496	484	1,85	15158	10253	1255	1889	1761	

uwzględnienia w analizach części podłisciowej) jest nawet niższa niż w analogicznych roślinach pozbawionych korzeni. Odnosi się to szczególnie do łądyg (różnice ich w masie organicznej nie mogą usprawiedliwić obserwowanych różnic w zawartości alkaloidów). Wprawdzie w omawianym doświadczeniu nie analizowano korzeni — jednakże wyniki innych naszych badań wskazują, że organ ten w analogicznej fazie rozwoju zawiera bardzo małą ilość alkaloidów, wpływającą w nieznacznym tylko stopniu na ogólną zawartość tych związków w roślinie.

Wstrzyknięta do roślin lupanina w stosunkowo dużych ilościach przebiegała się do liści, ale głównie w czasie trwania doświadczenia. Podobnie jak u roślin bez korzeni, obserwuje się znaczny wzrost zawartości hydroksylupaniny, a_1 i alkaloidu o R_f oksylupaniny, szczególnie po 18 dniach. Należy podkreślić, że największy przyrost ilości tych alkaloidów stwierdza się w liściach.

Wyniki uzyskane w serii roślin, do których wstrzyknięto hydroksylupaninę, były bardzo rozbieżne, dlatego też ich nie podajemy. Ta część doświadczenia wymaga powtórzenia.

We wszystkich wyżej omówionych doświadczeniach stwierdzone ilości wprowadzonego alkaloidu, nawet bezpośrednio po jego wprowadzeniu, były znacznie mniejsze niż ilości zastosowane. Znajdowano maksymalnie około 60—70% tych ilości.

W doświadczeniach 1959 roku zwrócono uwagę na czynniki mogące powodować te różnice. W próbówce, z której rośliny pobierały alkaloid, pozostawało około 200—350 μg lupaniny (2—4%), hydroksylupaniny 70—85 μg (około 1—2%), w próbówce po liofilizacji — 18—100 μg (w roślinach rozcieranych bezpośrednio po spręczeniu również obserwowano analogiczne straty jak i po liofilizacji). W pożywce znajdującej się w rurkach, w których tkwiły końce łądyg, nie było śladów alkaloidów. Po ponownej ekstrakcji chloroformem próbek roślinnych już raz ekstraktowanych znajdowano alkaloidów poniżej 1% ilości stwierdzonej w pierwszym ekstrakcie. Materiał roślinny był bardzo dobrze rozdrobniony, a więc i w tym nie można upatrywać ewentualnej niepełnej (w takim stopniu) ekstrakcji. Zgodność wyników zawartości alkaloidów w próbce badanej w różnych odstępach czasu była duża (w granicach dokładności stosowanej metody).

Wyżej omówione straty nie tłumaczą więc mniejszej ilości alkaloidów stwierdzonej przy ich chloroformowej ekstrakcji po uprzedniej alkaliczacji (10% NaOH) materiału roślinnego. Zjawiska tego nie można również tłumaczyć ewentualnym rozkładem mikrobiologicznym. Istnieje prawdopodobieństwo, że alkaloidy były w pewnym stopniu sorbowane na powierzchni części łądygi zanurzonej w roztworze w czasie wprowadzania do rośliny tych związków. Przy następnych manipulacjach z łądygą zachodziła możliwość usuwania ich z tej powierzchni.

Trudno przeprowadzić bilans alkaloidów w wypadku wstrzykiwania (nie badano korzeni, jak też nie ma pewności w omawianych wyżej doświadczeniach, że wstrzyknięty roztwór nie wyciekł następnie częściowo z łodyg). W innych naszych doświadczeniach z iniekcją sparteiny i lupaniny znajdowano w roślinach wprowadzone ilości alkaloidów.

DYSKUSJA

Przeprowadzone badania nad łubinem białym potwierdzają wyniki naszych poprzednich doświadczeń (Birecka, Szklarek, Mazan 1960) z populacją gorzką, a mianowicie, że rośliny pozbawione korzeni zdolne są do syntezy charakterystycznych dla nich alkaloidów. W omawianych doświadczeniach zawartość ich zwłaszcza lupaniny, była u tych roślin nawet wyższa niż u roślin nie pozbawionych korzeni. Wzrost zawartości alkaloidów po usunięciu korzeni obserwowano również w populacji pastewnej.

Należy podkreślić, że badany łubin korzystał z różnych źródeł azotu. W wyżej wspomnianych doświadczeniach stwierdzono, że rośliny pozbawione korzeni, znajdujące się na analogicznej pożywce mineralnej, pobrały nawet więcej azotu aniżeli rośliny żyjące w symbozie z *Rhizobium*. Można więc przypuszczać, że i w omawianych badaniach stopień zaopatrzenia tych roślin w azot co najmniej nie był gorszy aniżeli łubinu, korzystającego z tego składnika wiązanego przez bakterie brodawkowe. Warto również dodać, że — podobnie jak w doświadczeniach poprzednich — wzrost zawartości alkaloidów w roślinach pozbawionych korzeni wystąpił głównie w łodygach, tzn. w organie, którego przyrost masy organicznej był największy.

Część doświadczenia związana ze sparteiną stanowi tylko niewielki fragment uzupełniający poprzednie badania (przytoczone we wstępie), w których stwierdzono możliwości przekształcania się tego alkaloidu w łubinie białym w lupaninę, hydroksylupaninę, angustifolinę, a_x , a_y i alkaloidu o R_f oksylupaniny. Dane uzyskane w omawianej części, w której sparteinę stosowano w postaci wolnej zasady, wskazują dodatkowo, że w populacji pastewnej u roślin pozbawionych korzeni podobne przemiany mogą zachodzić i w ciemności analogicznie do populacji gorzkiej oraz że mogą one przebiegać w łodygach.

Trudno jest wytłumaczyć, dlaczego lupanina w postaci wolnej zasady w ogóle nie przemieściła się do liści, a sparteina tylko w stopniu niewielkim.

Zasorbowana w nieznanym nam sposób w łodygach lupanina w ciągu badanego okresu czasu pozostała nie zmieniona. Inaczej zachowuje się ten

alkaloid w przypadku zastosowania jego w postaci soli. W obu doświadczeniach z populacją pastewną w tych warunkach stwierdzono istotny wzrost zawartości hydroksylupaniny, a_x i alkaloidu o R_f oksylupaniny. Należy przy tym podkreślić, że sumaryczny przyrost tych alkaloidów, stosunkowo niewielki w porównaniu z ilością wprowadzonej lupaniny i wykrytej w roślinie, jest mniejszy niż najczęściej stwierdzany przez nas przyrost ilości lupaniny po wprowadzeniu sparteiny, szczególnie jeśli uwzględni się czas trwania doświadczeń. Trzeba jednak brać pod uwagę fakt, że w badanych roślinach normalnie dominuje ilościowo lupanina, że stosunkowo niższe zawartości pozostałych alkaloidów mogą być wynikiem również i stosunkowo szybkich ich przemian, że ilości wprowadzonej lupaniny znacznie przekraczają ilości tego związku, jakie zazwyczaj obserwuje się w populacji pastwnej.

Nie mniej jednak w odróżnieniu od badań Nowackiego (1958), który podaje, iż po wprowadzeniu do łubinu białego lupaniny nie stwierdził zwiększenia zawartości nawet hydroksylupaniny (podobnie jak i wprowadzona przez niego hydroksylupanina nie ulegała przemianom na inne alkaloidy), należy podkreślić, że w podobnych warunkach może wystąpić przyrost ilości nie tylko tego alkaloidu, ale również i innych, charakterystycznych dla omawianego gatunku. Analogiczne badania, przeprowadzone z populacją gorzką, obciążone są znacznie większym błędem aniżeli w przypadku formy pastwnej. Jest to głównie wynikiem większej zmienności indywidualnej roślin i związanej z tym zmienności w zawartości alkaloidów. Mimo to uzyskane wyniki upoważniają do stwierdzenia, że w roślinach zarówno pozbawionych, jak i nie pozbawionych korzeni wprowadzona lupanina prawdopodobnie częściowo ulega również przemianom na inne alkaloidy, takie jak hydroksylupanina, a_x i związek o R_f oksylupaniny.

Jak już poprzednio wspomniano, doświadczenia nad ewentualnymi przemianami hydroksylupaniny w populacji gorzkiej nie dały dostatecznie pewnych wyników i wymagają powtórzeń. Wydaje się jednak, że alkaloid ten w badanych roślinach może ulegać częściowej przemianie na związek o R_f oksylupaniny.

W przypadku natomiast populacji pastwnej przyrost ilościowy tej zasady po wprowadzeniu hydroksylupaniny jest nawet znacznie większy niż przy zastosowaniu lupaniny (mimo iż różnice w zawartości alkaloidu wprowadzonego były na niekorzyść hydroksylupaniny). Wzrastała również, ale w stopniu znacznie mniejszym, ilość a_x . Można więc sądzić, w odróżnieniu od wyżej cytowanego autora, że i hydroksylupanina zdolna jest do przekształcenia się na niektóre inne alkaloidy w łubinie białym.

Na uwagę zasługuje fakt, że w żadnym z doświadczeń po wprowa-

dzeniu do roślin lupaniny czy też hydroksylupaniny nie stwierdzono (w granicach błędu oznaczeń) przyrostu ilościowego sparteiny, a więc związku bardziej zredukowanego. Van der Kuy (1956) uważa, że w łubinie białym reakcja „sparteina $\rightarrow$ lupanina“ może być odwracalna i przypuszcza, że występuje ona głównie tak w czasie kiełkowania nasion, jak i w okresie tworzenia się strąków. Nasze badania odnoszą się do innej fazy rozwoju roślin, a mianowicie do okresu zakładania pąków kwiatowych na pędzie głównym, kiedy normalnie obserwuje się znaczny przyrost ilości alkaloidów w łubinie białym. W tej jednak fazie rozwoju, jak wskazują uzyskane wyniki, odwracalność reakcji „sparteina $\rightarrow$ lupanina“ jest bardzo mało prawdopodobna.

Przy rzutowaniu interpretacji wyników, otrzymanych w wyżej omówionych doświadczeniach na przemiany alkaloidów normalnie zachodzące w roślinach, należy mimo wszystko pamiętać o metodyce, przy której zastosowaniu wyniki te zostały uzyskane. Alkaloidy bowiem, których ewentualne przemiany były przedmiotem badań, nie powstały bezpośrednio w samej roślinie, wprowadzono je z zewnątrz, nie wiadomo również do jakich tkanek przemieściły się, tym bardziej w jakiej części komórki się znalazły. Niestety badania tego typu jak dotychczas zazwyczaj obciążone są analogicznymi niewiadomymi i zastrzeżeniami z nich wynikającymi.

STRESZCZENIE WYNIKÓW

1) Przeprowadzone doświadczenia nad łubinem białym wykazały, podobnie jak inne nasze badania, że w roślinach populacji gorzkiej pozbawionych korzeni może przebiegać synteza charakterystycznych dla nich alkaloidów. Tę samą zdolność wykazują rośliny populacji pastewnej.

2) W roślinach zarówno formy pastewnej, jak i gorzkiej nawet pozbawionych korzeni po wprowadzeniu lupaniny wzrasta zawartość hydroksylupaniny, a_x oraz alkaloidu o R_f oksylupaniny. Nie stwierdzono natomiast zwiększenia ilości sparteiny.

3) W roślinach populacji pastewnej po wprowadzeniu hydroksylupaniny zwiększa się zawartość alkaloidu o R_f oksylupaniny. Przyrost ten jest znacznie większy niż w przypadku zastosowania lupaniny. Wzrasta również, ale w stopniu znacznie mniejszym, zawartość a_x .

4) Zmiany w zawartości alkaloidów w populacji gorzkiej po wprowadzeniu hydroksylupaniny wskazują na możliwość przekształcania się jej w analogiczne zasady, jak w populacji pastewnej. Badania te jednak wymagają powtórzenia.

SUMMARY

Changes of alkaloid content in derooted and intact plants of white lupine (bitter and fodder forms) at the stage of flower-buds formation were investigated. At the same time the eventual transformation of lupanine or hydroxylupanine, introduced into these plants, was examined.

The results obtained showed, that:

1. Derooted plants of bitter form are able to synthesize alkaloids, normally occurring in them, in relatively great amounts (it confirms the results of our previous investigations). The same relies to plants of fodder lupine.

2. After lupanine introduction into plants even derooted — of fodder and bitter forms — an increase of the content of hydroxylupanine, α_x (compound yet unidentified chemically but reacting like an alkaloid), and of alkaloid, which according to its R_f seems to be oxylupanine, was noted. No increase of sparteine content was observed.

3. After introduction of hydroxylupanine into plants of fodder lupine, the content of the alkaloid, which chromatographically behaves like oxylupanine, increased. This increment is higher than in the case, when lupanine was introduced. Also a small increase of α_x content was observed.

4. The changes of alkaloids content in bitter lupine after introducing of hydroxylupanine indicate the possibility of its transformation into the same bases as in fodder form. However, this needs further confirmation.

LITERATURA

- Birecka H., Rybicka H., Ścibor-Marchocka A., 1959, Alkaloidy *Lupinus albus* i metoda ich oznaczania ilościowego, Acta Bioch. Pol. s. 6 (1).
- Birecka H., Sebyła T., Nalborczyk E., 1959, Przemiany sparteiny w łubinie białym, Acta Soc. Bot. Pol. 28 (2).
- Birecka H., Szklarek D., Mazan A., 1960, Przemiany alkaloidów w roślinach łubinu białego pozbawionych korzeni, Bul. Acad. Sci. Pol.
- Hegnauer M. R., 1955, Considerations botaniques et biogénétiques sur les alcaloïdes du genre *Lupinus*, Bul. Soc. Pharm. de Bordeaux 94 (Nr special 209).
- Van de Kuy A., 1956, Bijlage tot kennis van alkaloidvorming bij enkele species van het genus *Lupinus*, Gravenhage, dysertacja.
- Nowacki E., 1958, Badania nad syntezą alkaloidów w łubinie, Roczn. Nauk Roln. 79 (2).
- Reifer J., Przeździecka N., Kleczkowska D., 1959, Chromatograficzna metoda ilościowego oznaczania alkaloidów łubinowych, Acta Bioch. Pol. 6 (1).
- Wiewiórowski W., Bratek M. D., 1957, Die qualitative Alkaloidzusammensetzung der Lupine im Lichte chromatographischer Untersuchungen, Acta Soc. Bot. Pol. 26 (1).
- Woker G., 1956, Die Chemie der natürlichen Alakaloide, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart.

