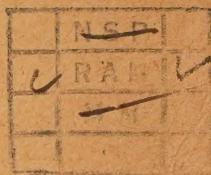


ACTA SOCIETATIS BOTANICORUM POLONIAE

Organ Polskiego Towarzystwa Botanicznego
Publication de la Société Botanique de Pologne



WARSZAWA 1959



TREŚĆ — SOMMAIRE

VOL. XXVIII, NR 1

B. Gomółka: Kwasy jabłkowy i winowy jako substraty w fotosyntezie roślin zielonych. — Malic and tartaric acids as substrates in the photosynthesis of green plants	3
K. Ermich: Badania nad sezonowym przebiegiem przyrostu grubości pnia u <i>Pinus silvestris</i> L. i <i>Quercus robur</i> L. — The investigations of the seasonal course of the diameter growth of <i>Pinus silvestris</i> L. and <i>Quercus robur</i> L.	15
T. Ryłska: Rola skracania się lub wydłużania dnia przy indukcji fotoperiodycznej rośliny krótkiego dnia <i>Perilla ocimoides</i> L. — The influence of the shortening or lengthening of the day on the photoperiodic induction of the short-day plant <i>Perilla ocimoides</i> L.	65
S. Krupko: Występowanie oksyflawonów i flawonów w generatywnej komórce irysa. — On the occurrence of oxyflavones (flavones?) in generative cells of the Iris	75
W. Maciejewska-Potapczyk i R. Nowacki: Wpływ kinetyny na syntezę alkaloidów u <i>Lupinus luteus</i> L. — The influence of kinetin on the synthesis of alkaloids in <i>Lupinus luteus</i> L.	83
W. Maciejewska-Potapczyk i H. Łukasiak: Wpływ kinetyny na zawartość węglowodanów w epikotylach grochu — The influence of kinetin on the carbohydrates content in peas epicotyls	95
K. Wilczyńska: Nowa uproszczona metoda biotestu wygięciowego „Avena Curvature Test”. F. W. Wenta: „Coleoptile — Hypocotile Test”. — The new easy method F. W. Went's "Avena Curvature Test": "Coleoptile — Hypocotile Test"	111
D. Czapska: Badania cytologiczno-morfologiczne nad <i>Plantago media</i> L. i innymi gatunkami rodzaju <i>Plantago</i> — Cytological and morphological studies in <i>Plantago media</i> L. and other species of the genus <i>Plantago</i>	129
E. Mikulska: Chloroplasty w skórce liści roślin dwuliściennych — Sur l'existence des chloroplastes dans l'épiderme des feuilles des Dicotylédones	143
M. J. Olszewska: Etude autoradiographique de l'influence de la kinétine sur la synthèse des acides nucléiques et des protéines dans le méristème racinaire d' <i>Allium cepa</i>	175
M. Moycho, M. Gubański, A. Rennert: Wyciąg z porostu <i>Cetraria islandica</i> inhibitorem wirusa mozaiki tytoniowej — An extract from the lichen <i>Cetraria islandica</i> as an inhibitor of TMV	183

ACTA SOCIETATIS BOTANICORUM POLONIAE

Organ Polskiego Towarzystwa Botanicznego
Publication de la Société Botanique de Pologne

Vol XXVIII Nr 1



WARSZAWA 1959

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

Warszawa, Miodowa 10

Nakład 860 + 140	Oddano do składu 10.XII.58
Ark. wyd. 14,25, druk. 12,125+wkł.	Podpisano do druku 21.IV.59
Papier ilustr. III kl. 80 g 70 × 100/16	Druk ukończ. w kwietniu 1959
Cena zł 35,—	Zam. 427 W-7

Warszawska Drukarnia Naukowa, Warszawa, Śniadeckich 8

Kwasy jabłkowy i winowy jako substraty w fotosyntezie roślin zielonych

Malic and tartaric acids as substrates in the photosynthesis of green plants

B. GOMÓŁKA

Współczesne badania nad chemizmem fotosyntezy, wykonane przez Calvina i współpracowników (Bassham J. A., Benson A. A., Calvin M. 1950, Calvin M., Benson A. A. 1948, Calvin M., Bassham J. A., Benson A. A., Lynch V. A., Quillet C., Schou L., Stepka D., Tolbert N. E. 1951), przy zastosowaniu radioczynnego węgla, wykryły obecność kwasu jabłkowego wśród związków wyekstrahowanych z asymilujących roślin i zawierających węgiel izotopowy. Wynik ten nasunął przypuszczenie, że kwas ten jest jednym z metabolitów w procesie fotosyntezy. Gdyby tak istotnie było, to należałoby oczekiwać, że kwas jabłkowy będzie łatwo przyswajalny przez rośliny na świetle, jeżeli się go wprowadzi do otoczenia zamiast dwutlenku węgla. Podjęte badania miały na celu rozstrzygnięcie, czy to przypuszczenie jest uzasadnione, to znaczy zbadanie, w jakiej mierze kwas jabłkowy jest przyswajany przez rośliny w nieobecności dwutlenku węgla. Do badań włączono również zbliżony strukturalnie kwas winowy.

Badania przeprowadzono nad mchem wodnym *Fontinalis antipyretica* L., który ze stanowiska naturalnego był dostępny przez większą część roku. Kolbki z gałązkami mchu, szczelnie zamknięte i kompletnie wypełnione wodnym roztworem kwasów lub CO₂, umieszczano w termostacie wodnym oświetlonym od dołu żarówkami. Do oświetlania używano żarówek „Polam“ 220 V 100 W dających różne natężenia światła w zależności od ich ilości. Pomiarów natężenia światła dokonano przy pomocy fotoelementu Langego typu S 60. Dało to następujące wyniki:

1 × 100 W = 1500 luxów

2 × 100 W = 2000 luxów

4 × 100 W = 4000 luxów

Światło było rozpraszane przez matówkę umieszczoną na drodze światła. Kolbki były naświetlane światłem białym przez 90 minut. Liście *Fontinalis* są zbudowane z komórek ułożonych w jednej warstwie, wskutek czego natężenie światła docierającego do wszystkich komórek jest mniej więcej jednakowe. Doświadczenie przebiegało w temperaturze 20°C. Intensywność fotosyntezy badano metodą pomiarów wydzielonego tlenu. Tlen oznaczono metodą Winklera według Treadwella (1945). Brak przestworów międzykomórkowych u *Fontinalis* sprawiał, że cały tlen asymilacyjny rozpuszczał się w wodzie nie tworząc baniek gazowych. Zjawisko wytwarzania baniek jest niekorzystne przy badaniu natężenia fotosyntezy, gdyż tlen wydzielany tą drogą nie rozpuszcza się w wodzie. Ważąc masę mchu można wyznaczyć ilość O_2 wydzielanego na jednostkę czasu (90 min) na 100 mg świeżej masy.

Substraty: badania przeprowadzono z kwasem l-jabłkowym pochodzącym z firmy C. A. F. Kahlbaum i z kwasem d-winowym produkcji krajowej oraz — w celu porównania wyników — użyto próbek z dwutlenkiem węgla. Stosowano cztery dawki kwasów organicznych i dwutlenku węgla zestawione w poniższej tabelce. Ilości tych substancji dano równoważne w proporcjach atomów C, tzn. na jeden mol kwasu jabłkowego przypadał jeden mol kwasu winowego lub cztery mole CO_2 . Ilościowo podawano następujące dawki w mg na 50 ml:

dawka	kwas jabłkowy mg	kwas winowy mg	CO_2 mg
1	67	7	8
2	134	150	176
3	201	225	264
4	268	300	352

Jako rozpuszczalnika używano wody destylowanej, pozbawionej CO_2 przez przedestylowanie raz jeszcze z dodatkiem NaOH dla pochłonięcia dwutlenku węgla. Podczas destylacji odbieralnik był zabezpieczony przed wnikaniem CO_2 atmosferycznego rurką z wapnem sodowanym. Do badań używano erlenmajerek o pojemności 50 ml. Roztwory robiono bezpośrednio w kolbkach służących do badania fotosyntezy. Ponieważ według Steemann—Nielsena (1947) *Fontinalis* jest niezdolny do korzystania z dwuwęglanów jako źródła CO_2 , w seriach kontrolnych stosowano roztwory dwutlenku węgla, otrzymane przez rozłożenie dwuwęglanu sodu starannie obliczoną ilością kwasu solnego. Do roztworów kwasów dodawano chlorku sodu w ilościach równoważnych tym, jakie powstają podczas rozkładu $NaHCO_3$ przez HCl. W ten sposób starano się stworzyć możliwie zbliżone warunki asymilacyjne we wszystkich seriach. Przeprowa-

dzono cykl dwunastu doświadczeń różniących się między sobą wysokością dawki i natężeniem światła. W jednych seriach badań stałe było stężenie substratu, a zmienne natężenie światła, w innych zaś odwrotnie. Tabele 1 i 2 oraz wykresy na ryc. 1—2 streszczają wyniki badań. W tabelach każda pozycja jest średnią czterech powtórzeń. Wyniki tych badań nie pozostawiają wątpliwości, że kwas 1-jabłkowy i kwas d-winowy mogą w opisanych powyżej warunkach spełniać rolę substratów wyjściowych w procesie fotosyntezy zachodzącym u *Fontinalis antipyretica*. Świadczy o tym z jednej strony sam fakt wydzielania tlenu, a z drugiej zależność natężenia tego procesu od natężenia światła lub stężenia substratów. Gdyby

Tabela 1

Zależność fotosyntezy od natężenia światła dla różnych dawek CO₂ i kwasów organicznych

Natężenie światła w luxach	CO ₂	Kwas 1-jabłkowy	Kwas d-winowy
----------------------------	-----------------	-----------------	---------------

D a w k a 1

1500	0,167	0,208	0,232
2000	0,182	0,240	0,257
4000	0,212	0,324	0,332

D a w k a 2

1500	0,199	0,282	0,249
2000	0,216	0,299	0,282
4000	0,240	0,398	0,365

D a w k a 3

1500	0,216	0,289	0,274
2000	0,232	0,315	0,294
4000	0,316	0,440	0,398

D a w k a 4

1500	0,216	0,289	0,274
2000	0,224	0,327	0,315
4000	0,340	0,523	0,490

Dane dla *Fontinalis antipyretica* L. naświetlanego przez 90 minut światłem o różnym natężeniu. Natężenie fotosyntezy mierzono w mg wydzielonego O₂ na 100 mg świeżej masy. Dane liczbowe dawek substratów podane są w tekście.

stwierdzone wydzielanie się tlenu nie było wynikiem procesu asymilacyjnego i fotochemicznego, zależność natężenia wydzielania tlenu od natężenia światła i stężenia substratów nie byłaby zrozumiała. Stwierdzono doświadczalnie, że reakcje te mają charakter fotochemiczny, gdyż wzrost wydajności fotosyntezy jest słaby przy ilościowym wzroście dawek, natomiast silnie wzrasta przy wzroście natężenia światła. Przy małych natężeniach światła 1500 i 2000 luxów wzrost intensywności fotosyntezy jest

Tabela 2

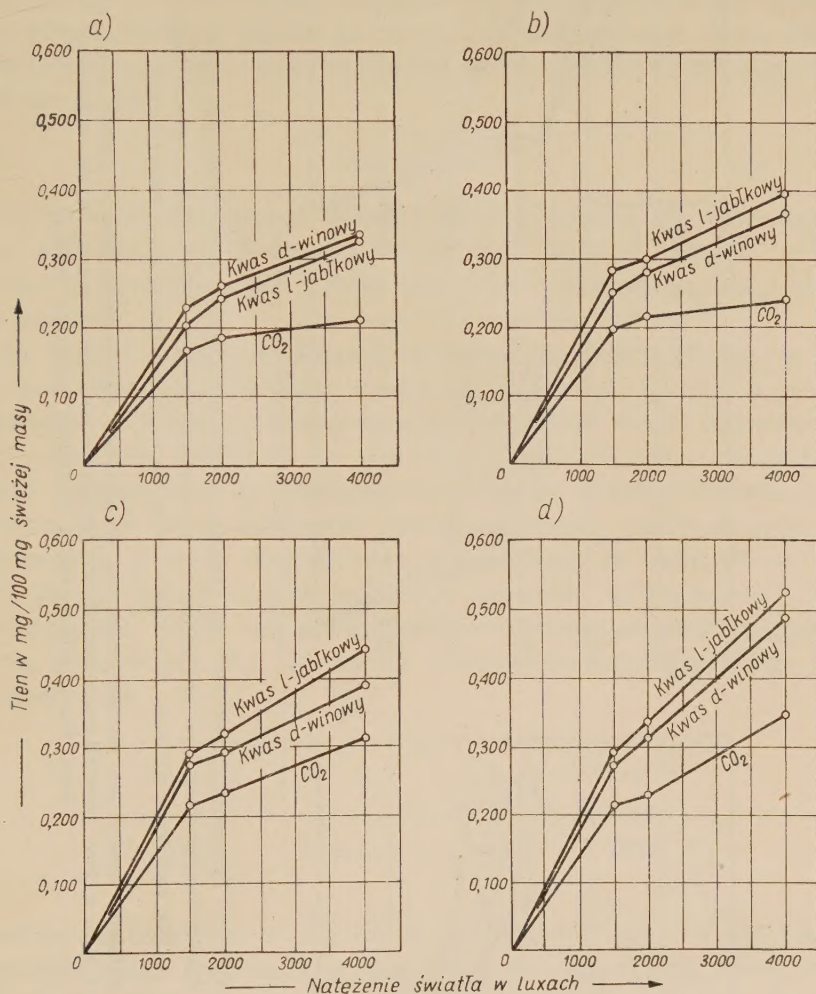
Zależność fotosyntezy od stężenia substratu: CO₂ i kwasów organicznych

D a w k a	CO ₂	Kwas l-jabłkowy	Kwas d-winowy
1500 luxów			
1	0,167	0,208	0,232
2	0,199	0,282	0,249
3	0,216	0,289	0,274
4	0,216	0,289	0,274
2000 luxów			
1	0,182	0,240	0,257
2	0,216	0,299	0,282
3	0,232	0,315	0,294
4	0,224	0,327	0,315
4000 luxów			
1	0,208	0,324	0,332
2	0,240	0,398	0,365
3	0,316	0,440	0,398
4	0,340	0,523	0,490

Dane dla *Fontinalis antipyretica* L. naświetlanego przez 90 minut światłem o różnym natężeniu. Natężenie fotosyntezy mierzono w mg wydzielonego O₂ na 100 mg świeżej masy. Dane liczbowe dawek substratów podane są w tekście.