Studies on Self-Sterility in *Raphanus sativus* (L.) var. *radicula* (DC)

by

A. PUTRAMENT

There are at present three systems of incompatibility distinguished in flowering plants, i.e. sporophytic heteromorphic, gametophytic homomorphic, and sporophytic homomorphic (Lewis 1954a, b, Bateman 1954a, Crowe 1954a). Of these the first two have been explained and the results reported by various workers are not contradictory. The third system sporophytic homomorphic — has been distinguished on the ground of the results obtained by Hughes and Babcock (1950) with *Crepis foetida*, by Gerstel (1950) with *Parthenium argentatum*, by Crowe (1954b) with *Cosmos bipinnatus*, and by Bateman (1954b) with *Iberis amara*. This system is considered typical for the *Compositae*, *Cruciferae*, and some other families. However, the results of some experiments on incompatibility in *Cruciferae* cannot be explained conformably with the assumptions, made by the authors mentioned above. Thus, the problem of the genetic basis of incompatibility in *Cruciferae* still remains unsolved.

The genetic aspects of incompatibility in *Raphanus sativus* were studied by A. Gavin Brown (unpublished, quoted after Bateman, 1955), Sampson (1957b), and Tatebe (1957b), whereas the physiological aspects of this problem were investigated by Oelke (1957). When in 1957 I started my experiments with *Raphanus sativus* only the first of these reports had been published, but later when also the other reports became available I reached the conclusion that the opinions on the genetic aspects of incompatibility in *R. sativus* were still highly contradictory and that further researches would thus be useful and might help to elucidate the problem.

MATERIAL AND METHODS

For experiments various varieties of radish (*Raphanus sativus* L. var. *radicula* DC) grown out of foundation seed were used. The varieties were as follows: "Saxa", „Czerwona z białym końcem“, „Sopel Lodu“,

"Early Scarlet Globe Short Top Radish" and "Early Scarlet Globe Medium Top Radish". The seeds of the last two varieties were obtained from the collection of the University of Wisconsin Experimental Station, Madison, U. S. The "Saxa" variety — developed by the Freege Co., Cracow — had a relatively short vegetation period, the thick part of its root was round and the skin red. The variety „Czerwona z Białym Końcem“ — developed by the Ulrich Co., Warsaw — had a longer period of vegetation, started flowering much later, and was much more sensitive to the photoperiod. When this variety was sown out late it flowered in the middle of August and some plants had no flowers. The thick part of the root in this variety was round with red skin changing to white at the lower end. The vegetation of the „Sopel Łodu“ variety — developed by the Freege Co., Cracow — was longer than that of the "Saxa" but shorter than that of the „Czerwona z Białym Końcem“ variety. The edible part of the root in the „Sopel Łodu“ radish was oblong with white skin. Crosses between the first two of these varieties, the two red ones, and the white „Sopel Łodu“ radish had the thick part of the root elongated with a pale purple skin, and were easily distinguishable. Both "Early Scarlet Globe" varieties resembled the "Saxa" radish.

The „Czerwone z Białym Końcem“ and both "Early Scarlet Globe" varieties were used only for experiments on pseudocompatibility.

Experimental plants were grown in field cultures. In studies on incompatibility this might be a source of error, since in cold weather pseudocompatibility may increase. To reduce the possibility of error pollinations were made only on warm days between 8 a.m. and 4 p.m. when the temperature was not below 18—20°C. Seeds were sown out late, at beginning of May and consequently the radishes flowered in the hottest part of the year, from July to the middle of August.

The shoots chosen for experimental pollinations were covered by cellophane bags. The bags were taken off about a week after flowers had been pollinated. In every combination the number of pollinated flowers was 8—10, seldom less. Flowers selected for pollination were not castrated. Similarly, cross-pollinations marked out to obtain plants for further experiments were made on uncastrated flowers.

The results of pollinations were estimated from the setting of seeds. The selfs and crosses which did not lead to the setting of seeds or produced three or less seeds per flower (flower fertility) were considered as incompatible. The criteria of classifying the partially sterile crosses as compatible or incompatible will be outlined more fully further on in the paper.

In order to compare the speed at which pollen grains germinated and

the early stages in pollen tube growth on pistils after self- and cross-pollination in plants manifesting pseudo-compatibility the following experiment was carried out. On a plant eight branches were selected and on each of these branches several (5—19, but usually 8—12) flowers were castrated. When 24—48 hours later the buds opened, on four branches the flowers were self-pollinated and on four they were cross-pollinated with a compatible pollen. After four hours all stigmata were cut out on one branch with self-pollinated and one branch with cross-pollinated flowers. The stigmata were cut out with a razor blade cleaned every time with a wad dipped in alcohol to prevent any pollen reaching the cut end of the style. After the operation each branch was again covered by a clean bag. Six hours after pollination the stigmata were amputated on the next pair of branches, and eight hours after pollination the third pair of branches was submitted to the same operation. The fourth pair of branches was left for control. Some weeks later the number of seeds that had set was counted and flower fertility was determined by calculating the ratio of the number of seeds to the number of pollinated flowers.

With the same purpose in mind the experiment was repeated according to a different procedure. On each of four chosen branches of a plant several buds were castrated and when the buds opened all the castrated flowers were self-pollinated. Then on one branch immediately after self-pollination the flowers were additionally pollinated with foreign pollen. The flowers of the other three branches were additionally cross-pollinated successively 4, 6, and 8 hours after the original self-pollination. The foreign pollen for the additional pollinations was chosen so as to ensure the recognition whether the progeny originated from self- or cross-fertilization. Plants of the "Saxa" and „Czerwona z Białym Końcem" varieties were pollinated with pollen of the "Sopel Łodu" variety (only plant C3/6 was additionally pollinated with pollen of *Raphanus raphanistrum*). Plants of the „Sopel Łodu" variety were additionally cross-pollinated with "Saxa" pollen. The seeds obtained in this manner were sown out and the percentage of crosses in the progeny was counted.

RESULTS

Original populations. Eleven plants of the "Saxa"* variety were crossed in all possible combinations. The results are assembled in Table 1.

Some of the plants were mutually sterile in both directions: Sa2, Sa3, and Sa5, Sa10 and Sa11; Sa6 and Sa8 etc. However, these plants were

* The particular plants of this population were marked with the letters Sa and a number: Sa2, Sa3, etc.

not phenotypically identical: Sa2 and Sa5 as ♀ were sterile with regard to Sa7 and Sa10, while Sa3 was fertile; but neither Sa2 nor Sa5 were identical since Sa5 was sterile with Sa10 in both directions and Sa2 only as ♀. Sa10 as ♂ was sterile with regard to Sa2 and Sa5, while in the same combination Sa11 was fertile. Also the behaviour of Sa6 and Sa8 as ♂ with regard to Sa12 was different, the former was sterile and the latter fertile. This means that among 11 experimental plants there was not one pair which would be phenotypically identical. Different results in reciprocal crosses were frequent.

In some instances selfs and crosses regarded as incompatible had an average flower fertility almost as high as crosses considered as fertile. The principles on which crosses were classified as fertile or sterile were twofold: 1) The average fertility of flowers in self-pollination was

Table 1
Effects of crosses within „Saxa,, variety population sample

No. of plant ♀	♂	3	2	5	7	10	11	16	12	14	6	8
3		S	S	S	F	F	F	F	F	F	F	F
2		S	S	S	S	S	F	F	F	F	F	F
5		S	S	S	S	S	F	F	F	F	F	F
7		F	F	F	S	S	F	F	F	F	F	F
10		F	F	S	S	S	S	S	S	S	F	F
11		F	F	F	S	S	S	F	F	F	F	F
16		F	F	F	F	S	F	S	F	F	S	S
12		F	F	F	F	F	F	F	S	F	S	F
14		F	F	F	S	F	F	F	F	S	F	F
6		F	F	F	F	F	F	F	F	F	S	S
8		F	F	F	F	F	F	F	F	F	S	S

compared to the lowest fertility of sterile crosses. E.g. in the case of plant Sa16 the average number of seeds per flower from self-pollination was 1.3, whereas this average in crosses with plant Sa8 was only 0.3. Since before pollination the flowers were not castrated and self pollen was always present on stigmata, it seems reasonable to suppose that plant Sa16 manifested pseudocompatibility in different degrees, possibly because of weather conditions. This means that all the crosses with Sa16 as ♀ in which the average flower fertility did not exceed 1.3 can be regarded as sterile. In the case of plant Sa16, not only the cross Sa16 × Sa8 but also the crosses Sa16 × Sa6 and Sa16 × Sa10 were classified as sterile, since flower fertility in these crosses was 1.2. 2) When after self-pollination no seeds were set or flower fertility was very low, cross-pollinations were classified as fertile or sterile according to the difference between

th average flower fertility of that cross and other crosses. E.g. plant Sa2 was completely self-sterile and in crosses with Sa3, Sa5, and Sa10 its flower fertility was 1.0, 0.3, and 2.8 respectively, while in other crosses flower fertility was 4.1 to 7.7. In this case the difference between the plants regarded as sterile and those regarded as fertile was relatively well marked.

In the Sa population of 11 plants seven after self-pollination produced less than 0.5 seed per flower, one produced 2.8 seeds per flower, and the others were intermediate.

In the case of the "Sopel Lodu" * variety only six plants were crossed in all combinations (Table 2). Three of the plants — L7, L15, and L14 —

Table 2
Effects of crosses within „Sopel lodu” variety population sample

No. of plant ♂ ♀	3	15	7	14	17	16
3	S	S	F	F	F	F
15	S	S	S	S	F	F
7	S	S	S	S	S	—
14	F	S	S	S	F	—
17	F	F	—	F	S	F
16	F	F	F	F	S	S

were mutually sterile, but they were not phenotypically identical, since only L15 as ♂ was sterile with L3 and only L7 as ♀ was sterile with L17. These results are thus similar to the results for the previous population: self-sterile plants cannot be ranged to the same phenotype because their behaviour with regard to other plants differs and, the differences between reciprocal crosses are frequent.

Pseudocompatibility in the case of this variety was also manifested but the differences between compatible and incompatible crosses were more pronounced. The average flower fertility from compatible crosses ranged 4.6 to 9.0 and from incompatible crosses 0 to 2.8.

Selfs. The family Sa11 — S₁ (the first self generation of plant Sa11) consisted of nine individuals of which two (no. 4 and 7) manifested some degree of pseudocompatibility. The results of crosses within this family are assembled in Table 3.

Among these plants four phenotypes were distinguished: plants (1)

* The particular plants of this population were marked with the letter¹ L and a number: L3, L7 etc.

and (2) belonged to the first, plants (3), (6) and (8) to the second, plant (9) to the third, and plants (4), (5) and (7) to the fourth. As ♀ plant (9) behaved in the same manner as plants (3), (6) and (8), but as ♂ it was fertile with regard to plants (4), (5) and (7), whereas plant (3) in the same combination was sterile. This means that plants (6) and (8), which were

Table 3
Family Sa11-S₁. Effects of crosses with five plants from the same family

No. of plant ♀	♂	2	3	9	5	7
1		S	F	F	F	F
2		S	F	F	F	F
3		F	S	S	S	S
6		F	S	S	S	S
8		F	S	S	S	S
9		F	S	S	S	S
4*		F	S	F	S	S
5		F	S	F	S	S
7*		F	S	F	S	S

* Plants with some degree of pseudocompatibility.

not crossed as ♂ with the fourth group, had the same phenotype as either plant (3) or plant (9). Regardless of this possibility the fact remains that in the family composed of the first self generation four phenotypes were to be distinguished.

The family Sa11 — 2, S₂ (the second self generation of plant Sa11 derived from no. 2 in the first self generation) consisted of 25 individuals. Crosses obtained within this family and the few crosses with plants from the family Sa16 × Sa11 (Table 4) manifested the phenotypic uniformity of this S₂ generation.

In 21 of these plants flower fertility in self-pollination did not exceed 0.4 seed per flower and only in one plant flower fertility amounted to 2.2 seeds per flower.

The family Sa6 — S₁ (the first self generation of plant Sa6) consisted of 8 individuals. The results of self-pollination and cross-pollinations within this family are assembled in Table 5.

Although the results are certainly strongly obliterated by pseudocompatibility manifested by half of the plants in the group, it seems that the data are sufficient to distinguish five phenotypes in this family:

(1) and (3); (4) and (7); (5) and (9); (6); (8). Some seeds were set by plants (1), (3), (8), and (9) from self-pollination. However, no seeds were set by the same plants from some cross-pollinations carried out at a different

Table 4

Family Sa11(2)S₂. Effects of crosses with two plants from the same family and three plants from the Sa16×Sa11 family

No. of plant ♀	♂	Sa11 (2)-S ₂		Sa16×Sa11		
		16	7	30	17	2
1		S	—	—	—	—
2		S	—	—	—	—
3		S	S	S	f*	—
4		S	—	—	—	—
5		S	S	—	F	—
6		S	S	—	—	—
7		f	S	S	F	—
8		S	S	S	F	—
9		S	S	—	—	—
10		S	S	—	—	—
11		S	S	—	—	—
12		S	S	—	—	—
13		S	S	—	—	—
14		S	—	—	—	—
16		S	S	—	F	F
18		—	S	S	F	—
19		—	S	—	F	—
20		—	S	—	—	—
21		—	f	S	—	—
22		—	S	S	F	—
23		S	S	—	—	—
24		S	S	S	—	—
25		—	S	—	—	—
27		S	S	—	—	—
28		S	—	—	—	—

* 2—3 seeds per flower.

time than the self-pollinations, though the cross pollinated flowers had not been castrated beforehand. This means that their own pollen was not always capable of fertilizing these flowers.

The family Sa10 — S₁ (the first self generation of plant Sa10) consisted of four plants only. The results of crosses carried out within the family, listed in Table 6, indicate that it can be divided into three phenotypes. Plant (5) manifested a certain degree of pseudocompatibility, whereas the other plants were completely self-sterile.

Table 5

Family Sa6-S₁. Effects of crosses with four plants from the same family

No. of plant ♀	♂	4	7	9	8	Selfs
1		F	F	S	F	f*
3		F	F	S	F	f
4		S	S	F	F	S
7		S	S	F	F	S
5		—	F	S	S	S
9		f	F	S	S	f
6		S	S	S	—	S
8		f	F	F	f	f

* f—some degree of pseudocompatibility.

In the first self generation of plant Sa16 only two individuals survived, of which one manifested complete male sterility.

Crosses. The F₁ generation of the Sa11×Sa16 cross consisted of 34 individuals. In self-pollination only two of these plants (no. 23 and 25) developed some seeds, the other 32 plants were completely self-incom-

Table 6

Family Sa10-S₁, Effects of crosses within the family

No. of plant ♀	♂	1	2	3	5
1		S	S	S	S
2		F	S	S	F
3		F	S	S	F
5*		S	F	F	S

* Plant with some degree of pseudocompatibility

patible. The results of crosses within this family and of this family with four plants from the family Sa11—S₁ and with one fertile individual from the family Sa16—S₁ are listed in Table 7.

The Sa11 × Sa16 family comprised fourteen distinct phenotypes, of which nine were represented by single plants and five were composed of 8, 6, 5, 3, and 3 individuals. The results of crosses with plants Sa11—

Table 7

Family Sa11 $\times$ Sa16. Effects of crosses with three plants from the same F₁ family, four plants from Sa11-S₁ family and one plant from Sa16-S₁

No. of plant ♀	Sa11 $\times$ Sa16			Sa11-S ₁				Sa16-S ₁
	2	8	25	3	2	5	7	2
1	F	S	F	F	S	F	F	F
3	F	S	F	F	—	F	F	F
5	F	S	F	F	S	F	F	F
6	F	S	F	F	S	F	F	F
7	F	S	F	F	S	F	F	F
8	F	S	F	F	S	F	F	F
9	F	S	F	F	S	F	F	F
15	F	S	F	F	S	F	F	F
18	F	S	S	F	S	F	F	F
19	F	S	S	F	S	F	F	F
20	F	S	S	F	S	F	—	F
24	F	S	S	F	S	F	F	F
28	F	S	S	F	S	F	F	F
36	F	S	S	F	S	F	F	F
11	F	F	—	S	S	S	S	F
13	F	F	—	S	S	S	S	F
33	F	F	F	S	S	S	S	F
30	F	F	S	—	S	S	S	F
22	F	F	S	S	F	S	S	S
27	F	S	S	S	F	S	S	F
34	F	S	F	S	F	S	S	F
10	F	S	F	S	S	S	S	F
25*	F	F	S	F	F	F	F	S
17	F	S	S	S	S	S	S	F
2	S	—	—	F	S	—	—	F
4	S	S	S	F	S	F	F	S
12	S	S	S	F	S	F	F	S
23*	S	S	S	F	S	F	F	S
31	S	S	S	F	S	F	F	S
35	S	S	S	F	S	F	F	S
26	S	S	F	F	S	F	F	S
14	S	F	S	S	F	S	S	S
21	S	F	S	S	F	S	S	S
39	S	F	S	S	F	S	S	S

* Plants with some degree of pseudofertility.

S₁ (5) and (7), (they probably had exactly identical genotypes), were always the same, though crosses were not carried out at the same time, which increases the reliability of the results.

The F₁ generation of the Sa16 × Sa11 cross was composed of 32 individuals. In this family, similarly as in the preceding one, pseudocompatibility was very rare. In 22 plants self-pollination produced less than 0.5 seed per flower and only plant (24) developed 2.3 seeds per flower from self-pollination. However, plant (24) was also classified as self-incompatible, because as ♀ in crosses defined as incompatible its flower fertility ranged 1.1 to 0.12, whereas in two compatible crosses its flower fertility was 7 and 4. In nine instances of crosses defined as compatible the average flower fertility was two to three. The nine crosses were regarded as compatible because the setting of seeds by the plants used for the crosses was generally low. If these nine crosses were defined as incompatible the number of phenotypes in the family would increase.

Crosses within the Sa16 × Sa11 family and with two plants from the Sa11 — 2, S₂ (Table 8) led to the discrimination of seven phenotypes.

The number of individuals of each phenotype was as follows: 6, 6, 2, 1, 1, 6, and 10. Crosses with the plant (no. 16 and 7) from the Sa11 (2) — S₂ family gave in all cases exactly the same results, though the cross-pollinations were not all made at the same time. This in a way is a test confirming the accuracy of the experimental results.

Pseudocompatibility. In all the populations and families of this investigation pseudocompatibility was manifested to a greater or smaller degree. In some of the populations and families already mentioned the extent of pseudocompatibility was estimated by counting seeds produced by self-pollination.

In order to obtain more data on the extent of pseudocompatibility in some other families and populations flower fertility in flowers self- and cross-pollinated was compared.

The family Sa16 (2) — S₂ consisted of 41 individuals. In 22 of these plants flower fertility after self-pollination was less than 0.5 seed per flower, in 10 it ranged 0.5 to 0.9, in 8 it ranged 1 to 1.4, and in one plant flower fertility from self-pollination was 3.7.

The family C3 — S₁ was derived from the fully self-fertile plant C3 („Czerwona z Białym Końcem“ variety). The results of self-pollinations showed that of 18 plants two were completely self-sterile, 12 manifested pseudocompatibility in various degrees (unfortunately seed counts were not made), and four produced as numerous seeds from self-pollination as from cross-pollination.

In the family Sa2 × Sa11 consisting of 28 individuals the extent of

Table 8

Family Sa16 × Sa11. Effects of crosses with six plants from the same F₁ family and with two plants from Sa11(2)-S₂ family

No. of Plants ♀	Sa11 × Sa16						Sa11 (2)-S ₂	
	2	10	4	13	21	17	16	7
13	S	S	F	—	—	—	F	F
14	S	S	F	—	—	—	F	F
16	S	S	F	—	—	—	F	F
22	S	S	F	—	—	—	F	F
26	S	S	F*	—	—	S	F	F*
27	S	S	F	S	—	—	F	F
1	S	F	S	S	—	—	S	S
3	S	F*	S	—	—	—	S	S
5	S	F*	S	—	F*	—	S	S
12	S	F*	S	—	—	F	S	S
23	S	F*	S	S	—	F	S	S
24**	S	F	S	S	—	F	S	S
2	S	F	S	F	F	—	S	S
31	S	F*	S	F*	—	F	S	S
9	S	F	F	—	—	—	S	S
6	S	F	—	—	—	—	F	F
10	F	S	S	S	—	—	S	S
17	F	S	S	—	—	—	S	S
21	F	S	S	—	—	—	S	S
28	F	S	S	—	—	—	—	S
29	F	S	S	—	—	—	S	S
32	F	S	S	S	—	—	S	S
4	F	F	S	F	F	—	—	S
8	F	F	S	F	—	—	S	—
11	F	F	S	F	—	—	S	S
15	F	F	S	F	—	—	S	S
18	F	F	S	F	—	F	S	S
19	F	F	S	F	—	F	S	S
20	F	F	S	F	—	F	S	S
25	F	F	S	F	—	—	S	S
30	F	F	S	F	—	F	S	S
33	F	F	S	F	—	—	S	S

* 2-3 seeds per flower.

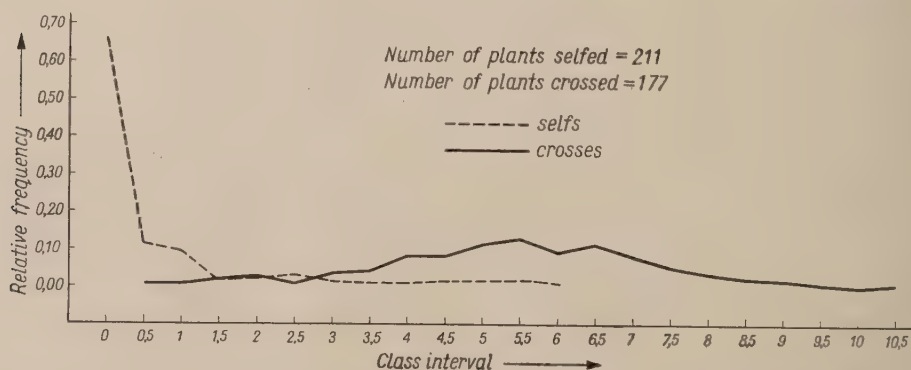
** Plant with higher degree of pseudocompatibility.

pseudocompatibility was small. The average fertility of self-pollinated seeds was 0 to 0.4 seed per flower and only one plant produced an average of 4.8 seeds from every self-pollinated flower.

In the family $Sa2 \times Sa16$ consisting of 26 individuals self-fertility of flowers in 14 plants was 0 to 1.4. In three plants self-fertility of flowers ranged 5.5 to 5.9 and was approximately the same as from cross-pollination. The self-fertility of the remaining individuals was intermediate.

The family $Sa16 \times Sa2$ was only self-pollinated, but the seeds were not counted. Out of 14 plants 5 were completely self-sterile, 6 produced seeds from self pollination in the same way as from free pollination, and the remaining three plants were intermediate.

Various degrees of pseudocompatibility were also manifested by 24 plants of the „Early Scarlet Globe Short Top Radish“ and 18 plants of the “Early Scarlet Globe Medium Top Radish”. In half of the plants of



Graph 1. The extent of pseudofertility in the samples of populations and the families of radishes studied

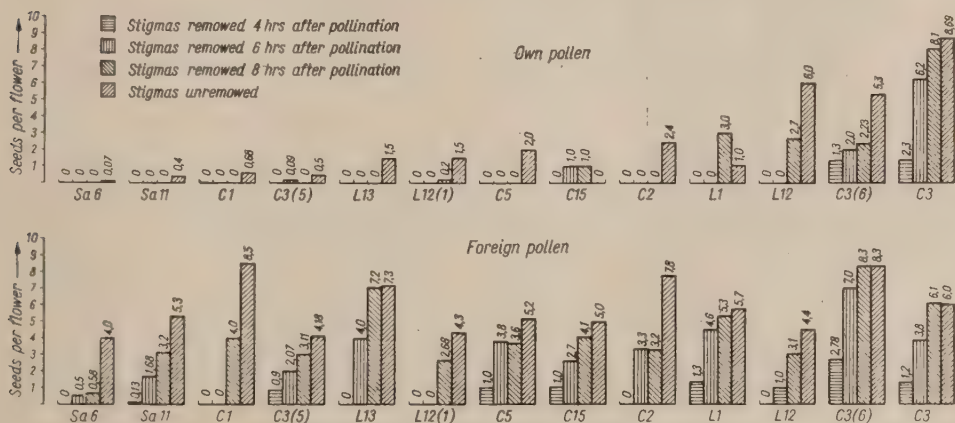
both varieties the average fertility of self-pollinated flowers ranged from 0 to 0.4, while in the other half different numbers of seeds were set after self-pollination. The highest self-fertility of flowers manifested by one plant was 6.2 seeds per flower.

Graph 1 illustrates synthetically the extent of pseudocompatibility in all the families and populations examined for this property. In spite of the different origin of the plants (selfs, controlled crosses, the progeny of freely pollinated plants) the sample as a whole is sufficiently large to illustrate the extent of pseudocompatibility in the radish varieties covered by the experiments. As is to be seen from the graph in more than 60 per cent of plants the setting of seeds from self-pollination averaged 0 to 0.4 seed per flower and in 20 per cent the setting of seeds averaged 0.5 to 1.4 seed per flower. In other plants the setting of seeds after self-

pollination was 3—4 and even to 6 seeds per flower, it was thus difficult to decide which of these plants were self-compatible and which were self-incompatible, all the more so as in crosses the average flower fertility also varied over a wide range. It is to be stressed that plants with a varying degree of pseudocompatibility were derived only from some families and populations. Other families consisted on the whole only of plants manifesting a very low degree of pseudocompatibility.

The results obtained in experiments with the cutting off of stigmata 4, 6 and 8 hours after self- and cross-pollination are assembled in Table 9a and illustrated by Graph 2.

The variance analysis shows that the fertility of self pollinated flowers (in all plants and for all times of stigmata amputation) differed signi-



Graph 2. Fertility of selfed and crossed flowers from which stigmas were removed at 4, 6 and 8 hours after pollination, or remained unremoved

ficantly from the fertility of cross-pollinated flowers. Similarly significant are the differences in the average flower fertility of both these series jointly for various times of stigmata amputations (Table 9b).

The earlier the stigmata were amputated the less seeds were set. This means that if the time was too short only few pollen tubes could penetrate to the style below an amputated stigma. It seems, therefore, either that even compatible pollen grains did not germinate simultaneously on a stigma or that the initial rate of growth of pollen tubes was not the same. On the other hand, there are no statistically significant differences between the fertility of self- and cross-pollinated flowers in which the stigmata were cut off after the same time from pollination. Probably the reason for the lack of statistical differences in this case was the very low

Table 9 a

Effects of removing of stigmata 4, 6 and 8 hours after self and cross-pollination on flowers fertility

Plant number	self-pollination										cross-pollination									
	stigma removed after pollination — hours					mean fertility of plants	unremoved		stigma removed after pollination—hours					unremoved		mean fertility of plants				
	4		6		8		4		6		8	no of flowers		seed per flow.						
	no of flow.	seed per flow.	no of flow.	seed per flow.	no of flow.		seed per flow.	no of flow.	seed per flow.	no of flow.	seed per flow.	no of flow.	seed per flow.	no of flow.	seed per flow.					
	L1	11	0,0	9	0,0	16	5	1,0	9	1,3	10	4,6	13	5	5,7	4,23				
L12	10	0,0	10	0,0	10	10	6,0	10	0,0	10	1,0	10	10	4,4	2,13					
L13	6	0,0	6	0,0	7	5	1,5	6	0,1	5	4,0	5	5	7,3	4,63					
L12(1)	10	0,0	6	0,0	5	4	1,5	10	0,0	7	0,0	9	7	4,3	1,74					
Sa11	11	0,0	10	0,0	10	10	0,4	0,1	10	0,1	1,7	10	3,2	6	5,3	2,58				
Sa6	8	0,0	6	0,0	6	14	0,1	0,02	7	0,0	0,5	12	9	4,0	1,27					
C1	6	0,0	6	0,0	7	7	0,7	0,2	6	0,0	0,0	8	6	8,5	3,13					
C2	5	0,0	8	0,0	9	8	2,4	0,6	5	0,0	3,3	6	7	7,8	3,58					
C3	10	2,3	10	6,2	10	10	8,7	6,3	9	1,2	3,8	10	6,1	10	6,0	4,28				
C3(5)	15	0,0	11	0,1	7	10	0,5	0,15	10	0,9	2,1	10	3,1	16	4,2	2,56				
C3(6)	13	1,3	10	2,0	14	9	5,3	2,7	19	2,8	7,0	19	8,3	15	8,3	6,59				
C5	10	0,0	10	0,0	10	10	2,0	0,5	10	1,0	3,8	10	3,6	10	5,2	3,40				
C15	10	0,0	15	1,0	9	10	0,0	0,5	9	1,0	2,7	10	4,1	6	5,0	3,20				
Mean for hours,		0,28		0,71			2,31	1,10		0,64		2,65			5,84	3,33				

L₄₅ Sx for the differences between mean plants fertility = 2,16L₄₅ Sx for the differences between mean fertility of selfed and crossed plants = 1,31

flower fertility when stigmata were cut off 4 and 6 hours after pollination. This refers to both series, i.e. both to self- and cross-pollinated flowers.