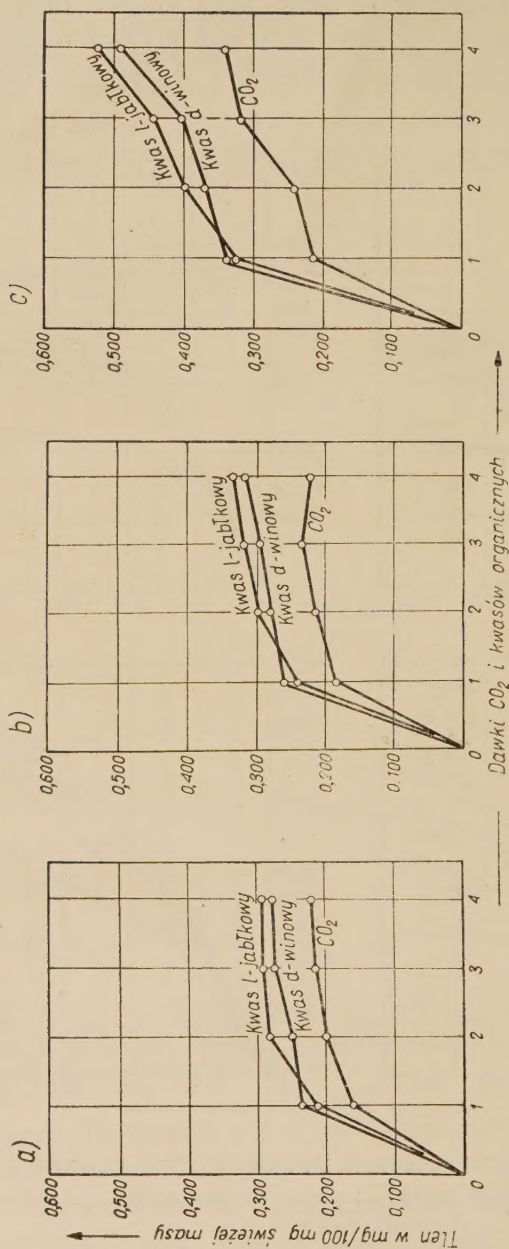
zahamowany dla dawek 3 i 4, natomiast silnie wzrasta dla natężenia światła 4000 luxów dla obu tych dawek substratów. Dowodem, że w niniejszych doświadczeniach zachodzi proces fotosyntezy, może być także wydajność tych reakcji pod względem ilości wydzielanego tlenu, którą porównano z wydajnością dla fotosyntezy u *Cabomba caroliniana* według badań Smitha (1937). Wydajności te są tego samego rzędu wielkości. Charakter uzyskanych doświadczalnie krzywych wskazuje na to, że re-

akcje, które one przedstawiają są reakcjami enzymatycznymi, co również może być pośrednim dowodem, że zachodzi tutaj fotosynteza. Układy enzymatyczne są prawdopodobnie te same, gdyż krzywe fotosyntezy dla CO_2 i kwasu l-jabłkowego są podobne. Również krzywa fotosyntezy dla kwasu d-winowego jest podobna do krzywej dla kwasu l-jabłkowego.



Ryc. 1. Zależność fotosyntezy od natężenia światła. Krzywe fotosyntezy dla *Fon-tinalis antipyretica* L.: a — dla dawki 1; b — dla dawki 2; c — dla dawki 3; d — dla dawki 4

Stężenie substratu — CO_2 i kwasy organiczne — jest stałe, zaś natężenie światła przedstawia wartość zmienną 1500, 2000, 4000 luxów. Czas naświetlania wynosi 90 min. Natężenie fotosyntezy mierzono w mg wydzielonego O_2 na 100 mg świeżej masy. Dane liczbowe dawek substratów podano w tekście



Ryc. 2. Zależność fotosyntezy od stężenia substratu. Krzywa fotosyntezy dla *Fontinalis antipyretica* L. w zależności od stężenia substratów: CO₂ i kwasy organiczne dla natężenia światła: a — 1500 luxów; b — 2000 luxów; c — 4000 luxów

Natężenie światła jest wartością stałą, zaś zmienne jest stężenie substratów w postaci dawek 1, 2, 3, 4. Czas nasświetlania wynosi 90 min. Natężenie mierzono w mg O₂ na 100 mg świeżej masy. Dane liczbowe dawek substratów podano w tekście

Fakt ten sugeruje, że mechanizm tych reakcji może być również podobny. Przemawiają za tym także podobieństwa budowy chemicznej kwasu l-jabłkowego i d-winowego. Użyte do badań kwasy organiczne mają podobną strukturę chemiczną, co umożliwia działanie w podobny sposób tych samych układów enzymatycznych. Nieco słabsze wydajności fotosyntezy dla CO_2 , uzyskanego z rozkładu NaHCO_3 przy pomocy HCl , powodują pewne straty w postaci gazowego dwutlenku węgla, który uchodzi do atmosfery, oraz tworzenie się jonów HCO_3 , z których *Fontinalis* korzystać nie może.

DYSKUSJA

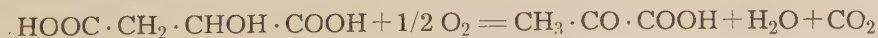
Otrzymane w niniejszych doświadczeniach wyniki nie pozwalają na głębsze wniknięcie w chemiczną stronę tego procesu. Można jedynie, w oparciu o dotychczasowe wyniki badań nad fotosyntezą, sformułować pewne hipotezy:

a. Za bardzo mało prawdopodobną można uważać hipotezę, w myśl której kwas organiczny ulegałby utlenieniu zupełnemu na CO_2 w procesie oddechowym, a powstały w ten sposób dwutlenek węgla ulegałby normalnej asymilacji. Hipoteza ta jest dlatego wysoce nieprawdopodobna, ponieważ zakłada ona, że natężenie oddychania przebiega z wysokością nie notowaną u roślin zielonych. Przeprowadzone doświadczenia nad intensywnością procesu oddechowego u *Fontinalis* w identycznych warunkach jak dla fotosyntezy wykazały, że natężenie oddychania jest około dziesięciokrotnie niższe niż stwierdzone w niniejszych doświadczeniach natężenie fotosyntezy. Np. dla kwasu d-winowego ilości pobranego tlenu były następujące:

Dawka 1	2	3	4
0,028	0,045	0,058	0,069

Ilości te są obliczone w mg na 50 ml pożywki dla 100 mg świeżej masy pobierającego tlen mchu w ciągu 90 min. Dane te zaprzeczają możliwości przyswajania kwasów organicznych na drodze procesu oddechowego.

b. Natomiast znacznie prawdopodobniejszy jest poniżej naszkicowany mechanizm przyswajania kwasu jabłkowego i winowego. Kwas jabłkowy ulega oksydatywnej β -dekarboksylacji, w wyniku której powstaje kwas pirogronowy i dwutlenek węgla:



Rozkład ten może się odbywać na dwa nieco odmienne sposoby. Pierwszy, to rozpad kwasu jabłkowego bez utleniania drogą β -dekarboksylacji do kwasu mlekowego i CO_2 , a następnie przy pomocy dehydrogenazy kwas mlekowy zostaje utleniony do kwasu pirogronowego.

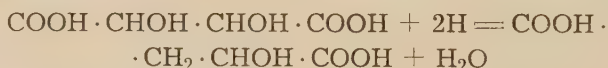


Drugi sposób polega na oksydatywnej β -dekarboksylacji kwasu jabłkowego, który od razu rozpada się na kwas pirogronowy i CO_2 .



Dalej proces fotosyntezy zachodziłby na dwu równoległych torach: pierwszy to normalne przyswajanie na świetle CO_2 pochodzącego z β -dekarboksylacji, drugi (boczny) to fotochemiczna redukcja kwasu pirogronowego na kwas glicerynowy, co do którego istnieje zgoda, że jest on (w formie estru z kwasem fosforowym) metabolitem normalnej fotosyntezy. Przemiana ta odbywałaby się drogą podobną do przemian zachodzących w cyklu oddechowym, lecz w kierunku odwrotnym. Powstający w wyniku przemian zachodzących oboma torami kwas fosfoglicerynowy staje się związkiem wyjściowym dla dalszych etapów fotosyntezy.

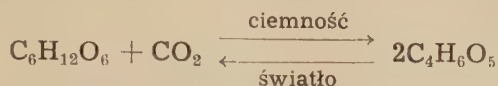
Podobnym przemianom ulegałby również kwas d-winowy, różniący się od kwasu l-jabłkowego tylko obecnością jeszcze jednego atomu tlenu, który znajduje się w grupie CH_2 przekształcając ją w grupę CHOH . Kwas d-winowy podlegałby najprzód redukcji na kwas jabłkowy, a ten następnie oksydatywnej dekarboksylacji na kwas pirogronowy. Przemiana kwasu winowego na kwas jabłkowy przebiegałaby w następujący sposób:



Powstały w ten sposób kwas jabłkowy dalej zamieniałby się w kwas pirogronowy, podobnie jak kwas pobrany z pożywki. Powyższa przemiana kwasu d-winowego na kwas l-jabłkowy jest biologicznie możliwa, gdyż reakcje tego typu zachodzą w cyklu *Krebsa*.

Bardzo poważny argument, przemawiający na korzyść omawianej hipotezy, stanowią wyniki badań nad metabolizmem kwasowym sukulentów. Stwierdzono uderzającą (ujemną) korelację między ilością cukrowców a ilością kwasu jabłkowego w liściach sukulentów. U tych roślin (np. *Bryophyllum*) w ciągu nocy zanikają cukrowce, a nagromadzają się w soku komórkowym znaczne ilości kwasów, przede wszystkim kwasu jabłkowego (Pucher G. W., Leavenworth C. S., Ginter W.,

Vickery A. B. 1947). Według Thomasa (1951, 1954) zachodzi tu proces odwracalny:



zaś dokładniejszy schemat tej reakcji byłby następujący:



Przemiana kwasu jabłkowego na kwas pirogronowy i CO_2 , przy β -dekarboksylacji, wskazuje na podobieństwo do procesów zachodzących u badanego *Fontinalis antipyretica*. Powyższy proces może prowadzić do fotosyntezy, która niewątpliwie zachodzi w wypadku sukulentów. Badany mech wodny zachowuje się zatem podobnie jak sukulent w zbliżonych do ich środowiska warunkach. Są to: brak CO_2 , obecność kwasu jabłkowego i odpowiednia ilość energii promienistej. To podobieństwo pozwala na pewne przypuszczenia dotyczące biochemicznych przemian zachodzących podczas fotosyntezy u badanego mchu.

Ostatnio prace A. Moyse (1954) nad fotosyntezą u *Bryophyllum daigremontianum* również wykazały, że kwas jabłkowy może zastąpić dwutlenek węgla. Badania jego wykazały, że u *Bryophyllum* mogą zachodzić równocześnie różne procesy, np.: oksydacja komórkowa typu oddechowego, akumulacja kwasów organicznych drogą reakcji Ochoa, oksydacja akumulowanych kwasów dwukarboksylowych oraz fotosynteza. Badając współzależność tych procesów stwierdził on, że przy braku CO_2 z zewnątrz, dwutlenek węgla może być dostarczony drogą rozkładu kwasu jabłkowego. Dawniejsze badania J. C. Bose (1924) nad *Hydrilla verticillata* również wykazały, że kwas jabłkowy może zastąpić CO_2 . W doświadczeniach swych otrzymał on podobne krzywe fotosyntezy dla CO_2 i kwasu jabłkowego. Badania przy pomocy radioaktywnego węgla C^{14} metodą infiltracji kwasów organicznych zawierających ten węgiel przeprowadzone przez Zbinowsky'ego i Burrisa (1952) dały wyniki, które również pozwalają stwierdzić, że najsilniej na fotosyntezę wpływa kwas jabłkowy. Badania przeprowadzone nad przemianą kwasów organicznych przy zastosowaniu C^{14}O_2 przez Stutza i Burrisa (1951) wykazały bardzo wysoką aktywność kwasu jabłkowego u różnych roślin, np. *Bryophyllum*, *Lycopersicum*, *Nicotiana*, *Rheum*, *Hordeum*.

Zatem nie tylko sukulenty miałyby zdolność korzystania z kwasu jabłkowego jako materiału wyjściowego, który mógłby być włączony do fotosyntezy za pomocą opisanego uprzednio procesu przemiany na kwas pirogronowy i przemiany tegoż na kwas fosfoglicerynowy. Z powyższych roz-

ważać można wyciągnąć następujące wnioski: rola kwasu jabłkowego i winowego jako substratu dla fotosyntezy jest dwójaka:

a) może być źródłem CO_2 ,

b) może być źródłem innych związków typu kwasów organicznych, które mogą prowadzić do fotosyntezy drogą boczną. W ten sposób należałoby stwierdzić, że kwas jabłkowy nie jest związkiem pośrednim w normalnym procesie fotosyntezy, lecz jest przypuszczalnie związkiem wyjściowym w procesie, który może równolegle zachodzić do normalnego procesu fotosyntezy i być także zlokalizowanym w liściach.

Występowanie pewnych wariantów w procesie fotosyntezy u sukulentów i innych roślin zielonych nie jest czymś niezwykłym, lecz raczej należałoby się go spodziewać, jeśli zważyć, że rośliny mogły w różny sposób wykształcić drogi swych procesów metabolicznych w zależności od środowiska, w jakim żyją. Według badań Oparina fotosynteza jest zjawiskiem przystosowawczym w drodze ewolucji, w wyniku której mogły się wykształcić różne jej tory, prowadzące w ostateczności do wytworzenia związków o wysokim potencjale energetycznym. U różnych roślin, w zależności od warunków ekologicznych, ten czy inny tor mógł stać się torem zasadniczym dla fotosyntezy, a inne zostałyby na uboczu. Nie ma zatem powodu do przypuszczenia, żeby mechanizm fotosyntezy sukulentów był zasadniczo różny od mechanizmu roślin zielonych. Proces asymilacji sukulentów jest tylko wariantem procesu normalnego i jest zrozumiałe, że w odpowiednich warunkach (brak CO_2 , światło) wariant ten pojawia się również u normalnych roślin zielonych, jak np. u *Fontinalis*.

Panu prof. drowi Fr. Górskiemu składam serdeczne podziękowanie za cenne rady i wskazówki udzielone mi w czasie wykonywania niniejszej pracy.