In the case of individual plants there are statistically significant differences in the fertility of self-pollinated flowers between plant C3 and all the other plants, as well as between C3 (6) — a plant in the self progeny of plant C3 — and plants L13, L12 (1), Sa11, Sa6, C1, and C15. There were, moreover, statistically significant differences between the fertility of the majority of plants pollinated with foreign pollen. However, the differences

Table 9b

Mean fertility of selfed and crossed flowers with stigmata removed at 4, 6 and 8 hours after pollination compared with fertility of flowers with stigmata unremoved

	Stigma removed after pollination—hours			unremoved
	4	6	8	
Flower fertility	0.92	3.36	5.52	8.15

$$t_{0.05} S_x = 1.46$$

probably consisted in the maximum possible fertility of the particular plants and not in the speed with which pollen germinated and the rate of initial pollen tube growth. Consequently there is no need to discuss them here.

The results of additional pollinations with foreign pollen of self pollinated flowers are listed in Table 10. In spite that all the plants in these experiments manifested pseudocompatibility in various degrees, after additional pollination with foreign pollen all or nearly all their progeny always consisted — except for the progeny of the cross Sa16 × Sa2 (4) — of crosses, even when the additional pollinations with foreign pollen had been made eight hours after the original self-pollination. This means that even in seemingly self-fertile plants the pollen from self-pollination developed more slowly than foreign pollen. Very interesting results in this respect were obtained with plant C3 (6) in which after self-pollination fairly numerous seeds were set and the pollen germinated rapidly (Graph 2).

DISCUSSION

Bateman's (1955) interpretation of his own results from researches on *Iberis amara* (1954) as well as of the results obtained by Riley (1932, 1936) on *Capsella grandiflora*, by Kakizaki (1930) on *Brassica oleracea* var. *capitata*, and by A. Gavin Brown (unpublished, quoted by Bateman, 1955) on *Raphanus sativus* is based on the assumption that

Table 10
Effects of self pollination and additional pollination with foreign pollen

Mother Plant	Pollinated with foreign pollen after selfing (hours)	Progeny			
		Hybrids	Selfs	Total	Percent of Hybrids
C3 (1)	0	43	—	43	100
	2	72	—	72	100
	3	27	1	28	96.4
	4	51	1	52	98.0
C3 (3)	0	28	—	28	100
	2	42	1	43	97.6
	3	40	—	40	100
	4	36	2	38	94.7
C3 (6)	0	50	5	55	90.9
	2	79	4	83	95.1
	3	57	—	57	100
	4	67	4	71	90.4
Sa10 (5)	0	79	—	79	100
	4	22	3	25	88.0
	6	49	5	54	90.7
	8	31	—	31	100
Sa6 (8)	0	37	2	39	94.8
	4	30	7	37	81.1
	6	17	—	17	100
	8	57	5	62	91.9
L12 (5)	0	6	—	6	100
	4	19	—	19	100
	6	17	—	17	100
	8	15	1	16	93.7
L14 (2)	0	5	—	5	100
	4	49	—	49	100
	6	42	—	42	100
	8	38	—	38	100
Sa16×Sa2 (2)	0	78	—	78	100
	4	134	7	141	95.0
	6	71	3	74	95.9
Sa16× ×Sa2(14)	0	89	2	91	97.8
	4	79	4	83	95.1
	6	59	1	60	98.3
	8	45	18	63	71.4

incompatibility in crosses is caused by one locus with a series of alleles, while the pollen reaction is determined sporophytically. The results obtained later in experiments with *Brassica oleracea* (Thompson 1957, Sampson 1957a) and with *R. sativus* (Sampson 1957b) are

explained according to the same assumption. It seems that the results of this investigation demonstrate beyond any doubt the sporophytic determination of the pollen reaction. This is indicated both by the differences in the fertility of reciprocal crosses and the differences in the phenotypes of mutually sterile plants. However, there remains for consideration the problem whether all the results here reported can be explained on the assumption that in *R. sativus* there is one locus of incompatibility.

When that part of Table 1 which lists the results for the three plants Sa7, Sa10, and Sa11 is considered the mutual fertility or sterility of these individuals can be explained by assuming only one locus of incompatibility and the following genotypes (the additional assumption is that in the determination of the pistil reaction S_4 dominates over S_2 , and S_3):

Genotype	♂	S_2S_4	S_1S_2	S_2S_3
♂	No. of plant	Sa7	Sa10	Sa11
S_2S_4	Sa7	S	F	F
S_1S_2	Sa10	S	S	S
S_2S_3	Sa11	S	S	S

When, however, also plant Sa16 is included in these considerations it becomes impossible to define what must be its genotype if it is to be sterile in both directions with plant Sa10 and fertile with the other plants. Obviously it is absolutely impossible to explain all the results obtained for the eleven plants of the "Saxa" variety on the assumption of only one locus of incompatibility.

The results of crosses among the six plants of the „Sopel Lodu“ variety can be explained by assuming the existence of only one locus of incompatibility and of the following genotypes:

Genotype	♂	S_1S_2	S_1S_3	S_2S_3	S_3S_4	S_2S_5	S_5S_6
♀	No. of plant	L3	K15	L7	L14	L17	L16
S_1S_2	L3	S	S	F	F	F	F
S_1S_3	L15	S	S	S	S	F	F
S_2S_3	L7	S	S	S	S	S	—
S_3S_4	L14	F	S	S	S	F	—
S_2S_5	L17	F	F	—	F	S	F
S_5S_6	L16	F	F	F	F	S	S

The assumption is made, moreover, that in determining pollen reaction S_3 dominates over S_2 and S_6 over S_5 , while in determining pistil reactions

S_1 dominates over S_2 and S_5 over S_2 . Thus a population composed of six plants would have to include six different alleles of incompatibility.

Obviously the results obtained with initial populations are by no means decisive. The final conclusions can be based only on the results obtained for selfs and for the progeny of controlled crosses.

If it is assumed that incompatibility in the radish varieties covered by this investigation is determined by one locus only, then the highest possible number of genotypes in the first self generation is three and the maximum number of phenotypes is also three or two if one allele was fully dominant.

Nevertheless, the results obtained for the first self generation of plant Sa11 (Table 3) show that this generation comprised four phenotypes, while the first self generation of plant Sa6 (Table 5) comprised five. Among the four investigated individuals in the progeny of plant Sa10 there were three phenotypes and this result can be interpreted according to the hypothesis of one locus of incompatibility when the following genotypes are assumed in the plants:

Genotype	♂	S_1S_2	S_1S_1	S_1S_1	S_2S_2
♀	No. of plant	(1)	(2)	(3)	(5)
S_1S_2	(1)	S	S	S	S
S_1S_1	(2)	F	S	S	F
S_1S_1	(3)	F	S	S	F
S_2S_2	(4)	S	F	F	S

When it is assumed that incompatibility is determined by one locus and that the parent plants differ with regard to one pair of alleles the greatest possible number of phenotypes in F_1 of crosses is four. The phenotypes may be fewer if one allele dominates over the others, but their number can never be more than four. In the cross Sa11 $\times$ Sa16 the flowers of the mother plant, which to some extent manifested pseudo-compatibility, were not castrated, and thus the progeny in this experiment might have consisted partly of actual crosses and partly of selfs of the mother plant. If this was so, the maximum number of genotypes would then be seven (four crosses and three selfs), and though the number of phenotypes might be smaller it never could be greater. Nevertheless, the number of phenotypes actually distinguished in this group of plants was 14 (Table 7).

In the progeny of the reciprocal cross Sa16 $\times$ Sa11 seven phenotypes were discriminated and it may thus seem that in this case there were

four groups of crosses and three groups of selfs. However, when the results are scrutinized carefully such an interpretation must be rejected. Another possibility would be that plants Sa11 and Sa16 had one common allele, since they were both sterile with regard to Sa10. Then the genotype of Sa11 could be e.g. S_1S_2 and of Sa16 e.g. S_1S_3 , and the population derived from the cross $Sa16 \times Sa11$ and from self-pollination of Sa16 would thus consist of the following five genotypes: S_3S_3 , S_1S_1 , S_1S_3 , S_1S_2 , and S_2S_3 . Actually the number of phenotypes was seven and the supposition of one common allele must be rejected. If, on the other hand, plants Sa11 and Sa16 had no common allele, and if the genotypes of Sa11 and Sa16 were e.g. S_1S_2 and S_3S_4 respectively, then the population derived from these two plants would consist of selfs descended from the mother plant Sa16 with genotypes S_3S_3 , S_3S_4 , and S_4S_4 , as well as of crosses with genotypes S_1S_3 , S_1S_4 , S_2S_3 , and S_2S_4 . This population was crossed among others also with plants from the second self generation of plant Sa11. These selfs could have one of the following genotypes: S_1S_1 , S_1S_2 , and S_2S_2 , of which each would be fertile with regard to any of the three genotypes of selfs derived from plant Sa16. Consequently, of the seven phenotypes distinguished in the population $Sa16 \times Sa11$ at least three would have to be fertile towards plant Sa11 (2) — S_2 , which was not the case since only two such phenotypes were identified. If the plants belonging to these two phenotypes were presumable selfs of the mother plant, then the other plants — derived from the $Sa16 \times Sa11$ cross — would have to belong to five different phenotypes. Such a result would be impossible if in this experimental variety of radish incompatibility was regulated by one locus only.

Thus, in two sample populations, in three progenies of selfs (the phenotypically uniform second self generation of plant Sa11 is here disregarded), and in two progenies of crosses — a total of 103 plants — that were examined only the results for one population of six plants and for one self progeny of four plants can be interpreted on the assumption of one incompatibility locus. The behaviour in all the other groups shows that there must be more than one of incompatibility locus.

The above results are not isolated. Tatebe (1957) in experiments with eastern varieties of *R. sativus* found that incompatibility in these plants was determined by two loci*. In the progeny of one of the crosses of *R. raphanistrum* Kroh (1956) distinguished three main intrasterile groups (A, B, C) each of which he further divided into subgroups accord-

* Unfortunately I have had no access to Tatebe's report and I know of his results only from a summary in the Biological Abstracts.

ing to the behaviour of the plants in intergroup crosses. Altogether, in the progeny of one cross consisting of 12 plants Kroh identified eight phenotypes. Similarly, in populations of *B. oleracea* incompatibility seems to be determined by more than one locus. Pearson (1930) reached the conclusion that in cabbages of his experiments there were two or three loci of incompatibility. In broccoli Sears (1937) distinguished five phenotypes in the progeny of one of the crosses, whereas Mizushima and Katsuo (1954) working with a variety of cabbage reached the conclusion that incompatibility in their experiments was determined by two loci.

The question, therefore, arises what is the cause of the differences between the results obtained by various workers.

Experimental work on incompatibility has its own specific methods and aspects. When the phenotypes of say ten plants are to be defined accurately it is necessary to cross them in all possible combinations, i.e. 90 crosses have to be made. Because of this the number of individuals in experiments must be strictly limited. For instance, Thompson (1957) experimented with five families of cabbage consisting altogether of 62 plants; Sampson (1957b) worked with 7 families of radish numbering 47 individuals; Pandey (1957) established the principles according to which incompatibility is inherited in *Physalis ixocarpa* from experiments on 22 individuals. Pandey states that the results of a further series of experiments confirmed this interpretation but she does not say what these results were. It is doubtful whether anybody would risk to explain the mechanism of heredity of e.g. the colour in flowers on so limited data.

Furthermore, there is always the danger of committing a mistake in classifying the particular crosses as compatible or incompatible. It is not only a question of pseudocompatibility which undoubtedly obliterates the experimental results. To obtain the results of crosses as early as possible Sampson (1957b) defined crosses as fertile or sterile by staining the stigmata with acetocarmine 24 hours after pollination. Since the emptied pollen tube, did not, and the full ones did stain in acetocarmine, counts of the empty and full pollen grains could be made. When in one preparation composed of stigmata from four flowers there were 10 or less unstained pollen grains Sampson classified the cross as sterile and when the number of unstained pollen grains was 10 to 50 as partly fertile. Crosses were defined as fertile if the number of unstained pollen grains was more than 50. The three initial plants in Sampson's experiments did not set seeds in self-pollination, but "...were self-compatible by the stigma squash method" (p. 26, op. cit.). In spite of this in further ex-

periments Sampson defined compatibility by the very same stigma squash method*.

In order to estimate correctly another source of possible error in experiments on incompatibility let us consider the results obtained by Sirks (1913, quoted according to Lawrence, 1930) on *Verbascum phoeniceum*. The species is a tetraploid and has, according to Lawrence, two loci determining incompatibility. In Sirks' experiments in the F_1 generation from the first cross all the twenty plants were fertile with regard to all others (whereas the maximum possible number of phenotypes should have been 16). The situation was the same in F_1 of the cross between two plants from the first cross as well as in one more generation. It is not till the fourth generation of sib breeding that the particular phenotypes consisted of a few plants. Thus the conclusion may be drawn that if incompatibility is determined by two (or more?) loci with series of alleles, then the plants having some common alleles will be mutually compatible and sib breeding will favour the development of homozygosis. This means that researches on the genetics of incompatibility produce reliable results only when the initial parent plants were not sib bred.

In the light of what has been said above let us now consider the experimental data concerning incompatibility in *Cruciferae*. In Riley's (1932, 1936) experiments on *Capsella grandiflora* there were in the progeny of each of the particular crosses two or three intrasterile groups. However, Riley stresses that the number of incompatibility alleles cannot be established from the number of phenotypes distinguished by him, since "...many [alleles] may have been eliminated by close breeding". The seeds of *Iberis amara* which were used as the starting material by Bateman (1945b) in his investigations were collected in botanical gardens; the six initial plants in the first series of these experiments "...appeared to belong to two compatibility groups..." (p. 306, loc. cit.) and among the plants from which the material of the second series was derived cross-incompatibility was also common. This means that as a result of sib breeding homozygosis was far advanced in both initial populations. The contradictory results in experiments with cabbages and radish may be connected with the differences in the breeding of the particular varieties: in populations derived from few individuals the number of incompatibility alleles, and thus of intrasterile groups, would be smaller than in populations derived from numerous individuals where the diversity of incompatibility genotypes would be greater.

* Is it possible that in Sampson's report there is a printing error and that the above quotation should run "...were self-incompatible..." and not "self-compatible"?

It seems that the sporophytic determination of pollen reactions in *Cruciferae* is now fully demonstrated. One of the characteristic manifestations of the sporophytic determination is the domination of some alleles by others. The consequence of this is that phenotypically identical plants may have different genotypes. In F_1 of a cross between plants belonging to two different varieties of radish Gavin Brown (unpublished, quoted according to Bateman 1955) found only two intrasterile groups and Bateman believes that these plants must have had one common allele, which means that the number of incompatibility alleles in *R. sativus* must be small. It seems, however, that the results obtained by Gavin Brown can also have a different interpretation than the one accepted by Bateman. It is conceivable that the S alleles of one variety may dominate fully over the alleles of the other variety. Then plants having two different genotypes would be indistinguishable with regard to their phenotype. E.g. there are only two phenotypes in the cross $S_1S_2 \times S_3S_4 \rightarrow S_1S_3, S_1S_4, S_2S_3, S_2S_4$ if alleles S_1 and S_2 fully dominate over alleles S_3 and S_4 . When two loci of incompatibility, of which one is in homozygous state, are assumed the result is the same: $S_1S_2Z_1Z_1 \times S_3S_4Z_2Z_2 \rightarrow S_1S_3Z_1Z_2, S_1S_4Z_1Z_2, S_2S_3Z_1Z_2, S_2S_4Z_1Z_2$. Here also there are only two phenotypes when S_1 and S_2 dominate over S_3 and S_4 .

The results of domination are two-fold: 1) the differences between the fertility of reciprocal crosses and 2) the different behaviour of intersterile plants with regard to other genotypes. For instance, in Kroh's experiments already mentioned here, the plants of group A were intersterile, but in crosses with plants from group C their behaviour differed. A similar result was obtained by Attia and Munger (1950) in cabbage. Thus, the identification of all phenotypes in a population or a family is possible only when adequate test plants are available. Indeed in the course of my investigations 14 phenotypes were distinguished in the family $Sa11 \times Sa16$ and only seven phenotypes in the family $Sa16 \times Sa11$, although it had seemed probable that actually genotypes and phenotypes would be equally numerous in both families. However, the plants in the former of these families were pollinated with pollen of plants belonging to the family itself as well as of plants having four different phenotypes — three plants from the family $Sa11$, S_1 and plant $Sa16$ (2). On the other hand in the family derived from the latter cross besides the plants from the same family only two "testers" with the same phenotypes, and probably also with the same genotypes, were used. It seems that the lack of adequate testers may have prevented the identification of all phenotypes in these two families.

None of the varieties and families in the experiments covered by this investigation manifested complete self-incompatibility. Nevertheless, most plants in the particular families were either completely self-sterile or produced not more than 0.4 seed per flower from self-pollination, though in each family there were always some plants which gave 2—3 seeds per flower and some which were seemingly completely self-fertile. Let us consider from this point of view the most interesting cases. Plants Sa11, Sa16, and Sa2 manifested some pseudocompatibility, the trait being more marked in the first two of these plants. In the second self generations of plants Sa11 and Sa16 pseudocompatibility was well marked. In F_1 of the cross Sa11 $\times$ Sa16 and of the reciprocal cross pseudocompatibility was less frequent. Similarly the degree of self-sterility was very high in the cross Sa2 $\times$ Sa11, whereas in the first generation of the cross Sa2 $\times$ Sa16 and of the reciprocal cross all the intermediate characters ranging from full self-sterility to seemingly full self-fertility appeared. In S_1 of the fully self-fertile plant C3 (Graph. 2) there were fully self-sterile, intermediate, and self-fertile individuals.

The occurrence of self-fertile individuals in the progeny of self-sterile plants was noted by Kakizaki (1930), Sears (1937) and Sampson (1957b) in *Brassica oleracea*, by Stout (1922) in *Br. Pekinensis* and *Br. chinensis*, and by Bateman (1954b) in *Iberis amara*. Pseudocompatibility in species usually self-sterile was noted by many workers, e.g. Malinowski (1916) in *R. sativus*, Kroh (1956) in *R. raphanistrum*, Odland and Noll (1950), Attia and Munger (1950) and Sampson (1957a) in *Br. oleracea*, and Owen (1942) in *Beta vulgaris*.

My experiments on the speed of pollen germination and pollen growth included 21 plants manifesting the ability for self-pollination in various degrees. Of these 21 plants in one (C3) only pollen from self-pollination germinated and grew — at least in the first stage — as rapidly as foreign pollen. In the progeny of this plant there were completely self-sterile individuals as well as individuals manifesting various degrees of self-fertility. In one of these plants — C3 (6) — pollen germinated relatively rapidly (Graph 2), but when self-pollinated flowers were additionally pollinated with foreign pollen the overwhelming majority of seeds developed from fertilization by foreign pollen (Table 10). Thus, even this plant was not fully self-fertile and it is perhaps most accurate to define it as manifesting cryptic self-incompatibility (Bateman 1956). In so far as all the other plants are concerned self-sterility, manifested in various degrees, was demonstrated beyond doubt.

All the facts assembled here confirm the opinion of Kakizaki

(1930) and K r o h (1957) that self-compatibility — or to be more accurate cryptic self-incompatibility — is determined by various alleles of the same loci that determine full self-incompatibility. It seems that the same can be said of pseudocompatibility. The based explanation of the problem is probably supplied, regardless of the actual number of loci determining self-sterility, by B a t e m a n's hypothesis according to which different degrees of self-sterility are controlled by a definite co-operation of various alleles. The alleles may be completely or partly dominant, then one allele abolishes the effects of another allele, they may also mutually enhance or weaken their effects which results in the stronger or weaker manifestation of self-fertility.

CONCLUSIONS

1. Incompatibility in *Raphanus sativus* is determined by more than one locus with numerous alleles.
2. The determination of the pollen reaction is sporophytic.
3. Pseudocompatibility and cryptic self-incompatibility are determined by the co-operation of the same alleles that determine incompatibility.

My most sincere gratitude is due to Professor W. Gajewski for his kind and generous help and guidance in the course of this work.

Department of Genetics
Warsaw University
Warsaw, Poland

(Entered: 18.11.1959)

LITERATURE CITED

- Attia M. S. and Munger H. M., 1950, Self-incompatibility and the production of hybrid cabbage seed, *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 56: 363—368.
- Bateman A. J., 1952, Self-incompatibility systems in Angiosperms. I. Theory, *Heredity* 6: 285—309.
- Bateman A. J., 1954a, The diversity of incompatibility systems in flowering plants. Huitième Congrès Int. de Botanique, Paris, 1954. Rapports et communications parvenus avant le Congrès aux sections 9 et 10. Pp. 138—146 (Vol. préliminaire).
- Bateman A. J., 1954b, Self-incompatibility systems in Angiosperms. II. *Iberis amara* *Heredity* 8: 305—332.
- Bateman A. J., 1955, Self-incompatibility systems in Angiosperms. III. *Cruciferae*, *Heredity* 9: 53—67.
- Bateman A. J., 1956, Cryptic self-incompatibility in the Wallflower *Cheiranthus cheiri* (L.), *Heredity* 10: 257—261.
- Crowe L. K., 1954a, The genetics and physiology of incompatibility in *Cosmos bipinnatus*. Huitième Congrès Int. de Botanique, Paris, 1954. Rapports et Communications parvenus avant le Congrès aux sections 9 et 10, p. 134—137. (Vol. préliminaire).
- Crowe L. K., 1954b, Incompatibility in *Cosmos bipinnatus*. *Heredity* 8: 1—11.
- Gerstel D. U., 1950, Self-incompatibility studies in Guayule. II. Inheritance, *Genetics* 35: 480—506.

- Hughes B. and Babcock F. B., 1950, Self-incompatibility in *Crepis foetida* subsp. *rhoeadifolia* (Bieb) Schinz et Keller, Genetics, 33: 570—588.
- Kakizaki Y., 1930, Studies on the genetics and physiology of self- and cross-incompatibility in the common cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.), Jap. Jour. Bot. 5: 133—208.
- Kroh M., 1956, Genetische und Entwicklungsphysiologische Untersuchungen über die Selbsterilität von *Raphanus raphanistrum*, Zeitschr. Ind. Abst.-Vererb. 87: 365—385.
- Lawrence W. J. C., 1930, Incompatibility in polyploids. Genetica 12: 269—294.
- Lewis D., 1954a, Incompatibility in relation to physiology, genetics and evolutionary taxonomy. Huitième Congrès Int. de Bot., Paris, 1954. Rapports et communications parvenus avant le Congrès aux sections 9 et 10. Pp. 124—133 (vol. préliminaire).
- Lewis D., 1954b, Comparative incompatibility in angiosperms and fungi, Adv. in Genetics, vol. VI, pp. 235—280.
- Malinowski E., 1916, O dziedziczeniu niektórych cech u rzodkiewki, Sprawozdanie z posiedzeń Tow. Nauk. Warsz., Wyd. N. Mat. i Przyr. rok 9 (7): 757—776.
- Mizushima U. and Katsuo K., 1954, (A new case of the phenomenon of incompatibility in the cabbage). Ikushugaku Zasshi (Jap. J. Breeding, 1953: 2: 121—125), Pl. Br. Abstr., 24: 469, abstr. 2506.
- Odland M. C., and Noll C. J., 1950, The utilisation of cross-compatibility in the production of F₁ hybrid cabbage, Proc. Am. Soc. Hort. Sci., 55: 391—402.
- Oelke J., 1957, Zur Physiologie der Selbst- und Kreuzungsterilität beim Radischen (*Raphanus sativus* L.), Der Züchter, 27: 358—369.
- Owen F. V., 1942, Inheritance of cross- and self-sterility in *Beta vulgaris*, Journ. Agr. Res. 62: 679—698.
- Pandey K. K., 1957, Genetics of self-incompatibility in *Physalis ixocarpa* Brot. A new system, Am. Journ. Bot., 44: 879—887.
- Pearson O. H., 1930, Further observations on the type of sterility in *Brassica oleracea* var. *capitata* L., Proc. Am. Soc. Hort. Sci. 27: 337—342.
- Riley H. P., 1932, Self-sterility in Shephard's purse. Genetics, 17: 231—295.
- Riley H. P., 1936, The genetics and physiology of self-sterility in the genus *Capsella*, Genetics, 21: 24—38.
- Sampson D. A., 1957a, The genetics of self- and cross-incompatibility in *Brassica oleracea*, Genetics 42: 251—262.
- Sampson D. R., 1957b, The genetics of self-incompatibility in the radish, Jour. Hered., 48: 26—29.
- Sears E. R., 1937, Cytological phenomena connected with self-sterility in the flowering plants, Genetics 22: 130—181.
- Sirks M. J., 1926, Further data on the self- and cross-incompatibility of *Verbascum phoeniceum*, Genetica 8: 345.
- Stout A. B., 1922, Cyclic manifestation of sterility in *Brassica pekinensis* and *B. chinensis*, Bot. Gaz. 73: 110—132.
- Tatebe T., 1957, (Studies on the genetics of self- and cross-compatibility in the oriental radish II). Engeraki Kai Zasshi (J. Hort. Ass.). Japan, 1956, Plant Br. Abstr., 27: 573.
- Thompson K. F., 1957, Self-incompatibility in marrow-stem kale *Brassica oleracea* var. *acephala*, Journ. Genet., 55: 45—60.

Badania nad wartością pH grzybni niektórych grzybów niszczących drewno

Investigations on pH values of mycelia of some wood-destroying fungi

J. WAŻNY

WSTĘP

W literaturze naukowej spotyka się dużą ilość prac poświęconych badaniom wpływu koncentracji jonów wodorowych na grzyby. Obejmują one zwykle takie zagadnienia, jak określenie wartości granicznych pH podłoża, na którym rozwijają się grzyby, zmiany pH podłoża w procesie wzrostu grzybów, wpływ odczynu pożywki na procesy życiowe grzybów. W pracach tych można znaleźć tylko nieliczne dane dotyczące koncentracji jonów wodorowych w substancji komórkowej grzybni.

Po raz pierwszy pH substancji komórkowej oznaczył w 1924 roku Robbins, który stwierdził u *Rhizopus nigricans* Ehrenb. $\text{pH} = 5.0$, a u *Fusarium lycopersici* Sacc. $\text{pH} = 5.5$ (Foster 1951).

Amstrong określił pH soku wyciśniętego z owocników grzybów kapeluszowych na 5,9 — 6,2 (Lilly i Barnett 1951).

Mahdihassan (1930) stwierdził, że wartość pH substancji komórkowej *Fusarium* sp. wynosi 6,1.

Bünning (1936) posługując się indykatorami ustalił, że pH substancji komórkowej u *Aspergillus niger* v. Tiegh. waha się w granicach 4,2—5,0 i zależna jest od kwasowości środowiska, w którym grzyb rozwija się.

W dostępnej literaturze brak jest jakichkolwiek wyników dotyczących wartości pH substancji komórkowej grzybów niszczących drewno. Stan powyższy był zachętą do podjęcia własnych badań w tej dziedzinie. Celem ich było ustalenie koncentracji jonów wodorowych substancji komórkowej grzybni niektórych grzybów niszczących drewno. Obok stwierdzenia wartości pH grzybni w jednakowych warunkach wzrostu, rozpatrzono jej zmienność w zależności od różnych czynników, jak szczep grzyba, okres wzrostu, temperatura, rodzaj i pH pożywki, gatunek drewna i inne. Wy-

jaśnienie tych zagadnień powinno przyczynić się do lepszego poznania procesów fizjologicznych zachodzących u grzybów, a w szczególności dać podstawę do mikrochemicznej metody ich diagnostyki.