STRESZCZENIE

W niniejszej pracy przedstawiono dane dotyczące przyswajania kwasów jabłkowego i winowego użytych jako substraty w procesie fotosyntezy u *Fontinalis antipyretica* L. Jako rezultat przeprowadzonych badań stwierdzono fakt, iż kwasy jabłkowy i winowy mogą być użyte jako źródło związków zastępujących CO_2 w procesie fotosyntezy. Wskazuje na ten fakt wydajność wydzielanego tlenu, którego ilość porównano z wydajnością fotosyntezy u *Cabomba caroliniana*, a także ścisłą zależność tego procesu od natężenia światła i stężenia substratów. Krzywe uzyskane w ten sposób są typowe dla enzymatycznych reakcji fotosyntezy. Są one bardzo podobne zarówno dla kwasu jabłkowego i winowego, jak i CO_2 . Kwasy jabłkowy i winowy mogą być źródłem CO_2 , uwalnianego w procesie β -dekarboksylacji kwasu jabłkowego lub winowego, dającego w wyniku kwas pirogronowy i CO_2 , jak również źródłem innych związków typu kwasów organicznych, które mogą być użyte w procesie fotosyntezy o zmienionej wersji. Ten ostatni proces porównano potem do metabolizmu kwasowego

u sukulentów. Doświadczenia te wykazały, że metabolizm kwasowy u sukulentów i metabolizm w czasie fotosyntezy u *Fontinalis* są bardzo podobne, niemal identyczne.

Zakład Fizjologii Roślin UJ
w Krakowie

(Wpłynęło dn. 11.3.1958 r.)

SUMMARY

This paper presents data on the assimilation of malic and tartaric acids used as substrates during photosynthesis in *Fontinalis antipyretica* L. As a result of the investigation carried out, it was established that malic and tartaric acids can be used as sources of compounds substituting for carbon dioxide in the process of photosynthesis. This fact is indicated by the yield of oxygen exhaled, the quantity of which is subsequently compared with the yield in the photosynthesis of *Cabomba caroliniana* and, in addition, by exact correlation of the process with the light intensity and density of the substrates. The curves thus obtained are typical for enzymatic processes of photosynthesis. They are very similar for malic and tartaric acids as well as for carbon dioxide. Malic and tartaric acids can be a source of carbon dioxide released in the process of β -decarboxylation of the malic or tartaric acids (resulting in pyruvic acid and carbon dioxide) and also as sources for other compounds of the type of organic acids which can be used in the abnormal version of the photosynthesis process. This latter process is then compared with the metabolism of succulents. Crassulacean acid metabolism and the metabolism during the photosynthesis in *Fontinalis* were proved by these experiments to be almost identical.

LITERATURA

- Bassham J. A., Benson A. A., Calvin M., 1950, Jour. Biol. Chem. 185: 781—787.
- Bose J. C., 1924, The physiology of photosynthesis, 708, London, Longmans.
- Calvin M., Benson A. A., 1948, Science 107: 476.
- Calvin M., Bassham J. A., Benson A. A., Lynch V. A., Quillet C., Schou L., Stepka D., Tolbert N. E., 1951, Symp. of Soc. Expl. Biol. V. Carbon dioxide fixation and photosynthesis: 248—305, Cambridge Univ. Press.
- Krietowicz W., 1955, Biochemia roślin, 403, Warszawa, P.W.R. i L.
- Moyse A., Jolchine-Turpin G., 1954, Huitième Congrès Intern. de Bot. Paris, Section 11: 11—12.
- Pucher G. W., Leavenworth C. S., Ginter W., Wickery A. B., 1947, Plant Phys. 22: 360—376.
- Smith E. L., 1937, Jour. Gen. Physiol. 20: 807—830.
- Steemann—Nielsen E., 1947, Dansk Botanisk Arkiv. 12 (8).
- Strebeiko P., 1956, Woda i światło w życiu rośliny, 331, Warszawa, P.W.N.
- Stutz R. E., Burris R. H., 1951, Plant Phys. 26: 226—243.
- Thomas M., 1951, Symp. of Soc. Expl. Biol. V. Carbon dioxide fixation and photosynthesis, 72, Cambridge Univ. Press.
- Thomas M., 1954, Huitième Congrès Intern. de Bot. Paris, Section 11: 30—35.
- Treadwell F. P., 1945, Analytical Chemistry Vol. II, 806, New York, Wiley & Sons.
- Zbinowsky V., Burris R. H., 1952, Plant Phys. 27: 240—250.

Badania nad sezonowym przebiegiem przyrostu grubości pnia u *Pinus silvestris* L. i *Quercus Robur* L.

*The investigations of the seasonal course of the diameter
growth of Pinus silvestris L. and Quercus robur L.*

K. ERMICH

WSTĘP

Wykonywanie obserwacji nad sezonowym przyrostem grubości drzew napotyka na znaczne przeszkody, ponieważ proces ten odbywa się wewnątrz pnia pod korą i jest niewidoczny dla oka obserwatora. Stąd wynikają duże trudności metodyczne przy pozyskiwaniu odpowiedniego materiału badawczego. Niemniej prowadzenie takich badań jest niezbędne, gdyż pozwalają one na głębsze wnikięcie w jeden z zasadniczych procesów biologicznych, będący podstawą produkcji masy drewna, substancji o tak doniosłym znaczeniu gospodarczym. Szczególnie interesującym zagadnieniem jest poznanie przebiegu przyrostu grubości pnia w ciągu okresu wegetacyjnego. Problem ten stał się tematem niniejszej pracy.

Pierwszymi badaczami, którzy zajmowali się wyżej wymienionym zagadnieniem, byli: Teodor Hartig (1865), Szreder (1879), Robert Hartig (1882, 1885, 1888), Mer (1882, 1892) i inni. Do dalszych ważniejszych pozycji w literaturze z tego zakresu zaliczyć należy, między innymi, prace: Browna (1912), Knudsona (1913), Romlla (1925), Lodewicka (1928), Mac Dougalla (1925, 1938), Reesa (1929), Chalka (1930), Kohha (1932), Priestleya (1933, 1936), Towstolesa (1938), Owsiannikowa (1939), Topçuoglu (1940), Charitonowicza (1930, 1941), Raskatowa (1946, 1948), Mielechowej (1949), Schobera (1950), Wichrowa (1954), Bauman (1955) oraz Godmana i Gregory (1955). Podstawową publikacją z tego zakresu, dającą obszerny przegląd odnośnej literatury, jest praca K. L a d e f o g e d (1952).

Badania, o których mowa, wykonane były w latach 1955 i 56, w czasie okresu wegetacyjnego. Obiektem badań były dwa gatunki drzew należących do najważniejszych składników naszych lasów nizinnych, mianowicie sosna zwyczajna i dąb szypułkowy. Drzewa te rosły w Puszczy Niepołomickiej, w nadleśnictwie Niepołomice. Drzewostany, w skład których wchodziły badane sosny i dęby, pochodziły ze sztucznego odnowienia, rosły one jednak na właściwym siedlisku.

Na otwartej przestrzeni pod lasem, od strony północno-wschodniej koło leśniczówki założono stację meteorologiczną, odległą od grupy dębów o około 800 m, od grupy sosen o około 600 m. Na stacji tej wykonywano codziennie obserwacje meteorologiczne przez okresy wegetacyjne lat 1955 i 56, zgodnie z odnośną instrukcją PIHM.

CEL BADAŃ

W badaniach niniejszych chodziło o określenie czasu rozpoczęcia tworzenia się drewna wiosennego i letniego oraz czasu zakończenia przyrostu rocznego. Celem badań było również scharakteryzowanie przebiegu przyrostu grubości w ciągu okresu wegetacyjnego. Następnie, na podstawie uzyskanych danych z obserwacji meteorologicznych prowadzonych w wyżej wymienionej stacji meteorologicznej, starano się określić związek między przebiegiem przyrostu grubości u badanych drzew a zmiennością elementów meteorologicznych.

WYBÓR DRZEW DO BADAŃ

Materiał do badań pobierałem z 13 sosen w wieku około 50—65 lat i z 10 dębów około 80-letnich. Drzewa te rosły grupami w oddziałach 99 i 100 leśnictwa Grodkowice w nadleśnictwie Niepołomice.

Grupa sosen składała się z dwóch części. Dziesięć drzew tworzyło odrębną grupę wewnątrz umiarkowanie zwartego drzewostanu na przestrzeni około 200 m², zaś trzy drzewa rosły obok siebie, w odległości około 80 m od poprzedniej grupy, na brzegu lasu, od strony szerokiej drogi prowadzącej przez las. Reprezentowały one warunki panujące na obrzeżu lasu o wystawie południowej. Badane dęby występowały w jednej grupie na przestrzeni około 150 m².

OPIS ZBIOROWISK ROŚLINNYCH

Charakterystyka zbiorowisk roślinnych, w których rosły badane drzewa, przedstawia się następująco:

Grupa sosen nr 1—14:

Drzewostan sosnowy jednogatunkowy, przerzedzony, na lekko nachylnym stoku małego wzgórza — zwarcie umiarkowane. Najgrubsze drzewo 30 cm, najwyższe 16 m, wiek ok. 50 lat. Pokrycie warstwy koron drzew 60%, runa 30%, mchów 15%. Powierzchnia zdjęcia 200 m².

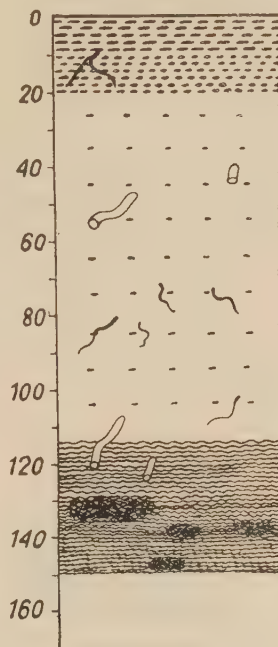
Warunki glebowe charakteryzuje profil glebowy nr 1 (ryc. 1):

- 0— 10 cm: warstwa suchej butwiejącej ściółki, przetknięta korzeniami runa leśnego.
- 10— 20 cm: warstwa próchniczna, ciemnopopielata, wykształcona w droбноziarnistym piasku, luźnym, świeżym.
- 20—114 cm: piasek droбноziarnisty, luźny, świeży, o barwie jasnożółtej.
- 114—150 cm: warstwa droбноziarnistego, luźnego i świeżego piasku żółtobrazowego z wkładkami kongrecji żelazowych, z tworzącym się miejscami rudawcem, ciemniejąca ku dołowi.
- 150—170 cm: droбноziarnisty, świeży, luźny piasek bardzo jasny.

Najniżej położony korzeń widoczny na głębokości 1,4 m. Do głębokości 1,7 m wody nie zauważono.

Gleba piaszczysta, zbielicowana, pochodzenia aluwialnego.

.Bór ten należy do zespołów rzędu *Vaccinio-Piceetalia* (Kornasiowa, 1957). Sosny w powyższym drzewostanie, chociaż wprowadzone sztucznie, występują na właściwym siedlisku.



Ryc. 1. Profil glebowy nr 1
Soil profile no 1

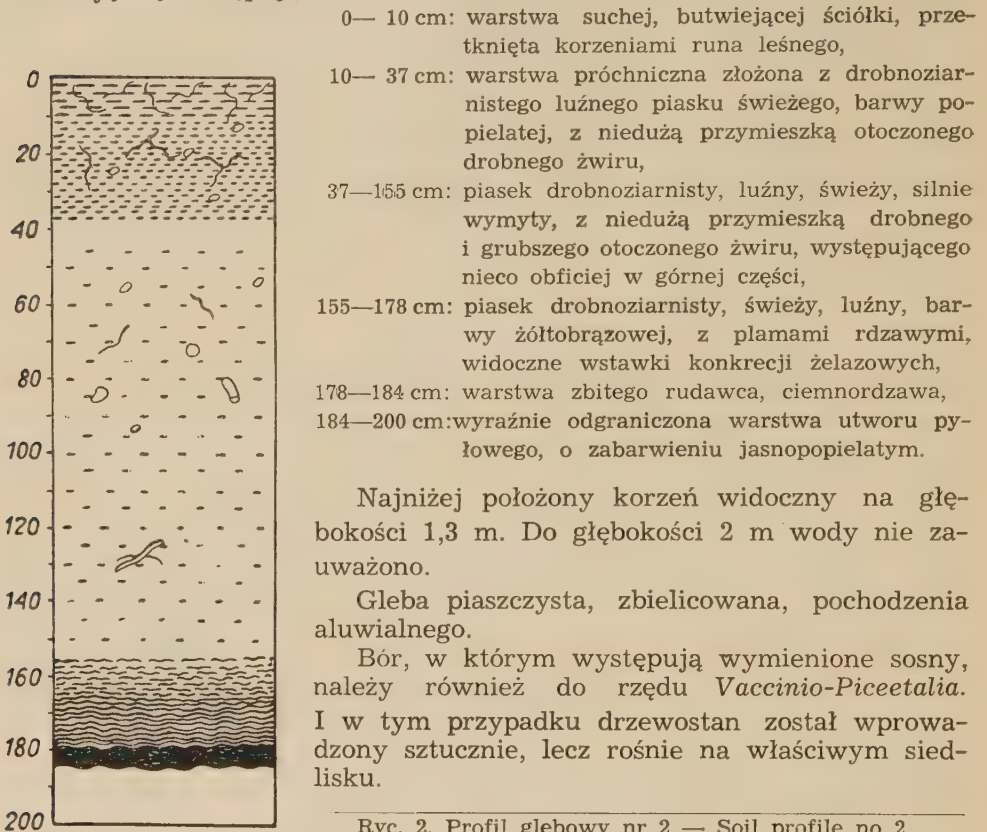
Grupa sosen nr 16—20

Rosną one w odległości około 80 m od grupy poprzedniej, na brzegu drzewostanu, przy szerokiej drodze leśnej. Drzewa nr 16 i 20 są bardziej wysunięte w stosunku do innych drzew obrzeża i rosną w warunkach zbliżonych do panujących na przestrzeni otwartej.

Drzewostan, w którego skład wchodzi sosny nr 16 i 20, jest silnie prześwietlony (obrzeże lasu), teren jest płaski, położony obok niewiel-

kiego wzgórką; drzewostan ten składa się wyłącznie z sosny w wieku około 65 lat, zwarcie luźne. Pokrycie koron drzew 30%, runa 30%, mchów 5%.

Warunki edaficzne scharakteryzowane przez profil nr 2 (ryc. 2) przedstawiają się następująco:



Ryc. 2. Profil glebowy nr 2 — Soil profile no 2

Grupa dębów nr 1—10

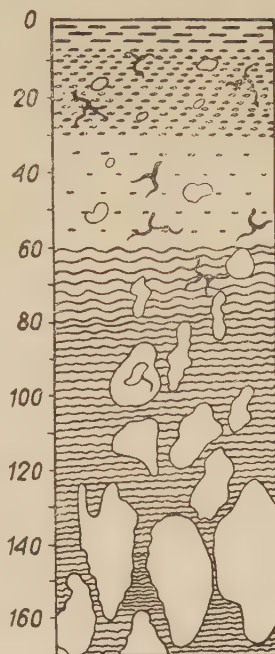
Teren płaski, przeorany pasami co 2 m na głębokości około 30 cm, na których znajdują się około 3-letnie uprawy. Roślinność runa leśnego po-
wraca szybko na tych miejscach. Drzewostan prześwietlony, zwarcie prze-
rywne, dąb 0,5, sosna 0,5; najgrubszy dąb 50 cm, największa wysokość
20 m, najgrubsza sosna 40 cm, największa wysokość 22 m. Drzewostan
jednowiekowy około 80 lat; pokrycie warstwy koron 50%, krzewów 10%,
runa 90%, mchów 30%. Powierzchnia zdjęcia 100 m².