METODYKA BADAŃ

Dla określenia wartości pH substancji chemicznych, a więc i substancji komórkowej stosuje się metody elektrometryczne i kolorymetryczne.

Pierwsza z nich oparta jest na pomiarze różnicy potencjałów pomiędzy badaną substancją a źródłem o znanej sile elektromotorycznej. Do pomiarów stosuje się pH-metry o elektrodach różnych typów: wodorowe, chinhydronowe, szklane itp. Zakres stosowania metody elektrometrycznej w cytologii jest bardzo ograniczony. Zwykle pH-metry wymagają bowiem stosunkowo dużej ilości oznaczanej substancji, czym w przypadku komórki roślinnej rzadko kiedy dysponujemy. Badanie wyciągów substancji komórkowej daje natomiast wyniki obarczone poważnymi błędami, których źródłem jest zmiana wartości pH przy kontakcie z powietrzem. Uniknięcie tych błędów jest możliwe przy zastosowaniu mikroelektrod, które wprowadzone do wnętrza komórki dają właściwy wynik wartości pH substancji komórkowej.

Przy badaniach cytologicznych szerokie zastosowanie znalazła metoda kolorymetryczna. Związana jest ona ze stosowaniem indykatorów — związków chemicznych posiadających zdolność zmieniania swojego koloru przy określonej koncentracji jonów wodorowych. Zmiana koloru w ogólnym zarysie polega na tym, że w zależności od pH środowiska molekuly indykatora znajdują się w stanie zdysocjonowania lub niezdisocjonowania. W związku z tym posiadają one różną zdolność do absorbowania promieni świetlnych, a tym samym powodują różne zabarwienie substancji. Stosuje się zwykle dwa sposoby wprowadzania indykatorów do komórki: przy pomocy barwienia przyżyciowego lub drogą mikroinjekcji. W pierwszym przypadku badaną komórkę lub części organów umieszcza się w roztworze indykatora, a następnie przy pomocy mikroskopu określa zmianę zabarwienia substancji komórkowej. Większość barwników kwaśnych nie wnika jednak do komórek lub daje słabe, mało wyraźne zabarwienie. Z tego względu do metody witalnego barwienia stosuje się barwniki zasadowe, co znacznie ogranicza jej zakres. Barwienie przyżyciowe jako metoda określania pH substancji komórkowej posiada jeszcze i inne wady, jak np. trudność uzyskania jednakowej koncentracji barwnika wewnątrz różnych komórek, co w dużym stopniu obniża dokładność oznaczeń.

Wspomnianych wyżej wad pozbawiona jest metoda mikroinjekcji. Indykator w tym przypadku wprowadza się do komórki przy pomocy mikro-

manipulatora: w postaci roztworu mikropipetką lub mikroigłą w postaci drobiutkiego proszku.

Po wprowadzeniu indykatora do komórki ustala się charakter zmian jego zabarwienia i na tej podstawie oznacza się wartość pH substancji komórkowej.

Francuski cytofizjolog F. Wl^é (M a k a r o w 1953) zaproponował nieco inną metodę określania pH substancji komórkowej. Badany obiekt rozdrabniał on na miazgę i zalewał indykatorem. Dla uniknięcia zmian pH pod wpływem powietrza i ulatniającego się z komórek CO₂ materiał był rozdrabniany po uprzednim zamrożeniu, a wszystkie oznaczenia wykonywano w temperaturze 0°C.

W niniejszej pracy do oznaczania pH substancji komórkowej grzybni zastosowano metodę kolorymetryczną zbliżoną w zasadzie do francuskiej metody Wl^é. Niewielkie kawałeczki grzybni zalewano na szkiełku zegar-

Tabela I
Wykaz stosowanych indykatorów

Lp.	Nazwa	Nazwa chemiczna	Zakres pH
1	Błękit tymolowy	tymolo-sulfono-ftaleina	1,2—2,8
2	Tropeolina 00	sól sodowa kwasu 4'anilino-azobenzeno-p-sulfonowego	1,3—3,2
3	Żółcień dwumetylowy	dwumetylo-amino-azobenzen	2,9—4,0
4	Oranż metylowy	dwumetylo-amino-azobenzeno-p-sulfonian	3,1—4,4
5	Błękit bromofenolowy	tetrabromo-fenolo-sulfono-ftaleina	3,0—4,6
6	Czerwień Konga	dwufenylo-4-4'-bisazo-2-naftylo-amino-l'-sulfonian sodu	3,0—5,2
7	Zieleń bromokresolowa	tetrabromo-m-kresolo-sulfono-ftaleina	4,0—5,6
8	Czerwień metylowa	kwas dwumetylo-amino-azobenzeno-karbonowy	4,4—6,2
9	Błękit bromotymolowy	dwubromo-tymolo-sulfono-ftaleina	6,0—7,6
10	Czerwień obojętna	amino-dwumetylo-amino-metylo-fenochlorek cynku	6,8—8,0
11	Czerwień fenolowa	fenolo-sulfono-ftaleina	6,8—8,4
12	Fenolfaleina	dwu-p-dwuoksyfenylo-ftaleid	8,2—10,0

kowym roztworem indykatora i miażdżono przy pomocy pałeczki szklanej. Uniknięto w ten sposób dość kłopotliwego zamrażania obiektu, a jednocześnie znacznie zmniejszono niebezpieczeństwo zmian pH substancji komórkowej spowodowanych działaniem powietrza. Oznaczanie wartości pH przeprowadzono przez porównanie zabarwionej grzybni z zabarwieniem

roztworów buforowych, do których wprowadzano tę samą ilość indykatora. Roztwory buforowe były przygotowane wg Mc. Ilvaine'a (Homolka 1958) przy zastosowaniu kompozycji roztworów 0,2 M Na_2HPO_4 i 0,1 M kwasu cytrynowego, w odstopniowaniu co pH 0,2. Wykaz używanych indykatorów i ich zakresy podaje tabela 1. Wartość pH grzybni oznaczano w 4 powtórzeniach, równolegle przy pomocy 2—3 indykatorów o zbliżonym zakresie działania, co znacznie zwiększyło dokładność wyników. W przypadku rozbieżności wyników, uzyskanych przy zastosowaniu różnych indykatorów, w tabelach podawano wartości skrajne.

WYNIKI BADAŃ

Wartość pH grzybni gatunków grzybów
niszczących drewno

Badaniom poddano grzybnie 20 gatunków grzybów niszczących drewno pochodzących z kolekcji czystych kultur Zakładu Patologii i Konserwacji Drewna SGGW, a mianowicie: *Merulius lacrymans* (Wulf.) Fr. f. *domesticus* Falck i f. *silvester* Falck, *Merulius pinastri* (Fr.)

Tabela 2
Wartość pH grzybni 15-dniowej

Lp.	Gatunek grzyba	pH grzybni
1	<i>Merulius lacrymans</i> (Wulf.) Fr.	3,8—4,0
2	<i>Merulius pinastri</i> (Fr.) Burt.	3,4—3,6
3	<i>Coniophora cerebella</i> Pers.	3,4—3,6
4	<i>Poria vaporaria</i> Pers.	4,0
5	<i>Poria Vaillantii</i> DC.	3,8
6	<i>Poria medulla-panis</i> Bres.	4,0
7	<i>Paxillus acheruntius</i> Fr.	4,0—4,2
8	<i>Lenzites sepiaria</i> Fr.	4,0—4,2
9	<i>Lenzites betulina</i> Fr.	5,0
10	<i>Lentinus lepideus</i> Fr.	4,2—4,4
11	<i>Daedalea quercina</i> (L.) Fr.	5,0—5,2
12	<i>Polystictus versicolor</i> Fr.	5,0
13	<i>Schizophyllum commune</i> Fr.	5,2—5,4
14	<i>Peniophora gigantea</i> (Fr.) Mass.	5,0—5,2
15	<i>Trametes serialis</i> Fr.	3,4—3,6
16	<i>Trametes pini</i> Fr.	3,8—4,0
17	<i>Fomes ignarius</i> Fr.	4,8
18	<i>Fomes fomentarius</i> Fr.	4,8—5,0
19	<i>Fomes roseus</i> Fr.	5,0
20	<i>Armillaria mellea</i> (Vahl) Quel.	5,0

Burt., *Coniophora cerebella* Pers., *Poria vaporaria* Pers., *Poria Vaillantii* D C., *Paxillus acheruntius* Fr., *Lenzites sepiaria* Fr., *Lenzites betulina* Fr., *Lenzinus lepideus* Fr., *Daedalea quercina* (L.) Fr., *Poly-stictus versicolor* Fr., *Schizophyllum commune* Fr., *Peniophora gigantea* (Fr.) Mass., *Trametes serialis* Fr., *Trametes pini* Fr., *Armillaria mellea* (Vahl.) Quel., *Fomes igniarius* Fr., *Fomes fomentarius* Fr., *Fomes roseus* Fr. i *Poria medulla-panis* Bres.

Grzybnia wymienionych grzybów hodowana była w szalkach Petriego lub probówkach, na pożywce agarowo-brzeczkowej o składzie: agaru 7 g, brzeczki piwnej 10°Be 159 g, wody destylowanej 350 g, w temperaturze 22°C i wilgotności względnej powietrza 75%. Pomiar pH przeprowadzono po 14 dniach od chwili zaszczepienia. Grzybnia była pobierana z krawędzi kolonii, a więc była to grzybnia najmłodsza. Uzyskane wyniki dla poszczególnych gatunków grzybów przedstawione są w tabeli 2. Na ich podstawie można stwierdzić, że grzybnia badanych gatunków grzybów rozkładających drewno hodowana w jednakowych warunkach posiadała różną wartość pH substancji komórkowej, która wahała się w granicach od 3,4 do 5,4. Najwyższą wartość uzyskala grzybnia *Schizophyllum commune* (pH 5,2—5,4) oraz *Daedalea quercina* i *Peniophora gigantea* (pH 5,0—5,2), najniższą grzybnia *Trametes serialis*, *Coniophora cerebella* i *Merulius pinastri* (pH 3,4—3,6).

Wartość pH grzybni różnych szczepów

Celem niniejszego doświadczenia było zbadanie, czy wartość pH grzybni rozwijającej się w tych samych warunkach jest stałą dla gatunku grzyba, czy też zmienia się w zależności od szczepu. Oznaczono więc pH grzybni następujących 5 szczepów *Merulius lacrymans*: trzy f. *domesticus*: stan-

Tabela 3
Wartość pH grzybni różnych szczepów

Lp.	Gatunek grzyba	Szczep	pH grzybni
1	<i>Merulius lacrymans</i> (Wulf.) Fr	standard	3,8—4,0
		Warszawa I	4,4—4,8
		„ II	4,6—4,8
		„ III	3,4—3,6
		„ IV	3,0—3,2
2	<i>Coniophora cerbella</i> Pers.	standard	3,6—3,8
		Moskwa	4,4—4,8
		Warszawa I	3,6—3,8
		„ II	3,8
		„ IV	3,8

dard (Eberswalde), Warszawa I, II i dwa f. *silvester*: Warszawa III, IV oraz 5 szczepów *Coniophora cerebella*: standard (Eberwalde), Warszawa I, II, IV i Moskwa. Kultury tych szczepów hodowano na pożywce agarowo-brzeczkowej o składzie podanym wyżej, w temperaturze 22°C i wilgotności względnej powietrza 75%. Do pomiarów pobierano grzybnie z krawędzi kolonii, po 15 dniach od chwili zaszczepienia. Uzyskane wyniki (tab. 3) wskazują na wyraźne różnice istniejące pomiędzy wartościami pH grzybni różnych szczepów jednego gatunku grzyba. Wartości te zarówno u *Merulius lacrymans* i *Coniophora cerebella* wahały się w dość szerokich granicach, nieznacznie tylko węższych od zakresu, jaki uzyskano dla różnych grzybów rozkładających drewno.

Wartość pH grzybni w różnych okresach wzrostu

Grzyby rozkładające drewno w czasie swojego rozwoju wydzielają do otoczenia szereg produktów przemiany materii, a wśród nich różne kwasy organiczne jak szczawiowy, cytrynowy i in. Birkinshaw Findlay i Webb (1940) stwierdzili, że *Merulius lacrymans* i *Coniophora cerebella* dzięki wydzielanym przez siebie kwasom mogą sprowadzić kwasowość roztworu słodowego o początkowym pH 6,8 do wartości równej 2. Autorzy nie podają jednak, jak kształtowała się w tym czasie wartość pH grzybni.