Warunki glebowe charakteryzuje profil glebowy nr 3 (ryc. 3):

- 0— 5 cm: warstwa rozkładającej się suchej ściółki, porośniętej runem leśnym,
- 5— 30 cm: warstwa próchniczna wykształcona w świeżym, drobnoziarnistym piasku, o barwie żółto-brązowo-popielatej, z niewielką zawartością otoczonego, drobniejszego żwiru,
- 30— 60 cm: wymyta warstwa żółtego piasku, drobnoziarnistego, luźnego, świeżego, z domieszką otoczonego żwiru; niektóre ziarna żwiru dochodzą do 3 cm średnicy,
- 60—170 cm: utwór pylasty, barwy żółtobrazowej z jasnopopielatymi plamami, powierzchnia zajęta przez nie zwiększa się ku dołowi; żwir występuje jedynie w górnej części tej warstwy jako pojedyncze otoczone ziarna.

Najniżej położony korzeń widoczny na głębokości 1 m. Wody do głębokości 1,7 m nie zauważono.

Gleba piaszczysta napyłowa, zbielicowana, pochodzenia aluwialnego. Badane dęby wchodziły w skład boru mieszanego należącego do zespołu *Pineto-Quercetum*. Potwierdza to często w takich przypadkach spotykany fakt obecności niektórych gatunków charakterystycznych dla rzędu *Fagetalia silvaticae* (Kornasiova 1957).



Ryc. 3. Profil glebowy nr 3
Soil profile no 3

METODA BADAŃ

Najtrudniejszym zagadnieniem metodycznym, jakie wysuwało się na pierwszy plan w niniejszej pracy, było zebranie jednorodnego, porównywalnego materiału nadającego się do badań. Jeśli chodzi o określenie czasu rozpoczęcia i zakończenia sezonowego przyrostu grubości drzew, to pozyskanie odpowiedniego materiału nie napotykało na większe przeszkody. Natomiast znacznie trudniej było go otrzymać do badań nad przebiegiem przyrostu grubości w ciągu okresu wegetacyjnego. Mimo różnych prób, jakie stosowano w tym względzie, zagadnienie to nie zostało dotychczas całkowicie rozwiązane.

Najdawniejsza metoda pozyskiwania materiału badawczego stosowana przez Teodora Hartiga (1865) polegała na tym, że w określonych odstępach czasu ścinano drzewa rosnące w tych samych warunkach, tego samego wieku i pokroju. Z drzew tych wycinano krążki, na których mierzono przyrost okresowy. Ten sam sposób stosowano i później, np. Jaccard (1930), częściowo i Topçuoglu (1940).

Metoda ta nie uwzględnia zupełnie indywidualnych właściwości poszczególnych drzew, jako też różnic mikrosiedliskowych, w jakich rosną poszczególne osobniki. Wynikłe stąd różnice w przyroście są nieraz bardzo duże i obraz sezonowego przebiegu przyrostu grubości, opracowany na tak zebranych materiale, odbiegać może bardzo od faktycznego stanu rzeczy. Dlatego sposób ten nie znalazł szerszego zastosowania.

Znacznie częściej używane są dwie dalsze metody. Pierwsza z nich polega na pobieraniu próbek drzewa w różnych odcinkach czasu, z tego samego pnia przez cały okres wegetacyjny. Na wykonanych z nich preparatach mikroskopowych mierzy się szerokość przyrostu okresowego pierścienia rocznego, posługując się okularzem z podziałką mikrometryczną. Metoda ta pozwala dość dobrze oznaczyć początek i koniec przyrostu grubości, jeśli natomiast chodzi o jego sezonowy przebieg, to dane zebrane przy pomocy tej metody są mniej dokładne.

Pierwszy zastosował tę metodę R. Hartig (1882); próbki pobierał za pomocą świdra przyrostowego Presslera w okresach 2 tygodniowych. W ten sposób postępowali również Wieler (1898), Romell (1925), K o h h (1930) i inni. Brown (1912) i Chalk (1930) do pobierania materiału badawczego zamiast świdra przyrostowego używali bardzo ostrego nożyka, natomiast W i c h r o w (1954), a częściowo i Romell (1925), posługiwali się ostrym dłutkiem.

Ujemną stroną tej metody jest przede wszystkim fakt, że próbki drewna do badań pobiera się za każdym razem z innego miejsca, a wiadomo, że szybkość przyrostu grubości, a zatem i jego szerokość, może być różna w różnych punktach obwodu pnia tak w płaszczyźnie poziomej, jak i pionowej. Wskutek tego istnieje możliwość popełnienia błędu.

Niemniej Schober (1950) uważa, że główną przyczyną otrzymywania nieodpowiedniego materiału badawczego jest uszkodzenie komórek tegorocznego słoja przy otrzymywaniu próbek. Natomiast fakt pobierania ich do badań za każdym razem z innego miejsca ma mniejsze znaczenie. Posługując się świdrem przyrostowym nieco odmienniej konstrukcji aniżeli u Presslera, Schober uważa, że otrzymał odpowiedni materiał badawczy, dobrze przedstawiający sezonowy przebieg przyrostu grubości.

Dalszą przyczyną, mogącą spowodować powstawanie błędu, jest również fakt, że z powodu nawierceń czy nacięć powstają rany, w pobliżu których przyrost może zwiększyć się ponad normalny (R. Hartig 1882). Poza tym w pomiarach istnieją przerwy.

Druga metoda polega na pomiarze średnicy, względnie obwodu, wykonanym na tym samym drzewie, w tym samym miejscu, i to jest niewątpliwie dodatnią stroną metody. Średnicę mierzy się bądź to specjalnym cyrklem (K o h h 1930), bądź też za pomocą odpowiedniej klupy (H e c k 1905). Obwód oznacza się najczęściej za pomocą dendrografu (F r i e d r i c h

1897, Romell 1925, Kohh 1930, Godman Richard M. Gregory Robert A. 1955, Wilhelmi 1956).

Dodatnią stroną pomiaru dendrografem jest również fakt, że rejestracja przyrostu odbywa się bez przerwy. W ten sposób udałooby się najłatwiej uchwycić dynamikę przyrostu, nawet w szczegółach. Na przeszkodzie stoi tu jednak wpływ temperatury i wilgotności powietrza, ponieważ oba te elementy meteorologiczne powodują rozszerzanie względnie kurczenie się obwodu pnia tak, że nie można określić, ile z wartości zarejestrowanej przypada na przyrost grubości, a ile na wpływ temperatury i wilgotności powietrza. Wahania grubości pnia pod wpływem wyżej wymienionych czynników bywają nieraz większe, aniżeli spowodować to może sam proces przyrostu. Romell (1925) podaje, że swoich badań wykonanych w Szwecji, że kurczenie się pnia sosny w czasie mrozów powoduje zmniejszenie obwodu o wartość przekraczającą nieraz wielkość całego zeszłorocznego przyrostu.

Trzeba podkreślić, że w ten sposób rejestruje się nie tylko przyrost grubości drewna, ale również i łyka, oraz pęcznienie pnia (Chalk 1930).

Metodą tą nie można stwierdzić rozpoczęcia i zakończenia czynności miazgi, a więc i przyrostu grubości. Dlatego również i z tych względów ma ona wielu przeciwników (Romell 1925, Chalk 1930, Wichrow 1954 i inni).

Do moich badań wybrałem pierwszą z wyżej opisanych metod polegającą na pobieraniu w ciągu okresu wegetacyjnego w regularnych odstępach czasu próbek drewna z tego samego drzewa, następnie na badaniu i pomiarze ich pod mikroskopem. Metoda ta pozwala na określenie czasu rozpoczęcia czynności miazgi, jako też drewna wczesnego i późnego, oraz zakończenia przyrostu. Jeśli natomiast chodzi o przedstawienie sezonowego przebiegu przyrostu grubości, to nie może ona udzielić ściślejszych informacji, prócz danych orientacyjnych.

Świder przyrostowy, używany najczęściej przy tej metodzie do pobierania materiału badawczego, posiada tę ujemną stronę, że może zniekształcić, a nawet zmiażdżyć w danym miejscu, tegoroczną część słoja lub nie zdrewniałe jego części, niszcząc w ten sposób materiał do badań. Świder przyrostowy poza tym rani drzewo na zbyt dużej przestrzeni (szerokość otworu 1 cm), wskutek czego w okolicy ran rozwija się silniejszy niż normalnie przyrost. Jeżeli miejsca nawierceń położone są zbyt blisko siebie, może nastąpić zniekształcenie obrazu przebiegu przyrostu grubości, co zresztą nie wpływa wcale ujemnie na możliwości określenia czasu rozpoczęcia i zakończenia czynności miazgi.

Używanie ostrego dłutka (Romell 1925, Wichrow 1954) lub ostrego nożyka (Brown 1912, Chalk 1930) nie miażdży wprawdzie

tegorocznego słoja, ale za to rani na nie mniejszej przestrzeni aniżeli świder przyrostowy.

Przyjąłem założenie, które zostało później potwierdzone, że szersza rana bardziej pobudza miazgę do nadmiernego podziału jej komórek aniżeli węższa. Do pobierania materiału badawczego należy więc używać przyrządów raniących drzewo w jak najmniejszym stopniu. Zastosowałem dlatego przyrząd w kształcie rurki typu „dziurkacza“ sporządzonego ze stali (wykonał Zakład Aparatów Naukowych UJ w Krakowie), o ostrych brzegach otworu mającego średnicę 3 mm. Grubość pobranych w ten sposób wałeczków drewna wynosi 3 mm, co przy pewnej wprawie nie przeszkadza w wykonywaniu wystarczająco przejrzystych preparatów mikroskopowych. Przyrząd taki wbija się młotkiem w drzewo prostopadle do jego osi, a po przekręceniu wyciąga się go wraz z wałeczkiem drewna. Wyciśnięcie próbki ze środka przyrządu odbywa się przy pomocy pręcika metalowego od strony części wbitej w drzewo, ażeby uniknąć oddzielenia się kory od drewna, co jednak nie zawsze się udaje. Ale nawet jeśli kora odejdzie od drewna, to znaczna część elementów nie zdrewniałych pozostaje przy słoju, a różnicujące się komórki, które wejdą w skład ksylenu, po zabarwieniu preparatu dają się zupełnie wyraźnie zauważyć.

Przy stosowaniu powyższej metody część zdrewniała słoja tegorocznego nie ulega zgnieceniu, komórki nie zmieniają więc swego właściwego kształtu i wymiarów. Część nie zdrewniała ulega niekiedy uszkodzeniu, pozwalającemu jednak najzupełniej wyraźnie rozróżnić nie zdrewniałe elementy tegorocznego pierścienia.

Aby przekonać się, czy zranienie drzewa przy pobieraniu próbek powoduje wybujały przyrost w okolicy rany, wykonałem w roku 1954 odpowiednie badania na świerku i sośnie. Z końcem maja dokonałem kilku nawierceń tak świdrem przyrostowym, jak i „dziurkaczem“. W listopadzie tego samego roku oba drzewa zostały ścięte i okazało się, że zranienie „dziurkaczem“ nie spowodowało żadnych zakłóceń w przyroście, natomiast zranienie świdrem Presslera wywołało intensywniejszy przyrost drewna w promieniu około 2 cm od rany. Poza tym, z początkiem grudnia 1955 roku, ścięto jedną z badanych w roku 1955 w Puszczy Niepołomickiej sosen, u której stwierdziłem, że tak na poprzecznym jak i na podłużnym przekroju w okolicy otworów wykonanych dziurkaczem żadnych zmian w przyroście nie było. Podobnych badań na dębie nie przeprowadziłem ze względu na konieczność oszczędzania tego cennego gatunku. Nie jest jednak wykluczone, że u dębu może być intensywniejszy przyrost w okolicy ran. W kwietniu 1956 roku zauważyłem mianowicie, że otwory po wałeczkach z roku 1955 u sosen nie były jeszcze zarośnięte, u dębów natomiast były już zasklepione, w szczególności otwory na-

wiercone w czasie od kwietnia do lipca 1955. Zagadnienie to u dębu należałoby w każdym razie zbadać.

Z powyższych informacji można wnosić, że podział komórek miazgi u dębu wskutek zranienia jest intensywniejszy aniżeli u sosny.

Drzewa, które były badane w ciągu obu lat, zostały naprzód ponumerowane olejną farbą w sposób widoczny, aby uniknąć pomyłek.

Materiał do badań był pobierany bardzo regularnie, co 7 dni w kwietniu i maju, później co 2 tygodnie. W roku 1956 pozyskiwanie wałków odbywało się co 7 dni, również przez wrzesień i październik. Tygodniowymi terminami w pobieraniu materiałów do badań posługiwano się w celu bliższego określenia czasu rozpoczęcia i zakończenia przyrostu grubości.

W roku 1955 wykonywałem nawiercenia po stronie południowej pni tak i w wszystkich sosen, jak i u dębów, zaś w roku 1956 po stronie południowo-zachodniej, w obu latach w kierunku pionowym. W roku 1955 wałki pobierano w dwóch szeregach (na przemian), w roku 1956 tylko w jednym. Odległość między otworami była większa w okresie intensywniejszego przyrostu aniżeli w czasie słabszego. W kierunku pionowym pobierali próbki Brown (1912), Chalk (1930) i Romell (1925). R. Hartig (1882) i K o h h (1932) brali je wzdłuż obwodu przekroju poprzecznego, w płaszczyźnie poziomej.

Jestem zwolennikiem pobierania wałków w kierunku pionowym, gdyż wszystkie pochodzą wówczas z tej samej ekspozycji. Nie jest to bez znaczenia, ponieważ kierunek światła ma wg niektórych autorów (Hartig 1882, Friedrich 1897, Romell 1925, Sokołowski 1928, Trendelenburg 1939, Malinowski 1953) wpływ na porę rozpoczęcia czynności miazgi. Poza tym nierówności obwodu przekroju poprzecznego wydają się być większe aniżeli w kierunku osi drzewa. Ten pogląd potwierdził się częściowo w czasie niniejszych badań.

W celu uniknięcia zaatakowania drzew przez szkodniki, otwory w drzewach po wałkach zalepiano smołą ogrodniczą.

Wałeczki drewna przechowywano w małych próbkach szklanych, wypełnionych 70% alkoholem, zakorkowanych, z zaznaczonym numerem drzewa oraz datą nawiercenia.