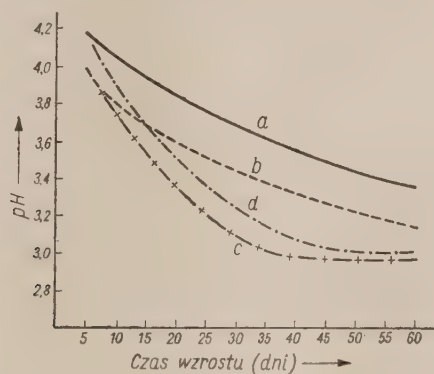
Dla zbadania tego zagadnienia przeprowadzono w niniejszej pracy do-

Tabela 4

Wartość pH pożywki i grzybni w różnych okresach wzrostu

Lp.	Okres wzrostu w dniach	<i>Merulius lacrymans</i>		<i>Coniophora cerebella</i>		<i>Poria vaporaria</i>		<i>Paxillusacheruntius</i>	
		pH pożywki	pH grzyb.	pH pożywki	pH grzyb.	pH pożywki	pH grzyb.	pH pożywki	pH grzyb.
1	0	5,8	—	5,8	—	3,8	—	5,8	—
2	5	5,0	4,2	3,8	4,0	3,6	4,0—3,8	4,0	4,2
3	10	3,6—3,4	4,2—4,0	3,6	3,8—3,6	3,2	3,8—3,6	3,6—3,4	3,8
4	15	3,4—3,2	3,8	3,2—3,0	3,6	3,0—2,8	3,6—3,4	3,2—3,0	3,6
5	20	3,2—3,0	3,8	3,0	3,6	2,6	3,4	3,0	3,6
6	25	3,0	3,8	3,0—2,8	3,6	2,4	3,2	2,8	3,4
7	30	2,8	3,8	2,8	3,4	2,2	3,0	2,8	3,4—3,2
8	35	2,8	3,6	2,8	3,4	2,2	3,0	2,8	3,2
9	40	2,6	3,6	2,6	3,4	2,2	3,0	2,6	3,2
10	45	2,6	3,6	2,6	3,2	2,0	3,0	2,6	3,0
11	50	2,4	3,4	2,4	3,2	2,0	3,0	2,4	3,0
12	55	2,4	3,4	2,4	3,2	2,0	3,0	2,2	3,0
13	60	2,2	3,4	2,4	3,2	2,0	3,0	2,2	3,0

świadczenie z czterema grzybami niszczącymi drewno: *Merulius lacrymans*, *Coniophora cerebella*, *Poria vaporaria* i *Paxillus acheruntius*. Kultury ich zaszczipiono na pożywcę agarowo-brzeczkowej i przechowywano w temperaturze 22°C i wilgotności względnej powietrza 75%. W odstępach 5-dniowych przeprowadzano oznaczenia wartości pH grzybni oraz pożywki. Zarówno grzybnę, jak i pożywkę pobierano stale z jednakowej odległości od inokulum. Uzyskane wyniki zebrano w tabeli 4 i na rys. 1. Stwierdzono, że w miarę wzrostu grzybni nastąpiło obniżanie się jej pH pH pożywki. Wartość pH substancji komórkowej grzybni zmniejszała się na ogół jednostajnie w czasie, osiągając najniższą wartość pH 3,0—3,4,



Rys. 1. Wartość pH grzybni w zależności od czasu wzrostu.
a — *Merulius lacrymans*; b — *Coniophora cerebella*; c —
Poria vaporaria; d — *Paxillus acheruntius*

przy początkowym pH 4,0—4,2. Najmniejszą wartość osiągnęła grzybnia *Poria vaporaria* (pH 3,0), największą *Merulius lacrymans* (3,4).

Wartość pH pożywki w tym samym czasie kształtowała się mniej jednostajnie. W pierwszych dwóch okresach 5-dniowych stwierdzono znaczne obniżenie pH od wartości początkowej 5,8 do 3,2—3,6, później tempo spadku było wolniejsze. Największe obniżenie po 60 dniach spowodował grzyb *Poria vaporaria* (do pH 2), najmniejsze *Paxillus acheruntius* (do pH 2,4). We wszystkich przypadkach wartość pH grzybni była wyższa niż pH pożywki, z wyjątkiem początkowego okresu (5 dni) u *Merulius lacrymans*.

Wartość pH grzybni w okresie kształtowania owocników

Podany wyżej przebieg zmian wartości pH substancji komórkowej i pożywki miał miejsce przy normalnym wzroście wegetatywnym grzybni. W okresie wykształcania owocników substancja komórkowa podwyższała

swą wartość pH. Zjawisko to stwierdzono na podstawie przeprowadzonych obserwacji. Naczynia z czystymi kulturami różnych grzybów niszczących drewno trzymane przez pewien czas w miejscu oświetlonym rozproszonym światłem dziennym. Po okresie od 1 1/2 do 6 miesięcy w naczyniach zaczęły się tworzyć owocniki, nie zawsze zresztą w normalnej swojej postaci. Przeprowadzono oznaczenia wartości pH tkanki strzępkowej tych owocników oraz, dla celów porównawczych, grzybni z tych samych naczyni. Wyniki wykazały (tab. 5), że pH substancji komórkowej w miarę

Tabela 5
Wartość pH owocników

Lp.	Gatunek grzyba	Wiek	Wartość pH	
			grzybni	owocnika
1	<i>Merulius lacrymans</i>	6 m	3,0	4,2
2	<i>Coniophora cerebella</i>	1 m	3,4	4,2—4,4
3	<i>Poria vaporaria</i>	2 m	3,2	4,8—5,0
4	<i>Lenzites sepiaria</i>	1,5 m	3,8	5,0
5	<i>Lenzites betulina</i>	2 m	3,6—3,8	4,2
6	<i>Lentinus lepideus</i>	2 m	3,6	5,0—5,2
7	<i>Schizophyllum commune</i>	3 m	3,6—3,8	5,0
8	<i>Poria medulla-panis</i>	3 m	3,4	4,0
9	<i>Daedalea quercina</i>	2 m	3,0—3,2	5,4

kształtowania się owocników podwyższała się. Jest to niewątpliwie związane z procesami biochemicznymi zachodzącymi w tym czasie w strzępkach grzybni. W końcowym okresie odczyn owocników był na ogół o 1—2 pH wyższy niż grzybni w tym samym naczyniu. Szczególnie duże różnice zaobserwowano u *Daedalea quercina*, gdzie owocnik wykazał pH 5,4, podczas gdy grzybnia pH 3,0—3,2.

Wartość pH grzybni na różnych pożywkach

Skład chemiczny grzybni hodowanej na różnych pożywkach niekiedy znacznie się różni. Kulturowanie grzybów na pożywkach o dużej zawartości soli mineralnych, związków azotowych lub węglowodanów prowadzi zwykle do zwiększenia ilości tych związków w grzybni (Foster 1949). Z drugiej strony, grzyby niezależnie od składu pożywki mogą z dużą łatwością i stałością syntezować niezliczoną ilość związków wchodzących w skład komórki. W różnych warunkach odżywiania tworzą się komórki zawierające zawsze te same podstawowe składniki. W związku z tym nasuwa się pytanie, w jakim stopniu rodzaj i skład pożywki wpływa na wartość pH grzybni. Dla wyjaśnienia tego zagadnienia zaszczerpiono 4 ga-

tunki grzybów: *Merulius lacrymans*, *Coniophora cerebella*, *Poria vaporaria* i *Paxillus acheruntius* na 4 rodzaje pożywek stosowanych w praktyce laboratoryjnej. Rodzaj i skład pożywek był następujący:

1) pożywka agarowo-brzeczkowa: agaru 7 g, brzeczki piwnej 150 g, wody destylowanej 350 g,

2) pożywka agarowo-sacharozowa: agaru 3 g, sacharozy 3 g, wody destylowanej 150 g,

3) pożywka trocinowo-brzeczkowa: trocin sosnowych 10 g, brzeczki piwnej 5 g,

4) pożywka syntetyczna Tubeufa: NH_4NO_3 1 g, KH_2PO_4 0,5 g, MgSO_4 0,1 g, kwasu mlekowego 0,2 g, wody destylowanej 100 g, bibuła filtracyjna.

Po 15 dniach wzrostu oznaczano wartość pH grzybni. Rezultaty doświadczenia zebrane w tab. 6 wskazują na duży wpływ rodzaju i składu pożywki na kwasowość substancji komórkowej grzybni. Na każdej z ba-

Tabela 6
Wartość pH grzybni na różnych pożywkach

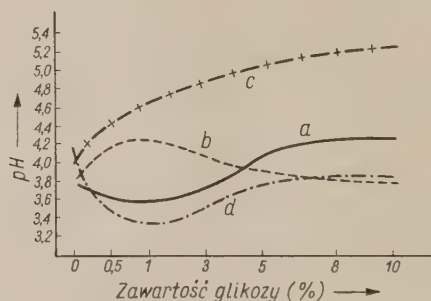
Lp.	Gatunek grzyba	Wartość pH grzybni na pożywce			
		agarowo-brzeczkowej	sacharozowej	trocinowej	syntetycznej
1	<i>Merulius lacrymans</i>	3,8	3,8—4,0	4,2	4,4—4,6
2	<i>Coniophora cerebella</i>	3,6	4,4	4,2	4,0
3	<i>Poria vaporaria</i>	3,8	3,4	3,8—4,0	4,0
4	<i>Paxillus acheruntius</i>	4,2	3,4	3,6	4,6

danych pożywek grzybnia miała inny odczyn pH. Różnice pomiędzy wartościami pH wynosiły niekiedy ponad 1 pH. Największe pH stwierdzono u wszystkich gatunków grzybów na pożywce syntetycznej. Grzybnia *Merulius lacrymans* i *Coniophora cerebella* miała najmniejsze pH na pożywce agarowo-brzeczkowej, a *Poria vaporaria* i *Paxillus acheruntius* na agarowo-sacharozowej.

Wartość pH grzybni w zależności od zawartości cukru w pożywce

Dla zbadania wpływu koncentracji cukru w pożywce na wartość pH grzybni przeprowadzono następujące doświadczenie. Przygotowano pożywki agarowe o serii stężeń glikozy od 0,5 do 10% oraz, dla celów porównawczych, pożywkę bez cukru. Pożywki zaszczepiono grzybnią *Merulius lacrymans*, *Coniophora cerebella*, *Poria vaporaria* i *Paxillus acheruntius*.

runtius, a po 15 dniach oznaczono pH substancji komórkowej grzybni (tab. 7). Zależnie od gatunku grzyba wartość pH kształtowała się rozmaicie. U *Merulius lacrymans* i *Paxillus acheruntius* stwierdzono w granicach koncentracji cukru 0—1,0% obniżanie kwasowości, a powyżej



Rys. 2. Wartość pH grzybni w zależności od zawartości glikozy w pożywce. a — *Merulius lacrymans*; b — *Coniophora cerebella*; c — *Poria vaporaria*; d — *Paxillus acheruntius*

1,0% do ok. 5% przy pierwszym grzybie i ok. 8% przy drugim jej wzrost. Grzybnia *Merulius lacrymans* powyżej 5% zawartości cukru utrzymywała pH na jednym poziomie. Inaczej zmieniała się kwasowość grzybni *Poria vaporaria*. W miarę wzrostu zawartości cukru stwierdzono tu słaby wzrost pH do stężenia 8%, powyżej którego odczyn nie ulegał zmianie. Natomiast

Tabela 7
Wartość pH grzybni w zależności od zawartości cukru w pożywce

Lp.	Zawartość glikozy w %	Wartość pH grzybni			
		<i>Merulius lacrymans</i>	<i>Coniophora cerebella</i>	<i>Poria vaporaria</i>	<i>Paxillus acheruntius</i>
1	0	3,8	3,8	4,0	4,2
2	0,5	3,6	4,2	4,4	3,4
3	1,0	3,6	4,2	4,6	3,4
4	3,0	4,0	4,0	4,8	3,6
5	5,0	4,2	4,0	5,0	3,6
6	8,0	4,2	3,8	5,2	3,8
7	10,0	4,2	3,8	5,2	3,8

wartość pH grzybni *Coniophora cerebella* po początkowym wzroście w granicach koncentracji cukru 0 — 1,0% rozpoczęła stopniowe zmniejszanie się. Na podstawie przeprowadzonych obserwacji można więc stwierdzić, że wartość pH grzybni różnych gatunków grzybów kształtuje się w zależności od zawartości cukru w pożywce bardzo indywidualnie.

Wartość pH grzybni w zależności od pH pożywki

Obserwacje w zakresie wpływu pH pożywki na pH substancji komórkowej grzybni poczyniono na kulturach grzybów *Merulius lacrymans*, *Coniophora cerebella*, *Poria vaporaria* i *Paxillus acheruntius*. Grzybnie tych gatunków zaszczerpiono na pożywcę agarowo-brzeczkowej o następujących kwasowościach: pH 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10. Odczyn pożywek regulowano przy pomocy kwasu mlekowego i NaOH. Po 15 dniach wzrostu oznaczano pH grzybni powietrznej, nie mającej bezpośredniego kontaktu

Tabela 8

Wartość pH grzybni w zależności od pH pożywki

Lp.	pH pożywki	Wartość pH grzybni			
		<i>Merulius lacrymans</i>	<i>Coniophora cerebella</i>	<i>Poria vaporaria</i>	<i>Paxillus acheruntius</i>
1	2	—	—	—	—
2	3	3,4	3,6	3,6	3,6
3	4	3,6	3,6	3,6	3,6
4	5	3,8	3,8	3,8	3,8
5	6	4,0	3,8	4,0	4,0
6	7	4,0	4,0	4,2	4,0
7	8	4,0	4,0	4,2	4,0
8	9	—	4,0	—	—
9	10	—	—	—	—

z podłożem. Wyniki wykazały (tab. 8), że w miarę wzrostu pH pożywki zwiększa się również pH substancji komórkowej. Wzrost ten zachodził jednak niewspółmiernie wolniej i osiągnął maksymalny poziom pH 4 — 4,2 przy pH pożywki 6 lub 7. Dalszy wzrost pH pożywki nie zmieniał pH grzybni, ale powyżej pH 8 lub 9 umożliwiał jej wzrost.

Wartość pH grzybni na różnych gatunkach drewna

Szereg grzybów niszczących drewno może rozwijać się na różnych jego gatunkach, często zarówno liściastych jak i iglastych. Aczkolwiek zasadniczy skład chemiczny drewna jest zbliżony u wszystkich gatunków, występują pewne różnice mogące mieć wpływ na rozwój grzybów. Niektóre gatunki drewna zawierają substancje toksyczne utrudniające rozwój grzybów. Na przykład duża odporność drewna dębowego (twardziel) spowodowana jest zawartością taniny i garbników. O odporności sosny decydują substancje fenolowe, jak pinosilwin i eter pinosilwinowy, o odporności tui kwas dehydroperilliczny (Cartwright i Findlay

1951). Również kwasowość różnych gatunków drewna nie jest jednakowa. Według Scheilego i Trendelenburga (Krzysik 1953) drewno bielaste jodły posiada odczyn pH 5,48, daglezji 5,83, modrzewia 5,42. Wszystkie te czynniki mogą wywierać wpływ na kwasowość grzybni rozwijającej się w różnych gatunkach drewna.

Dla stwierdzenia wielkości pH grzybni w różnych gatunkach drewna przeprowadzono następujące doświadczenia. Próbkki czterech gatunków drewna, tj. sosny, świerka, buka i dębu poddano działaniu grzybów *Merulius lacrymans*, *Coniophora cerebella*, *Poria vaporaria* i *Paxillus acheruntius* w oddzielnych kolbach Erlenmayera. Po trzech tygodniach próbki

Tabela 9
Wartość pH grzybni na różnych gatunkach drewna

Lp.	Gatunek drewna	Wartość pH grzybni			
		<i>Merulius lacrymans</i>	<i>Coniophora cerebella</i>	<i>Poria vaporaria</i>	<i>Paxillus acheruntius</i>
1	sosna	4,0	4,8	3,4	4,0
2	świerk	4,2—4,0	4,4	3,6	4,2
3	buk	3,8	3,6	3,4	3,6
4	dąb	3,4	3,4	3,2	3,2

wyjęto, oczyszczono z grzybni i umieszczono w wilgotnych kamerach. Na powierzchni próbek rozwinęła się bujnie grzybnia powierzchniowa, której wartość pH oznaczono po 15 dniach. Uzyskane wyniki zebrano w tabeli 9.

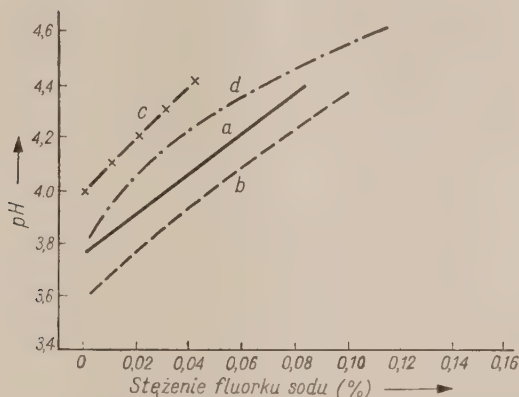
Stwierdzono, że pH substancji komórkowej grzybni była różna przy wzroście na różnych gatunkach drewna. Grzyb *Coniophora cerebella* osiągnął największą wartość pH na drewnie sosny, pozostałe gatunki na świerku. Najmniejszą wartość wszystkie grzyby osiągnęły na drewnie dębowym.

Wartość pH grzybni w obecności fungicydu

W warunkach praktyki mają miejsce przypadki rozwoju grzybów na drewnie nasyconym słabymi roztworami środków grzybobójczych. Również w pracy laboratoryjnej, przy badaniach toksyczności, wzrost grzybni na drewnie lub innym podłożu o pewnej zawartości fungicydu jest zjawiskiem powszechnym. Mechanizm działania fungicydów jest dotychczas słabo opracowany. Przypuszczać należy, że działanie toksyczne jonów różnych pierwiastków będzie ściśle związane z koncentracją jonów wodnorodowych w substancji komórkowej.

W niniejszej pracy przeprowadzono doświadczenie mające na celu zbadanie wartości pH grzybni rozwijającej się przy różnej koncentracji

fungicydu w pożywce. W tym celu przygotowano w pożywce agarowo-brzeczkowej serię stężeń klasycznego już środka grzybobójczego — fluorku sodu (NaF). Seria obejmowała następujące stężenia: 0,02 — 0,04 — 0,06 — 0,08 — 0,10 — 0,12 — 0,14 oraz stężenie kontrolne 0. Pożywkę szczepiono grzybnią *Merulius lacrymans*, *Coniophora cerebella*, *Poria vaporaria*, *Paxillus*



Rys. 3. Wartość pH grzybni w zależności od zawartości fluorku sodu w pożywce, a — *Merulius lacrymans*; b — *Coniophora cerebella*; c — *Poria vaporaria*; d — *Paxillus acheruntius*

raria i *Paxillus acheruntius*. Po 15 dniach wzrostu oznaczano wartość pH. Wyniki zebrane w tab. 10 wskazują na wpływ fluorku sodu na wartość pH grzybni. W miarę wzrostu koncentracji fungicydu wzrasta pH grzybni wszystkich badanych grzybów, osiągając maksimum przy stężeniu poprzedzającym stężenie toksyczne, tj. uniemożliwiającym wzrost. Należy

Tabela 10

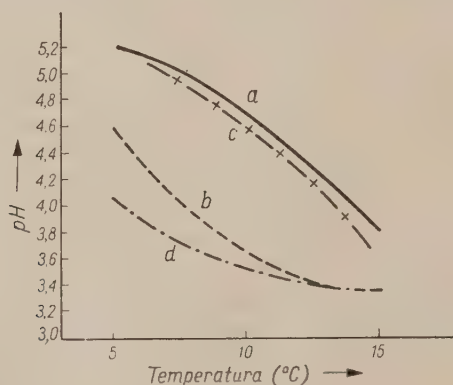
Wartość pH grzybni w zależności od stężenia fungicydu (fluorku sodu)

Lp.	Stężenie fluorku sodu	Wartość pH grzybni			
		<i>Merulius lacrymans</i>	<i>Coniophora cerebella</i>	<i>Poria vaporaria</i>	<i>Paxillus acheruntius</i>
1	0	3,8	3,6	4,0	3,8
2	0,02	3,8	3,8	4,2	4,0
3	0,04	4,0	3,8	4,4	4,2
4	0,06	4,2	4,0	—	4,4
5	0,08	4,4	4,2	—	4,4
6	0,10	—	4,4	—	4,6
7	0,12	—	—	—	4,6
8	0,14	—	—	—	—

podkreślić, że dla większości grzybów maksymalne pH substancji komórkowej wyniosło 4,4 lub 4,6, przy czym wartość tę osiągnęły poszczególne grzyby przy różnej koncentracji fluorku sodu.

Wartość pH grzybni w różnych temperaturach

Temperatura wywiera wpływ na wszystkie zjawiska życiowe grzybów, a więc i na przebieg przemiany materii. Szybkość i jakość procesów biochemicznych zachodzących w komórkach grzybni uzależnione są w głównej mierze od działania enzymów, a te z kolei wykazują dużą wrażliwość na temperaturę. W literaturze można znaleźć dane wskazujące, że przy



Rys. 4. Wartość pH grzybni w zależności od temperatury.
a — *Merulius lacrymans*; b — *Coniophora cerebella*; c —
Poria vaporaria; d — *Paxillus acheruntius*

podwyższeniu temperatury o 10°C szybkość wielu biochemicznych reakcji zwiększa się dwukrotnie, naturalnie w ściśle ograniczonych przedziałach temperatury (Foster 1949). Temperatura będzie zatem wpływać również i na wydzielanie różnych produktów przemiany materii, a tym samym na skład chemiczny i prawdopodobnie wartość pH komórek.

Tabela 11
Wartość pH grzybni w zależności od temperatury

Lp.	Gatunek grzyba	Wartość pH grzybni w temperaturze		
		5°C	20°C	30°C
1	<i>Merulius lacrymans</i>	5,0—5,2	4,8	3,8
2	<i>Coniophora cerebella</i>	4,6	3,6	3,4
3	<i>Poria vaporaria</i>	5,2	4,6	3,6—3,8
4	<i>Paxillus acheruntius</i>	3,8—4,0	3,6	3,4

Dla wyjaśnienia tego ostatniego zagadnienia poddano oznaczeniu wartości pH grzybnie *Merulius lacrymans*, *Coniophora cerebella*, *Poria vaporaria* i *Paxillus acheruntius* hodowaną w różnych temperaturach. W tym celu grzybnie zaszczerpiono na pożywcę agarowo-brzeczkowej. Po 3 dniach wzrostu w temperaturze 20°C naczynia podzielono na 3 części, jedną pozostawiając w tych samych warunkach, drugą przenosząc do temperatury 5°C, trzecią do 30°C. Po 15 dniach wzrostu oznaczano wartość pH grzybni. Wyniki zebrane w tab. 11 wykazują, że temperatura wzrostu wywiera wpływ na wartość pH grzybni. W miarę wzrostu temperatury wartość pH grzybni obniżała się u wszystkich badanych gatunków.

WYNIKI I WNIOSKI

Przeprowadzono metodą kolorymetryczną oznaczenia koncentracji jonów wodorowych (pH) grzybni 20 grzybów niszczących drewno. Stwierdzono, że różne gatunki grzybów przy wzroście w tych samych warunkach wykazują różne wartości pH grzybni. Wartości te nie były stałe, ale zmieniały się w pewnych granicach, w zależności od szczepu grzyba, okresu i temperatury wzrostu, gatunku drewna, rodzaju pożywki, zawartości cukru, pH pożywki oraz stężenia fungicydu. W miarę wpływu czasu wzrostu wartość pH grzybni i pożywki obniżała się, przy czym pH grzybni było na ogół zawsze wyższe od pH pożywki. Procesowi wykształcania się owocników towarzyszył wzrost pH. Wartość pH owocników we wszystkich przypadkach była dużo wyższa niż pH grzybni. Wartość pH grzybni zmniejszała się ze wzrostem temperatury, a zwiększała w miarę wzrostu zawartości glikozy w pożywcę oraz pH pożywki. Stwierdzono również wzrost wartości pH grzybni w miarę podwyższania koncentracji fluorku sodu w pożywcę.

Zakład Patologii i Konserwacji Drewna
Szkół Główniej Gospodarstwa Wiejskiego

(Wpłynęło dn. 25.10.1959 r.)

SUMMARY

The determinations of pH values, using colorimetric method, were carried out on 20 species of wood-destroying fungi. It was stated that different species of fungi when cultivated in the same conditions show different pH values of their mycelia. These values were not constant and varied to some extent depending on the strain of the fungus, time and temperature of the growing period, kind of nutrient solution, sugar content, pH of the medium and on the concentration of fungicides. With increasing age of the culture the pH values of the medium and mycelium decrease, however, pH of mycelium is usually higher than that of the

medium. The process of the fruiting bodies formation was accompanied by rise of the pH value. In all instances pH value of the fruiting bodies was much higher than that of the mycelium. The pH of the mycelium decreases with increasing temperature and increases with the increasing glucose concentration in the medium and with its increasing pH value. An increase of pH value of the mycelium was also stated when the concentration of sodium fluoride in the medium increased.

LITERATURA

- Birkinshaw J. H., Findlay W. P. K., Webb R. A., 1940, *Biochem. J.* 34: 906—916.
- Bünning E., 1936, *Flora* 131: 81—112.
- Cartwright K. St. G., Findlay W. P. K., 1951, *Rozkład i konserwacja drewna*, Warszawa, PWRL.
- Foster J. W., 1949, *Chemical activities of fungi*, New York. Tłum. ros., Moskwa 1950.
- Homolka J., 1956, *Chemická diagnostika*, Praha, tłum. pol., Warszawa 1958.
- Krzysik Fr., 1957, *Nauka o drewnie*, PWRL, Warszawa.
- Lilly V., Barnett H., 1951, *Physiology of the fungi*, tłum. ros., Moskwa 1953.
- Mahdihassan S., 1930, *Biochem. Z.* 226: 203—208.
- Makarow P. W., 1953, *Osnovy cytologii*, Moskwa.

WARUNKI PRENUMERATY CZASOPISMA

ACTA SOCIETATIS BOTANICORUM POLONIAE — KWARTALNIK

Cena w prenumeracie zł 140.— rocznie, zł 70.— półrocznie

Zamówienia i wpłaty przyjmują:

1. Centrala Kolportażu Prasy i Wydawnictw „Ruch“, Warszawa, ul. Srebrna 12, konto PKO Nr 1-6-100-020.
2. Urzędy pocztowe.

Prenumerata ze zleceniem wysyłki za granicę — 40% drożej. Zamówienia dla zagranicy przyjmuje Przedsiębiorstwo Kolportażu Wydawnictw Zagranicznych „Ruch“, Warszawa, ul. Wilcza 46, konto PKO Nr 1-6-100-024.

Bieżące numery do nabycia w niżej podanych placówkach „Ruchu“, w księgarniach naukowych „Dom Książki“ oraz w Ośrodku Rozpowszechniania Wydawnictw Naukowych PAN — Ossolineum — PWN, Warszawa, Pałac Kultury i Nauki (wysoki parter)

PLACÓWKI „RUCHU“

Białystok, Lipowa 1	Olsztyn, Plac Wolności (kiosk)
Bielsko-Biała — sklep „Ruchu“ nr 1, Lenina 7	Opole, Rynek — sklep nr 76
Bydgoszcz, Armii Czerwonej 2	Ostrów Wlkp., Partyzancka 1
Bytom — sklep „Ruchu“ nr 39, Plac Kościuszki	Płock, Tumska, kiosk nr 270
Chorzów, Wolności 54	Poznań, Dzierżyńskiego 1
Ciechocinek, kiosk nr 4 „Pod Grzybkiem“	Poznań, Głogowska 66
Częstochowa, II Aleja 26	Poznań, 27 Grudnia 4
Gdańsk, Długa 44/45	Przemyśl, Plac Konstytucji 9
Gdynia, Świętojańska 27	Rzeszów, Kościuszki 5
Gliwice, Zwycięstwa 47	Sopot, Monte Cassino 32
Gniezno, Mieczysława 31	Sosnowiec, Czerwonego Zagłębia, kiosk nr 10 (obok dworca kol.)
Grudziądz, Mickiewicza, sklep nr 5	Szczecin, Aleja Piastów, róg Jagiellońskiej
Inowrocław, Marchlewskiego 3	Toruń, Rynek Staromiejski 9
Jelenia Góra, 1 Maja 1	Warszawa, Nowopiękna 3
Kalisz, Śródmiejska 3	Warszawa, Nowy Świat 72, Pałac Staszica
Katowice Zach., 3 Maja 28	Warszawa, Wiejska 14
Kielce, Sienkiewicza 22	Wałbrzych, Wysockiego, obok Placu Grunwaldzkiego
Koszalin, Zwycięstwa 38	Wrocław, Plac Wolności 3, róg 3 Maja
Kraków, Rynek Główny 32	Wrocław, Plac Wolności, kiosk nr 9
Krynica, Stary Dom Zdrojowy	Zabrze, Plac 24 Stycznia, pkt. nr 50
Lublin, Krakowskie Przedmieście (obok hotelu „Europa“)	Zakopane, Krupówki 51
Łódź, Piotrkowska 200	Zielona Góra, Świerczewskiego 38
Nowy Sącz, Jagiellońska 10	

KSIĘGARNIE NAUKOWE „DOM KSIĄŻKI“

Warszawa, ul. Krak. Przedm 7
 Kraków, ul. Podwale 6
 Łódź, ul. Piotrkowska 102a
 Poznań, ul. Armii Czerwonej 69
 Łódź, ul. Piotrkowska 102a
 Wrocław, Rynek 60

PLACÓWKI „RUCHU“

Ośrodek Rozpowszechniania Wydawnictw Naukowych PAN
 Wzorcownia Wydawnictw Naukowych
 PAN — Ossolineum — PWN
 Warszawa, Pałac Kultury i Nauki (wysoki parter)