Preparaty mikroskopowe sporządzano przy pomocy żyłki. Badania i pomiar odbywały się pod mikroskopem zaopatrzonym w okular z podziałką mikrometryczną. Dla ułatwienia oraz dokładności pomiaru, preparaty barwiłem floroglucyną i kwasem solnym. Dodatnią stroną użycia tych substancji jest krótszy czas barwienia niż przy innych barwikach, co daje dużą oszczędność na czasie, jeśli się ma do czynienia z bardzo dużą ilością preparatów, jak to miało miejsce w niniejszej pracy. Poza tym floroglucyna i kwas solny barwią tylko części zdrewniałe,

w odróżnieniu np. od zieleni jodowej. Według Ulricha (1955) barwienie na czerwono wyżej wymienionymi środkami następuje przy zaawansowanym procesie drewnienia. Autor ten stwierdził w swych badaniach porównawczych, że przy małej zawartości ligniny w błonach komórkowych barwienie nie następowało. Z tego wynika, że barwienie się nowo powstałych komórek drewna jest pewnym wskaźnikiem ich zdrewnienia. Mierzyłem tylko zabarwioną część tegorocznego przyrostu.

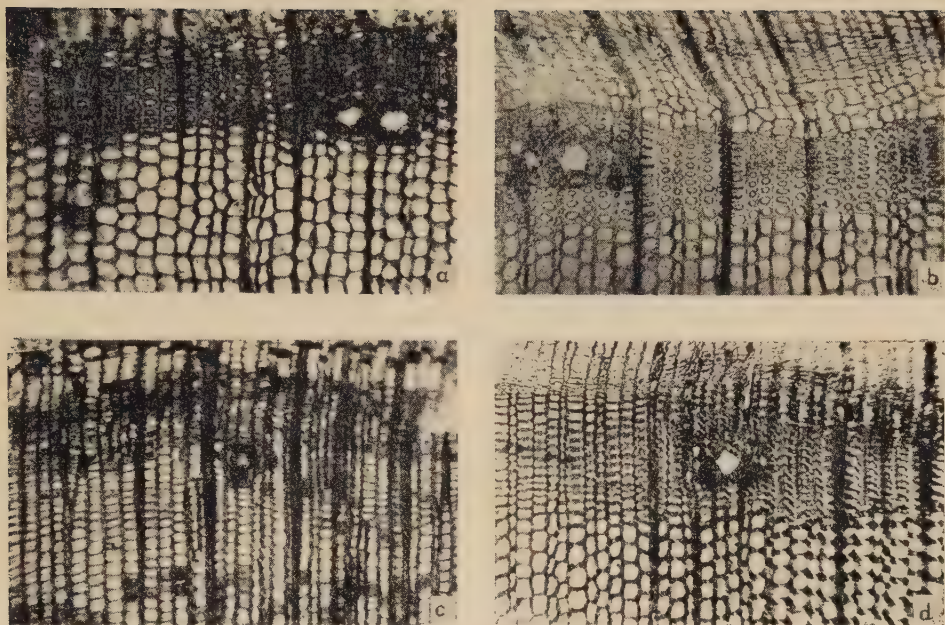
Podkreślić wreszcie należy, że rzeczą konieczną jest, ażeby pobieranie wałków do badań odbywało się w jednakowy sposób oraz ażeby traktowanie tego materiału było jednolite, gdyż tylko tą drogą można otrzymać porównywalny materiał badawczy. W niniejszych badaniach postępowałem zgodnie z powyższymi zasadami.

POCZĄTEK TWORZENIA SIĘ DREWNA WIOSENNEGO I LETNIEGO

Stwierdzenie pod mikroskopem rozpoczęcia czynności kambium nie powinno w zasadzie napotykać większych trudności. Jeżeli preparat jest dobrze wykonany, nie trudno zauważyć komórki miazgi. Mają one bowiem charakterystyczną i odmienną od innych budowę, są wyraźnie prostokątne, bardzo wąskie i wydłużone równolegle do obwodu słoja (ryc. 4a, 5a). Wnętrze komórek miazgi, w odróżnieniu od innych już zróżnicowanych, wypełnia żywa treść, która w mikroskopie zaznacza się przeważnie dość wyraźnie. Podkreślić przy tym trzeba, że najbliżej kambium położone komórki posiadają również żywą treść, którą tracą dopiero wówczas, gdy następuje różnicowanie na elementy drewna i zdrewnienie błony komórkowej.

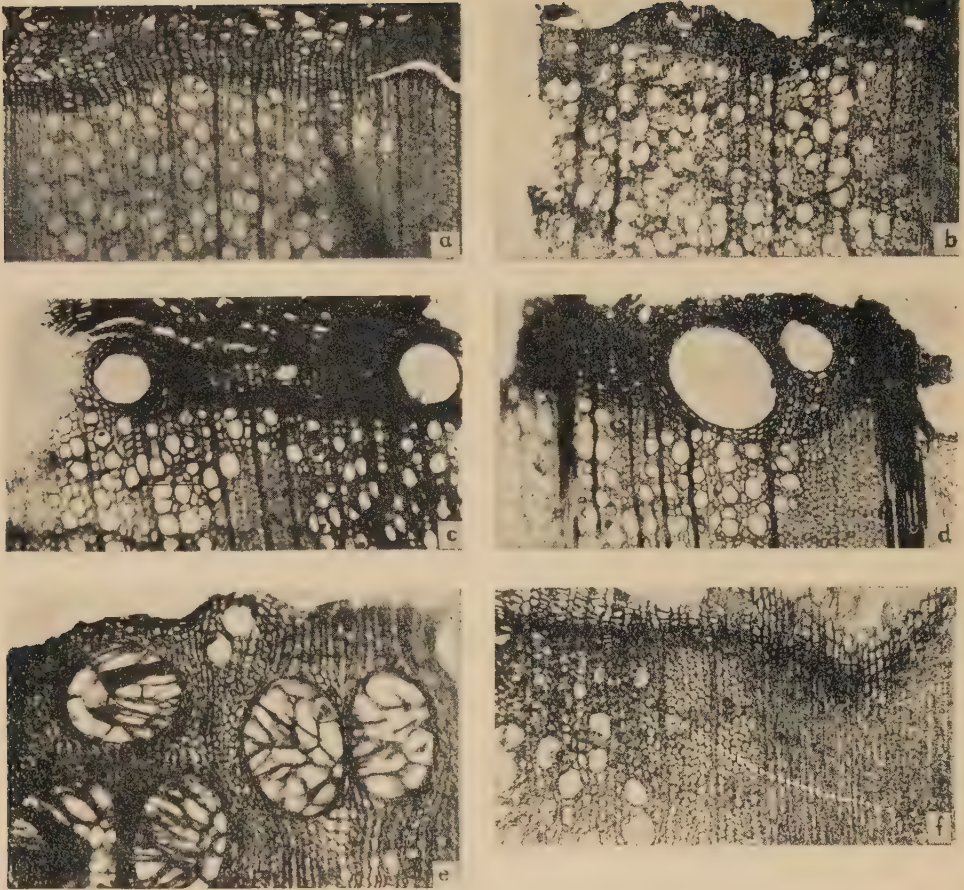
Jeżeli przyrost jeszcze się nie rozpoczął, komórki miazgi ułożone są w dość regularnie przebiegającą warstwę, która przylega bezpośrednio do granicy zeszłorocznego słoja. Na pewne trudności napotyka obserwator w okresie aktywności miazgi, wtedy bowiem trudno jest wyróżnić właściwą miazgę, tj. warstwę komórek inicjalnych, w obrębie wielowarstwowej „strefy kambialnej“.

Rozpoczęcie przyrostu grubości drzewa należałoby liczyć zasadniczo od chwili zauważenia pierwszych komórek siostrzanych od strony ksylemu, czyli rozpoczęcie przyrostu grubości zaczęłoby się z zapoczątkowaniem czynności kambium. Wówczas i pomiar sezonowego przyrostu należałoby prowadzić od granicy przeszłorocznego słoja aż do komórek miazgi. Jednak z określeniem położenia miazgi na preparacie mikroskopowym, w okresie jej aktywności, są pewne trudności, które wzrastają, gdy się ma do czynienia z dużą ilością preparatów. Nie każdy bowiem preparat da się wystarczająco przejrzeć wykonać, tak ażeby komórki miazgi były w pełni widoczne. Tym bardziej że przy cięciu wałeczków drewna kora



Ryc. 4. Najważniejsze fazy tworzenia się pierścienia rocznego u sosny nr 8 w roku 1956
(The most important seasonal stages of the diameter growth of pine nr 8 in year 1956)

a — 7.V: przed rozpoczęciem czynności miazgi (do granicznego szeregu cewek części letniej zeszłorocznego słoju przylegają wyrównane szeregi komórek miazgi, będącej w spoczynku);
b — 21.V: przyrost grubości rozpoczęty (szeregi komórek miazgi oddalone od granicy zeszłorocznego słoju) powstawanie cewek warstwy wiosennej; c — 6.VIII: tworzą się pierwsze cewki warstwy letniej (spłaszczone, ścianki zgrubiałe); d — 1.X: zakończenie czynności miazgi (do granicznego szeregu cewek części letniej tegorocznego słoju przylegają wyrównane szeregi komórek miazgi, która zakończyła swą czynność)



Ryc. 5. Najważniejsze fazy tworzenia się pierścienia rocznego u dębu nr 4 w roku 1956
(The most important seasonal stages of the diameter growth of oak nr 4 in the year 1956)

a — 16.IV: przed rozpoczęciem czynności miazgi (do granicznego, zwartego szeregu komórek zesztorocznego słoju, przylegają wyrównane szeregi komórek miazgi, będącej w spoczynku); b — 23.IV: podział komórek miazgi rozpoczęty (przyrost powstaje nierównomiernie w formie przyczółka, którego ośrodkiem jest kształtujące się naczynie wiosenne), przyrost nie barwiący się; c — 30.IV: dalszy etap rozwoju naczyń wiosennych; ich ścianki, oraz przylegające części przyrostu barwią się, reszta położona między naczyniami nie ulega barwieniu; d — 14.V: naczynia warstwy wiosennej w pełni rozwoju, inne elementy już w znacznym stopniu zróżnicowane, duża część przyrostu barwi się; e — 11.VI: przyrost warstwy wiosennej zakończony, początek tworzenia się elementów drewna późnego, naczynia wiosenne zamknięte włóknami; f — 17.IX: zakończenie tegorocznego słoju (sytuacja jak pod „a”)

najczęściej odpada. Dlatego też rozpoczęcie przyrostu drewna zacząłem liczyć od pierwszych (od strony miazgi) komórek, które pod działaniem floroglucyny z kwasem solnym barwiły się na czerwono. Tylko w ten sposób ograniczona przestrzeń mogła być dokładnie pomierzona. Trzeba tutaj nadmienić, że u dębów tworzące się dopiero naczynia wiosenne, które nie osiągnęły jeszcze pełnych wymiarów, barwiły się również na czerwono.

Zaznaczyć również należy, że u sosny elementy wczesnej części pierścienia rocznego powstają mniej więcej równomiernie na całym obwodzie, jak to wynika z ryc. 4b, podającej najważniejsze etapy przyrostu grubości sosny w ciągu kresu wegetacyjnego. U dębów natomiast tworzenie się naczyń warstwy wiosennej wyprzedza znacznie formowanie się innych elementów drewna wczesnego położonych między nimi. W początkowej fazie przyrostu u dęba tworzą się jak gdyby przyczółki, których ośrodkiem staje się rosnące naczynie wiosenne (ryc. 5b). Najczęściej można było zauważyć, że naczynia wczesne były już rozrośnięte, podczas gdy między nimi położone elementy dopiero się różnicowały (ryc. 5c).

Po zakończeniu tworzenia się warstwy wiosennej przyrost części letniej odbywa się bardziej równomiernie na całym obwodzie (ryc. 4c, 5e).

Do warstwy letniej słoja rocznego u sosny włączyłem tylko cewki, które były wyraźnie spłaszczone i posiadały zgrubiałe ścianki będąc w ten sposób w pełni przystosowane do pełnienia funkcji mechanicznych. Wszystkie inne zaliczyłem do warstwy wiosennej (ryc. 4c).

U dębów na preparacie mikroskopowym tylko z grubsza można nakreślić granicę między drewnem wczesnym i późnym. Dlatego też dane dotyczące początku tworzenia się warstwy późnej są znacznie mniej dokładne (ryc. 5e).

U dębu, na preparacie mikroskopowym z dnia 11.VI.1956 (ryc. 5e) zauważyć można, że w pełni wykształcone naczynia wczesne zamknięte są wcistkami i już zostały wyłączone od przewodzenia wody z solami mineralnymi. Czynność swoją pełniły więc niedługo.

Wyniki badań nad rozpoczęciem czynności miazgi, jako też nad powstawaniem drewna wczesnego i późnego są następujące:

Sosna

Warstwa wiosenna 1955 r.:

drzewa w zwarciu (nr 1, 3, 5, 7, 8, 10, 11, 12, 13, 14):

21.V — u 4 drzew (nr 1, 3, 5, 8) miazga rozpoczęła swą czynność, stwierdzono 1—3 szeregi cewek niezdrewniałych. U 6 pozostałych drzew (nr 7, 10, 11, 12, 13, 14) miazga nieczynna,

28.V — przyrost zdrewniały u wszystkich drzew, szerokość przyrostu na promieniu 0,02—0,13 mm, ilość szeregów cewek 1—4,

drzewa na obrzeżu lasu (nr 16, 20):

- 21.V — u obu drzew czynność miazgi rozpoczęta, 2 szeregi cewek niezdrewniałych,
28.V — przyrost zdrewniały, szerokość przyrostu na promieniu 0,12 i 0,11 mm, 3—4 szeregi cewek.

Warstwa letnia 1955 r.:

drzewa w zwarciu:

- 23.VII — u 2 drzew (nr 12 i 13) zauważono 2—5 szeregów cewek drewna letniego, u reszty drzew jeszcze nie,
6.VIII — u dalszych 8 drzew (nr 1, 3, 5, 7, 8, 10, 11, 14) stwierdzono 2—5 szeregów cewek,

drzewa na obrzeżu lasu:

- 6.VIII — u obu drzew stwierdzono 2 i 11 szeregów cewek.

Warstwa wiosenna 1956 r.:

drzewa w zwarciu (nr 5, 7, 8, 9, 10, 11, 13):

- 14.V — u 2 drzew (nr 10, 13) czynność kambium rozpoczęta,
21.V — u dalszych 5 drzew (nr 5, 7, 8, 9, 11) podział komórek miazgi już nastąpił; drzewo nr 13 przyrost zdrewniały wynoszący 0,09 mm i 3 szeregi cewek,
28.V — 6 drzew (nr 5, 7, 8, 9, 10, 11) przyrost zdrewniały, 1—10 szeregów cewek, szerokość przyrostów 0,04—0,38 mm.

drzewa na obrzeżu lasu:

- 14.V — u drzew nr 16 i 20 podział komórek kambium rozpoczęty, komórki niezdrewniałe,
21.V — u sosny nr 18 miazga nadal nieczynna,
28.V — u 2 drzew (nr 16 i 20) przyrost zdrewniały, 4 i 5 szeregów cewek, szerokość przyrostu 0,18 i 0,25 mm; w drzewie nr 18 podział komórek kambium dopiero się rozpoczął,
11.VI — w drzewie nr 18 przyrost zdrewniały i wynosił 0,12 mm, 4 szeregi cewek,

Warstwa letnia 1956 r.:

- 23.VII — u drzewa nr 11 zauważono cewki warstwy letniej,
6.VIII — u reszty drzew tak ze zwarcia, jak i z obrzeża zauważono cewki warstwy letniej.

Dla przypomnienia trzeba nadmienić, że sosny nr 16 i 20 wysunięte były o kilka metrów przed szeregiem sosen obrzeża, w którym rośło również drzewo nr 18.

Z powyższych danych wynika, że czynność miazgi nie rozpoczęła się równocześnie u różnych drzew. W roku 1955 różnica w czasie nie prze-

kraczała jednego tygodnia, w roku 1956 sięgała nawet przeszło dwóch tygodni. Drzewa rosnące na obrzeżu nie wykazały pod tym względem żadnej odrębności. Sosny nr 16 i 20 należały wprawdzie do pierwszych, u których podział komórek miazgi rozpoczął się najwcześniej, natomiast u drzewa nr 18 aktywność kambium zaczęła się przejawiać najpóźniej ze wszystkich. Z tego zdaje się wynikać, że miejsce, na którym rosły sosny, nie odegrało tutaj decydującej roli.

Wyniki badań nad rozpoczęciem czynności miazgi i przyrostu grubości u sosen upoważniają do wysunięcia następujących wniosków:

Początek czynności miazgi w roku 1955 u drzew w zwarcu przypadł na koniec drugiej dekady maja, a w roku 1956 w przybliżeniu o 1 tydzień wcześniej, tj. z początkiem drugiej dekady maja. Za to rozpiętość w czasie rozpoczęcia czynności kambium u różnych drzew w tym roku była większa niż w poprzednim. Sosny z obrzeża lasu nie różniły się niczym pod tym względem od drzew ze zwarcia. Można więc przyjąć drugą dekadę maja jako czas rozpoczęcia czynności miazgi.

Ukazanie się zaś pierwszych zdrewniałych elementów drewna przypadło w obu latach na trzecią dekadę maja zarówno u sosen ze zwarcia jak i z obrzeża.

W roku 1956 rozpoczęcie czynności miazgi nastąpiło o 1 tydzień wcześniej niż w 1955. Także różnice z roku na rok bywają znacznie większe, np. Romell (1925) podaje, że u sosen badanych przez niego w Szwecji początek aktywności miazgi w r. 1921 nastąpił w dniu 21.V.1922—6.VI, w r. 1923 — 26.VI. Przyczyną tego była niewątpliwie zmienność nieokresowa elementów pogody, o czym będzie mowa w odnośnym rozdziale.

Dla porównania należałoby podać wyniki innych badań wykonanych również na sośnie; jest ich mało i są one następujące: w badaniach R. Hartiga (1882) w Bawarii, czynność miazgi rozpoczęła się w połowie maja, wg Topçuoğlu (1940) w Eberswalde, w zwarcu tuż przed 26 maja (1 szereg cewek), u drzew wolno stojących o 2 tygodnie wcześniej, według Schobera (1950) 5 i 13 maja. Nie ma więc większych różnic między niniejszymi badaniami a spostrzeżeniami Hartiga i Topçuoğlu, a nawet Schobera. Również obserwacje Romlla (1925) z roku 1921 nie odbiegają od niniejszych.

Przyrost drewna letniego w moich badaniach rozpoczął się u zdecydowanej większości drzew z końcem lipca i początkiem sierpnia, przy czym nie było większych różnic między latami 1955 a 1956.

R. Hartig oraz Trendelenburg (1939) są zdania, że drewno letnie tworzy się w lipcu i sierpniu, Schwarz (1899) wskazuje na drugą połowę lipca, Wieler (1898) 17 do 28 lipca (Niemcy Środkowe

i Południowe), Topçuglu (1940) uważa, że początek tworzenia warstwy późnej przypada na 13 lipca (Niemcy Wschodnie).

Początek rozwoju pączków u badanych sosen zauważono w roku 1955 w dniu 2 maja, w 1956 nieco wcześniej, bo około 28 kwietnia. W okresie rozpoczęcia przyrostu wtórnego drewna w pniu pęd z tegorocznego pączka rozwijał się już w całej pełni. Początek czynności miazgi przypadł więc w obu latach po rozwoju pączków. Wskazywałoby to na fakt, że u sosny drewno wczesne powstaje głównie z asymilatów wyprodukowanych przez tegoroczne szpilki (Ermich 1953).

Dąb

Warstwa wiosenna 1955 r.:

30.IV — u 3 drzew (nr 4, 6, 7) zauważono podział komórek miazgi.

7.V — u wszystkich drzew (nr 1—10) przyrost grubości już się rozpoczął i wynosił 0,08—0,16 mm.

Warstwa letnia * 1955 r.:

25.VI — u 8 drzew (nr 3—10) stwierdzono całkowite zakończenie warstwy wiosennej i tworzenie się elementów warstwy letniej.

9.VII — u 2 drzew (nr 1 i 2) zauważono tworzenie się warstwy letniej.

Warstwa wiosenna 1956 r.:

23.IV — u drzewa nr 4 stwierdzono rozpoczęcie czynności miazgi,

30.IV — u 6 drzew (nr 1, 2, 5, 8, 9, 10) zauważono rozpoczęcie podziału komórek miazgi, u 3 drzew (nr 4, 6, 7) przyrost zdrewniały,

7.V — u drzewa nr 3 dopiero początek czynności miazgi, u 4 drzew (nr 1, 2, 5, 8) zdrewniały elementy drewna wczesnego.

14.V — u drzew nr 9 i 10 pierwsze zdrewniały komórki warstwy wczesnej,

28.V — w drzewie nr 3 utworzyły się pierwsze zdrewniały komórki warstwy wczesnej.

Warstwa letnia 1956 r.:

11.VI — u drzewa nr 4 zauważono pierwsze elementy drewna późnego,

25.VI — u reszty drzew zauważono tworzenie się warstwy letniej.

Podkreślić należy, że badane dęby rosły prawie w jednakowych warunkach siedliskowych, przy jednolitym zwarcu.

Podczas gdy w roku 1955 wszystkie drzewa rozwijały się w tym samym mniej więcej czasie, to w rok później przebieg przyrostu grubości był wysoce nierównomierny.

Rozpoczęcie czynności miazgi i przyrostu grubości u tych drzew ciągnęło się od 23.IV do 28.V, a więc przeszło jeden miesiąc.

* Określenie granicy między warstwą wiosenną a letnią może być przeprowadzone tylko w przybliżeniu.

Na podstawie wyżej przytoczonych danych można przyjąć, że początek czynności kambium u dębu jako też rozpoczęcie przyrostu grubości w roku 1956 przypadło na koniec kwietnia i początek maja. Podobnie było w roku 1955.

Rozpoczęcie tych procesów u dębów w niniejszych badaniach wykazuje znaczną zbieżność z danymi pochodzącymi z badań innych autorów. Wg Büsgena (1927) początek w Niemczech Środkowych przypada na drugą połowę kwietnia, u Topçuoglu (1940) w Eberswalde około 27 kwietnia, Wichrow (1954) wskazuje na drugą połowę kwietnia, a Schöber (1950) na 24 kwietnia, natomiast Krahlf-Urbach (1939) i R. Hartig (1882) na początek maja.

W badaniach niniejszych początek przyrostu drewna późnego w ciągu obu lat u większości drzew zaznaczył się w drugiej połowie czerwca, odchylenia od tego terminu wykazały jedynie dwa dęby w roku 1955, u których rozpoczęcie przyrostu drewna letniego wypadło na początek lipca.

Wyniki badań Topçuoglu (1940) potwierdzają moje dane, gdyż wg niego początek przyrostu drewna późnego dał się zauważyć również z końcem czerwca.

Czynność kambium, wg moich obserwacji, rozpoczęła się równocześnie, względnie nieco przed rozwojem pączków. W roku 1955 pęknięcie pączków zauważono 3 maja. W roku 1956 pęcznienie ich stwierdzono 27 kwietnia, zaś 2 maja pączki zaczęły się już zielenić.

Hartig (1882), Jaccard (1930), Chalk (1930), Wichrow (1954) wyrażają pogląd, że przyrost grubości rozpoczyna się przed rozwojem pączków, Trendelenburg (1939) uważa, że u drzew pierścieniowocewowych naczynia drewna wczesnego tworzą się nawet kilka tygodni przed rozwojem liści.

Mimo pewnych różnic między moimi badaniami i wyżej wymienionych autorów można sądzić, że drewno wczesne u dębów powstaje z substancji zapasowych z roku ubiegłego, natomiast drewno późne z asymilatów wyprodukowanych przez tegoroczne liście (Ernich 1953).

ZAKOŃCZENIE ROCZNEGO PRZYROSTU GRUBOŚCI

Jako widomy sprawdzian zakończenia tworzenia się rocznego pierścienia przyjąłem sytuację, w której ostatnia warstwa spłaszczonych komórek, zamykająca całoroczny słój, graniczy bezpośrednio z równo przebiegającymi warstwami komórek miazgi, znajdującej się już w spoczynku, gdyż podział komórek kambium już się zakończył. Widać to wyraźnie na preparacie mikroskopowym (ryc. 4d, 5f).

Wspomniane wyżej warstwy komórek zamykające tegoroczny słój nie zakończyły wówczas jeszcze swego pełnego rozwoju. Ich ścianki mianowicie ulegną jeszcze silnemu zgrubieniu (bardziej wyraźnemu u sosny niż u dębu), aż wytworzą się w końcu mocno zwarte szeregi spłaszczonych, grubościennych komórek, odgraniczające zdecydowaną linią tegoroczny pierścień. Ta ostatnia faza następuje znacznie później, już po całkowitym zakończeniu czynności miazgi.

Trendelenburg (1939) wyraża również pogląd, że ostatnie komórki tegorocznego słoja wytworzone przez miazgę potrzebują stosunkowo długiego czasu, zanim wyrosną i w pełni zdrewnieją. Proces ten w okresie najwyższego wzrostu trwa znacznie krócej. Brown (1912) wskazuje na fakt, że i z końcem września mogą się wytworzyć szeregi komórek drewna, nie mające jednak większego znaczenia w całorocznym przyroście, ze względu na ich małą ilość.

Wyniki badań nad zakończeniem przyrostu grubości u sosny i dębu są następujące:

Sosna

Drzewa w zwarcu 1955 r.:

1.X — u 7 drzew (nr 3, 5, 7, 8, 10, 12, 14) zauważono całkowite zakończenie przyrostu grubości.

15.X — zakończenie przyrostu u dalszych 3 drzew (nr 1, 11, 13).

Drzewa na obrzeżu lasu 1955 r.:

1.X — zakończenie przyrostu grubości u sosny nr 16.

15.X — u sosny nr 20 przyrost również ukończony.

Drzewa w zwarcu 1956 r.:

1.X — u 7 drzew (nr 5, 7, 8, 9, 10, 11, 13) przyrost grubości zakończony.

Drzewa na obrzeżu lasu 1956 r.:

1.X — u 2 drzew (nr 16, 18) przyrost zakończony,

8.X — zakończenie przyrostu u sosny nr 20.

Z zestawienia powyższego wynika, że w zasadzie nie ma większych różnic między sosnami ze zwarcia a z obrzeża lasu. Jedynie sosna nr 20 (z obrzeża) zakończyła swój przyrost najpóźniej ze wszystkich drzew. Sosna ta należała również do pierwszych, u których miazga rozpoczęła swą czynność. Tak więc jej okres przyrostu trwał najdłużej. Trzeba jednak podkreślić, że inne sosny z obrzeża (nr 16 i 18) wcześniej zakończyły swój przyrost. Ten fakt niweluje niewątpliwie różnice między drzewami w zwarcu a z obrzeża lasu, tym bardziej że w roku 1955 oprócz sosny nr 20 i inne (w zwarcu) zakończyły później tworzenie pierścieni rocznych.

W odniesieniu do sosni wyniki obu lat niewiele odbiegają od siebie. Większość drzew zakończyła swój przyrost w ostatnim tygodniu września, a niektóre tylko z początkiem października. Data zakończenia przyrostu u 4 drzew w roku 1955 (15.X) jest dlatego późniejsza, że w roku tym we wrześniu i październiku przyrost badano co 2 tygodnie, w roku 1956 co 1 tydzień. Należy więc przypuszczać, że w roku 1955 przyrost reszty drzew zakończył się również z początkiem października. Zakończenie tego procesu u sosny przypadło więc na koniec września i początek października.

Zaznaczyć trzeba, że inni autorzy podają nieco wcześniejszy termin. Topçuoğlu (1940) podaje datę 16.IX, Mer (1892) — 15.IX, Wieler (1898) stwierdza, że 8.IX przyrost nie był jeszcze zakończony, Trendelenburg (1939) od początku do połowy września, Gäumann (l. c.) i R. Hartig (1882) z początkiem września, Romell (1925) dane z trzech lat: 16.VIII, 24.VIII, 1.IX, Schöber (1950) w półn.-zach. Niemczech — 20.VIII i 26.IX.

Większość wymienionych badań pochodzi z Europy środkowej i zachodniej (Mer), gdzie okres wegetacyjny trwa niewątpliwie dłużej niż w Polsce, a mimo to przyrost zakończył się wcześniej. Jest to o tyle dziwne, że z badań Jaquiot (1950) wykonanych we Francji na *Quercus robur*, *Q. sessiliflora*, *Q. pubescens* oraz *Carpinus betulus* i *Fagus sylvatica* wynika, że przyrost grubości drzew może trwać bardzo długo w zależności od warunków pogody, nawet do końca października, urywa się dopiero z nastaniem pierwszych niskich temperatur.

Dąb

Rok 1955

- 17.IX — u 7 dębów (nr 2, 3, 4, 7, 8, 9, 10) całkowite zakończenie przyrostu,
1.X — u 3 dębów (nr 1, 5, 6) pełne zakończenie przyrostu.

Rok 1956

- 3.IX — definitywne zakończenie przyrostu u dębu nr 9,
10.IX — zakończenie przyrostu u 4 drzew (nr 1, 5, 8, 10),
17.IX — zakończenie przyrostu u 3 drzew (nr 4, 6, 7),
24.IX — zakończenie przyrostu u 2 drzew (nr 2, 3).

Rozbieżność w zakończeniu przyrostu grubości w obu latach u poszczególnych drzew była bardzo duża. Podczas gdy w roku 1955 większość dębów zakończyła swój przyrost z początkiem drugiej połowy września, a tylko niektóre z końcem tego miesiąca, to w roku 1956 zakończenie przyrostu grubości u 10 dębów trwało prawie przez cały wrzesień. Dlatego trudno tu mówić o jakiejś regularności, tak jak to miało miejsce

u sosen czy też w odniesieniu do rozpoczęcia przyrostu wiosennego i letniego u dębów.

Zakończenie przyrostu grubości u tego gatunku, według innych autorów, przypada w bardzo różnym czasie. R. Hartig (1882) w Bawarii podaje początek sierpnia, Topçuoglu (1940) w Eberswalde 25 sierpnia, Wieler (1898) w sierpniu, Schöber (1950) 6 i 14 września, Mer (1892) około 15 września. Wyniki badań Mera wykonane we Francji, gdzie okres wegetacyjny jest niewątpliwie dłuższy aniżeli w Niemczech południowych, a tym bardziej w Eberswalde, najbardziej są zbliżone do moich. Termin zakończenia przyrostu grubości podany przez niektórych z wyżej wymienionych autorów wydaje się zbyt wczesny, szczególnie jeśli go skonfrontować z badaniami Jacquiota (1950), co już podkreśliłem przy omawianiu tego zagadnienia u sosny.

Wobec bardzo silnego rozrzutu czasu zakończenia przyrostu grubości u pojedynczych dębów, na prawie cały wrzesień, trudno nawet w przybliżeniu mówić o pewnej prawidłowości co do czasu zakończenia tworzenia drewna późnego u dębów. Jedynie tylko orientacyjnie można by podać drugą połowę września.

ROZNIKA W CZASIE ROZPOCZĘCIA I ZAKOŃCZENIA PRZYROSTU GRUBOŚCI U SOSNY I DĘBU

Z porównania procesów przyrostowych u obu gatunków wynika, że u sosny rozpoczęcie, jak i zakończenie odbywało się później niż u dębu.

W latach 1955 i 1956 początek czynności miazgi i przyrostu grubości u sosny był opóźniony o 3 tygodnie w porównaniu z dębem. Tworzenie się warstwy letniej natomiast opóźnione było prawie o jeden miesiąc, a w roku 1956 nawet o przeszło 5 tygodni.

Z zakończeniem przyrostu było podobnie. W roku 1955 u dębu nastąpiło ono o 2 tygodnie wcześniej aniżeli u sosny. W roku 1956 również prędzej, ale trudno jest to bliżej określić, ponieważ proces ten u pojedynczych dębów trwał prawie przez cały wrzesień.

Powyższe dane wskazują, że sosna opóźniona jest w stosunku do dęba na wszystkich etapach przyrostu grubości. Realne dane dla wysnucia wniosków co do terminów różnych faz tego procesu mogłyby dać jedynie średnie z wieloletnich obserwacji.

PRZEBIEG PRZYROSTU GRUBOŚCI W CIĄGU OKRESU WEGETACYJNEGO

Omawiane w poprzednich rozdziałach dane dotyczące początku i zakończenia czynności miazgi, rozpoczęcia tworzenia zdrewniałych elementów drewna wczesnego, jak i późnego, mogą być uważane za pewne, ponieważ metoda pozyskiwania odpowiedniego materiału badawczego nie

budzi zastrzeżeń. Natomiast wyniki liczbowe niniejszych badań dotyczące przebiegu przyrostu grubości w ciągu okresu wegetacyjnego, nie mogą stanowić podstawy dla dokładniejszego określenia wspomnianej dynamiki przyrostu, ze względu na niedoskonałość metody pobierania odpowiedniego materiału do badań. Stąd też przedstawienie przebiegu sezonowego przyrostu grubości u sosny i dębu może mieć jedynie charakter orientacyjny, który mimo to udzielić może pożytecznych informacji o tym interesującym z punktu widzenia naukowego i praktycznego procesie.

Tabele 1, 2, 4, 5 zawierają szczegółowe dane dotyczące przyrostu promienia u poszczególnych drzew, jako też wartości średnie dla poszczególnych grup drzew.

Liczby podające przebieg przyrostu w procentach w stosunku do największego przyrostu są odpowiedniejsze aniżeli wyrażone w mm. Te pierwsze są bowiem bardziej wymowne; drugie zaś wobec zastrzeżeń wysuniętych wyżej tracą swoje znaczenie tak, jak traci znaczenie pojęcie dokładności, które w tym zagadnieniu nie może być w pełni osiągnięte.

Sosna

Przebieg przyrostu w latach 1955 i 1956 przedstawiają tabele 1 i 2:

Jak już wspomniałem na wstępie, wyznaczono do badań dwie grupy sosen. Z niektórych drzew trzeba było w roku 1956 zrezygnować i do badań użyć innych. Drzewa należące do każdej z grup rosły w podobnych warunkach, a mimo to ich przebieg przyrostu odbywał się nierównomiernie. Wynika to chociażby z różnych wartości przyrostu u poszczególnych drzew w tym samym czasie. Szczególnie duże różnice zaznaczyły się w szerokości ich całorocznych słoików. Poza tym zauważyć się daje, że w ciągu obu okresów wegetacyjnych nawet te same drzewa zachowały się różnie. Np. sosna nr 20 w roku 1955 miała największy przyrost roczny, natomiast w roku 1956 była na trzecim miejscu za nr 11 i 13, które w roku 1955 były na dalszych miejscach. Podobnie było z innymi drzewami. Widocznie poza ich indywidualnymi właściwościami pewną rolę odegrały również inne czynniki, być może mikrosiedliskowe, których natężenie ulegało zmianom.

W tabeli 1, sosny nr 5, 7 i 18 zostały wyłączone z badań nad przebiegiem przyrostu w roku 1956, bowiem robione na nich pomiary szerokości słoików były obciążone zbyt wielkim błędem.

Z ostatnich kolumn tabeli 1 i 2 oraz z krzywych średnich przyrostów grubości sosen obu grup uwidocznionych na rycinie 6 wynika, że przyrost odbywał się nieregularnie, jak gdyby skokami, co zdaje się świadczyć o poważnej roli, jaką w tym względzie odegrały czynniki pogody, o czym będzie mowa w dalszym rozdziale.

T a b e

Przyrost grubości sosen w okresie wege
Diameter growth of pines during the vegetation

Data pobrania wałków The date of taking of exper. materials	Przyrost sosen The growth				
	w z w a r c i u of the close stand				
	S 8 mm %	S 9 mm %	S 10 mm %	S 11 mm %	S 13 mm %
14.V	—	—	¹⁾	—	¹⁾
21.V	¹⁾	¹⁾	„	¹⁾	0,09 5,8
28.V	0,15 13,7	0,07 7,9	0,23 19,3	0,17 7,2	0,38 24,4
11.VI	0,45 41,3	0,15 17,0	0,32 26,8	0,35 14,9	0,44 28,3
25.VI	0,54 49,5	0,26 29,5	0,44 36,9	0,54 22,9	0,66 42,5
9.VII	— —	0,28 31,8	0,56 47,1	0,77 32,7	0,71 45,8
23.VII	0,88 80,7	0,42 47,7	0,63 52,9	1,19 50,6	0,88 56,7
6.VIII	³⁾ 0,93 85,3	³⁾ 0,53 60,2	³⁾ 0,76 63,9	1,25 53,2	³⁾ 0,91 58,7
20.VIII	0,94 86,2	0,64 72,7	0,78 65,5	— —	1,02 65,8
3.IX	0,95 87,1	0,67 76,1	1,03 86,5	1,45 61,7	1,41 90,9
10.IX	0,97 89,0	— —	1,15 96,6	1,62 68,2	1,42 91,6
17.IX	— —	— —	— —	1,82 77,4	1,50 96,8
24.IX	0,98 89,9	0,74 84,1	1,18 99,1	2,10 89,4	— —
1.X	²⁾ 1,09 100,0	²⁾ 0,88 100,0	²⁾ 1,19 100,0	²⁾ 2,35 100,0	²⁾ 1,55 100,0
8.X	— —	— —	— —	— —	— —

1) przyrost rozpoczęty, lecz niezdrewniały;
the growth begun but no turned woody;

2) przyrost całkowicie ukończony;
the growth completely stopped;

l a 1

tacyjnym 1956 (Puszcza Niepołomska)

period in the year 1956 (Puszcza Niepołomska)

w mm i % of pines				Przyrost średn. S (8, 9, 10, 11, 13) mean growth %	
z o b r z e ż a in the skirt					
S 16 mm %		S 20 mm %			
bieżący current	okresowy period.	bieżący current	okresowy period.	bieżący current	okresowy period.
1)	—	1)	—	—	—
"	—	"	—	5,8	5,8
0,18	—	0,25	—	—	—
14,0	14,0	17,1	17,1	14,5	8,7
0,29	—	0,45	—	—	—
22,6	8,6	30,8	13,7	25,7	11,2
0,50	—	0,69	—	—	—
39,0	16,4	47,3	16,5	36,3	10,6
0,59	—	0,77	—	—	—
46,1	7,1	52,7	5,4	39,3	3,0
0,60	—	0,80	—	—	—
46,9	0,8	54,8	2,1	57,7	18,4
3) 0,71	—	1) 0,91	—	—	—
55,5	8,6	62,3	7,5	64,3	6,6
0,95	—	1,01	—	—	—
74,2	18,7	69,2	6,9	72,5	8,2
1,04	—	—	—	—	—
81,2	7,0	—	—	80,5	8,0
1,15	—	—	—	—	—
89,2	8,6	—	—	86,4	5,9
—	—	1,23	—	—	—
—	—	84,2	—	87,1	0,7
—	—	1,30	—	—	—
—	—	89,1	4,9	90,6	3,5
2) 1,28	—	1,39	—	—	—
100,0	—	95,2	6,1	100,0	9,4
—	—	2) 1,46	—	—	—
—	—	100,0	4,8	—	—

3) początek drewna późnego.

the beginning of the summer wood.

T a b e l a 2

Przyrost grubości sosen w okresie wegetacyjnym 1955 (Puszcza Niepołomska)

Diameter growth of pines during the vegetation period in the year 1955 (Puszcza Niepołomska)

Data pobrania wałków The date of taking of exper. materials	Przyrost sosen w mm i % — The growth of pines in mm and %														Przyrost średni S (1 — 14) mean growth %	
	w zwarciu — of the close stand							z obrzeża — in the skirt								
	S 1 mm %	S 3 mm %	S 5 mm %	S 7 mm %	S 8 mm %	S 10 mm %	S 11 mm %	S 12 mm %	S 13 mm %	S 14 mm %	S 16 mm %		S 20 mm %			
											bieżący current	okres. period.	bieżący current	okre- sowy period.		
21.V	¹⁾ 0,06 5,6	¹⁾ 0,05 6,4	¹⁾ 0,13 10,9	—	¹⁾ 0,12 10,0	—	—	—	0,03 5,0	0,07 7,2	0,04 3,5	—	0,12 8,0	—	0,11 4,5	—
28.V	—	—	—	—	—	0,05 3,1	0,08 6,7	0,13 5,0	0,15 7,2	0,20 3,5	—	8,0	—	4,5	6,1	6,1
11.VI	0,20 18,9	0,25 32,0	0,18 15,1	0,13 16,9	0,34 28,3	0,25 15,5	0,18 15,1	0,13 22,0	0,15 15,5	0,20 17,4	0,47 31,5	23,5	0,33 13,6	9,1	19,7	13,6
25.VI	0,31 29,2	0,28 35,9	—	0,23 29,9	0,59 49,2	0,56 34,8	0,43 36,1	0,30 50,8	0,45 46,4	0,24 20,9	0,49 32,9	1,4	0,64 26,4	12,8	37,0	17,3
9.VII	0,45 42,4	0,45 57,7	0,48 40,3	0,40 51,9	0,70 58,3	—	0,57 47,9	—	0,47 48,4	0,67 58,2	0,86 57,7	24,8	0,80 33,1	6,7	50,6	13,6
23.VII	0,59 55,7	0,53 74,3	0,55 46,2	0,56 72,7	0,81 67,5	0,90 56,3	—	0,35 59,3	0,53 54,6	0,67 58,2	—	—	0,83 34,3	1,2	60,5	9,9
6.VIII	0,67 ³⁾ 63,2	0,59 ³⁾ 75,6	0,75 ³⁾ 63,0	0,61 ³⁾ 79,2	0,81 ³⁾ 67,5	0,90 ³⁾ 56,3	0,67 ³⁾ 56,3	0,35 59,3	0,57 58,8	0,69 ³⁾ 60,0	0,89 ³⁾ 59,0	—	1,13 ³⁾ 46,7	12,4	63,9	3,4
20.VIII	—	0,71 91,0	0,80 67,2	0,68 88,3	0,83 69,2	1,08 67,1	0,76 63,9	0,45 76,3	0,69 71,1	—	0,91 61,0	2,0	1,48 61,2	14,5	74,2	10,3
3.IX	0,82 77,3	0,75 96,1	0,92 77,3	0,72 93,5	0,99 82,5	1,38 85,7	0,95 79,8	0,54 91,5	—	0,96 83,4	0,99 66,4	5,4	1,80 74,4	—	85,2	11,0
17.IX	0,94 88,7	0,77 98,7	0,98 82,3	0,73 94,8	1,12 93,3	1,60 99,3	1,09 91,6	0,58 98,3	0,78 80,4	1,01 87,7	1,33 89,2	—	2,17 89,7	15,3	91,5	6,3
1.X	1,03 97,1	0,78 ²⁾ 100,0	1,19 ²⁾ 100,0	0,77 ²⁾ 100,0	1,20 ²⁾ 100,0	1,61 ²⁾ 100,0	—	0,99 ²⁾ 100,0	0,89 91,7	1,15 ²⁾ 100,0	1,49 ²⁾ 100,0	10,8	—	—	98,7	7,2
15.X	1,06 ²⁾ 100,0	—	—	—	—	—	1,19 ²⁾ 100,0	—	0,97 ²⁾ 100,0	—	—	—	2,42 ²⁾ 100,0	—	100,0	1,3

1) przyrost rozpoczęty, lecz niezdrewniał;

2) przyrost całkowicie ukończony;

3) początek drewna późnego.
the beginning of the summer wood.

Niektórzy autorzy jak: R. Hartig (1882), Brown (1912), Lode-wick (1928), Chalk (1930), Trendelenburg (1939), Wichrow (1954) — są zdania, że w sezonowym przebiegu przyrostu grubości, dają się zauważyć dwa okresy intensywniejszego przyrostu, oddzielone od siebie krótkim okresem znacznego zwolnienia tempa czynności miazgi, a niekiedy nawet jej spoczynku, będącego następstwem wewnętrznych właściwości drzew. Ten okres spoczynku Trendelenburg (1939) wyjaśnia w ten sposób, że w tym czasie miejsca, w których czynność miazgi odbywała się wolniej, dopędzają inne, w których podział komórek kambium odbywał się szybciej. Brown (1912) i Lode-wick (1928) są natomiast zdania, że pierwszy okres intensywniejszego przyrostu wyczerpuje rezerwy materiałów zapasowych, stąd konieczna jest przerwa, póki nie zostaną wyprodukowane nowe substancje z tegorocznych liści. Fischer (wg Chalka 1930) potwierdza niejako poprzedni pogląd, stwierdziwszy u drzew minimalny zapas skrobi w ciągu lata. Lode-wick (1928) uważa następnie, że przejście drewna wczesnego w drewno późne odbywa się właśnie w okresie wymienionego spoczynku.

W niniejszych badaniach można również zauważyć okresy jak gdyby wolniejszego funkcjonowania miazgi. U sosen ze zwarcia silniejsze załamanie krzywej średniego przyrostu przypadało w obu latach na 6.VIII (ryc. 6), gdy u większości drzew rozpoczęło się tworzenie drewna późnego. Jest to bardziej wyraźne w roku 1955 aniżeli w roku 1956, gdzie — oprócz załamania krzywej 6.VIII — jest ono jeszcze głębsze 9.VII. U sosen z obrzeża najgłębsze depresje krzywej przyrostu grubości przypadają w obu latach na 23.VII (wyjątek sosna nr 16 w roku 1955), tj. na czas, w którym tworzenie drewna późnego jeszcze się nie rozpoczęło. Nasuwają się jednak poważne wątpliwości, czy wymienione wyżej depresje krzywych przyrostu można identyfikować z okresem spoczynku miazgi. Okazało się bowiem, co będzie szerzej omówione w następnym rozdziale, że wszystkie większe załamania krzywych sezonowego przebiegu przyrostu nie tylko u sosny ze zwarcia i obrzeża, ale i u dębu są związane ze zmiennością elementów klimatycznych.

Dominuje więc tutaj wpływ czynników klimatycznych, a nie wewnętrznych właściwości drzew. Można by to próbować wyjaśnić przypadkową zbieżnością obu wpływów w tym samym czasie. Jest to jednak mało prawdopodobne. Wyniki niniejszych badań nie mogą więc potwierdzić istnienia okresu spoczynku miazgi u badanych drzew.

Interesujące dane podaje tabela 3 określająca intensywność przyrostu grubości badanych sosen w poszczególnych miesiącach okresu wegetacyjnego 1955 i 1956 roku.

Tabela 3

Średni przyrost grubości badanych sosen ze zwarcia i z obrzeża w poszczególnych miesiącach okresu wegetacyjnego (wartości średnie w ‰)

Diameter growth of the investigated pines of the close stand and in the skirt of the forest in separate months of the vegetation period (mean values in ‰)

Przyrost sosen — Growth of pines — ‰										
Miesiąc Month	w zwarcu of the close stand				z obrzeża in the skirt					
	1955		1956		1955		1956			
					So 20		So 16		So 20	
	bieżący current	okre- sowy period.	bieżący current	okre- sowy period.	bieżący current	okre- sowy period.	bieżący current	okre- sowy period.	bieżący current	okre- sowy period.
V	10%	10%	18%	18%	7%	7%	17%	17%	21%	21%
VI	42%	32%	37%	19%	29%	22%	42%	25%	49%	28%
VII	63%	21%	62%	25%	42%	13%	52%	10%	60%	11%
VIII	83%	20%	79%	17%	72%	30%	80%	28%	—	—
IX	99%	16%	100%	21%	95%	23%	100%	20%	95%	—
X	(15.X) 100%	1%	—	—	(15.X) 100%	5%	—	—	(8.X) 100%	5%

Z zestawienia tego wynika, że u sosen ze zwartego drzewostanu najintensywniejszy przyrost grubości przypadł na czerwiec lub lipiec, u sosen z obrzeża na sierpień.

Charakterystyczny jest fakt, że niepoślednie wartości przyrostu grubości u obu grup sosen przypadły na wrzesień. Niewątpliwą rolę odegrała tutaj korzystna pogoda, która miała duży wpływ na rozmieszczenie intensywności przyrostu w ciągu okresu wegetacyjnego, co będzie szerzej omówione w następnym rozdziale.

Interesujące byłoby określenie terminu zakończenia pewnych określonych części przyrostu grubości w stosunku procentowym do całorocznego. Podaje to następujące zestawienie w odniesieniu do sosny w zwarcu:

Części całorocznego przyrostu grubości: The parts of the seasonal diameter growth:	Przyrost zakończony: The growth ended:	
	1955	1956
25 %	15.VI	10.VI
50 %	9.VII	17.VII
75 %	21.VIII	24.VIII
100 %	1.X	1.X

Powyższe daty wskazują, że osiągnięcie pierwszej połowy przyrostu trwało krócej (około 2 miesiące). Różnice w terminie zakończenia przyrostu w obu latach są przypuszczalnie wynikiem różnicy w warunkach pogody. Data 15.X zakończenia przyrostu w roku 1955 dlatego jest tak późna, że obserwacje wykonywano co 2 tygodnie; zakończenie przyrostu nastąpiło niewątpliwie z początkiem października.

Nieliczne dane, dotyczące sezonowego przebiegu przyrostu grubości u sosny zwyczajnej, na jakie natrafiłem u innych autorów, są następujące:

K o h l (1930):	w dniu	16.V	stwierdzono	10 ⁰ / ₀	przyrostu
	"	25.V	"	25 ⁰ / ₀	"
	"	19.VI	"	50 ⁰ / ₀	"
	"	23.VII	"	75 ⁰ / ₀	"
	"	17.VIII	"	95 ⁰ / ₀	"

T o p ć u o g l u (1940):

w miesiącach:	maj	u sosny ze zwarcia	10 ⁰ / ₀	—	u sosny wolnost.	8 ⁰ / ₀
	czerwiec	" "	" 32 ⁰ / ₀		" "	58 ⁰ / ₀
	lipiec	" "	" 42 ⁰ / ₀		" "	18 ⁰ / ₀
	sierpień	" "	" 14 ⁰ / ₀		" "	13 ⁰ / ₀
	wrzesień	" "	" 2 ⁰ / ₀		" "	3 ⁰ / ₀

T r e n d e l e n b u r g (1939):

do pierwszych dni czerwca	—	30 ⁰ / ₀	rocznego przyrostu grubości
do końca czerwca	—	50 ⁰ / ₀	" " "
do końca lipca	—	75 ⁰ / ₀	" " "
do połowy września	—	100 ⁰ / ₀	" " "

S c h o b e r (1950):

w maju	—	27 ⁰ / ₀
w czerwcu	—	42 ⁰ / ₀
w lipcu	—	29 ⁰ / ₀
w sierpniu	—	2 ⁰ / ₀

Z powyższych danych wynika brak pełnej zgodności z moimi rezultatami. Ale nie ma jej również między wynikami badań u wyżej wymienionych autorów. Przyczyną tego są przypuszczalnie trudności metodyczne przy pozyskiwaniu porównywalnych materiałów badawczych.

Dąb

Tabele 4 i 5 podają liczby ilustrujące przebieg przyrostu grubości w latach 1955 i 1956.

W roku 1955 badania wykonane były tylko na dziewięciu dębach; wyłączono jeden dąb (nr 3) z powodu niedopuszczalnych błędów. I tutaj, jak przy sosnach (tab. 1 i 2), opuszczone są błędne wartości.

T a b e l a 4
Przyrost grubości dębów w okresie wegetacyjnym 1955 r. (Puszcza Niepołomska)
growth of oaks during in the vegetation period in the year 1955 (Puszcza Niepołomska)

Data pobrania wałków The date of taking of exper. materials	Przyrost dębów w mm i % The growth of oaks							Przyrost średni D (1-10) mean % growth				
	D1 mm %	D2 mm %	D3 mm %	D4 mm %	D5 mm %	D6 mm %	D7 mm %	D8 mm %	D9 mm %	D10 mm %	bieżący current	okresowy period.
30.IV	—	—	—	1)	—	1)	1)	—	—	—	—	—
7.V	0,08 4,4	0,10 7,2	—	0,16 7,5	0,16 5,2	0,16 5,7	0,12 4,7	0,09 6,9	0,08 6,0	0,11 11,8	6,6	6,6
14.V	—	0,20 14,4	—	0,18 8,3	0,45 14,6	0,26 9,2	0,18 7,0	0,22 17,0	0,21 15,8	0,24 25,8	14,0	7,4
21.V	0,32 17,8	0,38 27,3	—	0,47 21,7	0,46 14,9	0,42 14,9	0,31 12,1	0,34 26,3	0,23 17,3	0,28 30,1	20,3	6,3
28.V	0,54 30,0	0,55 39,6	—	0,66 30,4	0,79 25,6	0,69 24,5	0,65 25,3	0,42 32,5	0,45 33,8	0,56 60,2	33,5	13,2
11.VI	0,74 41,1	0,61 43,9	—	0,73 33,6	0,98 31,7	0,97 34,4	0,85 33,1	0,47 36,4	0,50 37,6	0,62 66,7	39,9	6,4
25.VI	0,80 44,4	0,86 61,9	—	0,89 41,0	1,23 39,8	1,12 39,7	1,28 49,8	0,84 65,1	0,74 55,6	0,71 76,3	52,6	12,7
9.VII	1,09 60,5	1,15 89,9	—	1,38 63,5	2,09 67,7	1,71 60,6	1,47 57,2	0,93 72,1	0,87 65,4	0,73 78,5	68,4	15,8
23.VII	1,47 81,6	1,34 96,4	—	1,46 67,2	2,33 75,4	2,12 75,2	1,63 63,4	1,10 85,3	1,14 85,7	0,81 87,1	79,7	11,3
6.VIII	—	—	—	—	2,46 79,6	—	2,00 77,8	1,15 89,1	—	0,91 97,8	86,0	6,3
20.VIII	1,77 98,3	1,38 99,2	—	1,93 88,9	2,71 87,7	2,46 87,2	—	1,17 90,7	1,27 95,5	0,93 100,0	93,4	7,4
3.IX	1,78 98,9	—	—	2,17 100,0	2,97 96,1	2,61 92,5	2,26 87,9	1,25 96,9	1,32 99,2	—	95,9	2,5
17.IX	1,79 99,4	1,39 100,0	—	2,17 100,0	3,09 100,0	2,82 100,0	2,57 100,0	1,29 100,0	1,33 100,0	—	99,9	4,0
1.X	1,80 100,0	—	—	—	2)	2)	—	—	—	—	100,0	0,1

1) przyrost rozpoczęty, lecz niezdrzewniały;
the growth begun but not turned woody;

2) przyrost całkowicie ukończony;
the growth completely stopped;

3) początek drewna późnego.
the beginning of the summer wood.

Przebieg przyrostu poszczególnych dębów w obu latach był bardziej jednolity z powodu bardziej podobnych warunków siedliskowych aniżeli u sosen. Przykładem tego mogą być nieraz znaczne różnice w szerokości słoju rocznych tych samych osobników w obu latach. Np. największą szerokość słoju w roku 1955 osiągnął dąb nr 6, natomiast w roku 1956 to samo drzewo znajdowało się dopiero na piątym miejscu, podobnie było również z innymi drzewami. Przyczyn tego faktu należy szukać w różnicach mikroklimatycznych, co było już nadmienione przy sosnach.

Z liczb przyrostowych zawartych w ostatnich kolumnach tabeli 4 i 5 oraz z krzywej średniego przyrostu grubości uwidocznionej na rycinie 7 wynika, że u dębów podobnie jak u sosen przyrost odbywał się również nie regularnie, lecz skokami.

I tu można by mówić o okresie spoczynku miazgi (w roku 1955 — 6.VIII względnie 11.VI, w roku 1956 — 23.VII) między dwoma okresami intensywniejszego przyrostu. Ponieważ jednak istnieje wyraźny związek między załamaniem krzywej przyrostowej a zmiennością elementów klimatycznych, wprawdzie tylko w roku 1956, badania niniejsze również w odniesieniu do dębów nie potwierdzają poglądów o istnieniu tzw. okresu spoczynku miazgi.

W odróżnieniu od sosen, u dębów brak jest zbieżności w przebiegu krzywych średnich przyrostów okresowych w obu latach.

Intensywność przyrostu w poszczególnych miesiącach przedstawia tabela 6.

Nateżenie przyrostu grubości w poszczególnych miesiącach miało podobny charakter, maksimum przypadło na maj — czerwiec (1956), względnie przesunęło się jeszcze na lipiec (1955).

Odgrywały tu niewątpliwie rolę warunki pogody.

Inni autorzy charakteryzują następująco rozmieszczenie intensywności przyrostu grubości w poszczególnych okresach sezonu:

Według Schredera (1879 cyt. za Wichrowem 1954) maksimum przyrostu u dębu przypada na czas od 1.VI do 10.VII.

Trendelenburg (1939) podaje następujące dane:

do końca kwietnia	—	10% przyrostu
do połowy maja	—	25% „
koniec pierwszej dekady czerwca	—	50% „
„ trzeciej „ „	—	70% „
„ lipca	—	85% „
„ sierpnia	—	100% „

Topcuoglu (1940) uważa, że:

w maju	powstało	33% przyrostu
w czerwcu	„	33% „
w lipcu	„	26% „
w sierpniu	„	8% ..

T a b e

Przyrost grubości dębów w okresie wege
Diameter growth of oaks during the vegetation

Data pobrania wałków The date of taking of exper. materials	P r z y r o s t d ł ę b T h e g r o w				
	D 1	D 2	D 3	D 4	D 5
	mm %	mm %	mm %	mm %	mm %
16.IV	—	—	—	—	—
23.IV	—	—	—	¹⁾	—
30.IV	¹⁾	¹⁾	—	0,18 10,2	¹⁾
7.V	0,14 12,3	0,10 9,4	¹⁾	0,25 14,3	0,13 5,2
14.V	0,18 15,8	0,15 14,1	„	0,32 18,3	0,20 8,0
21.V	0,31 27,1	0,23 21,7	„	0,39 22,3	0,29 11,7
28.V	0,34 29,8	0,48 45,2	0,24 12,4	0,56 32,0	0,69 27,8
11.VI	0,40 35,1	0,62 58,4	0,44 27,3	³⁾ 0,65 37,1	0,88 35,4
25.VI	³⁾ 0,82 71,9	³⁾ 0,76 71,7	³⁾ 0,75 38,6	1,03 58,8	³⁾ 1,42 57,2
9.VII	0,93 81,5	0,78 73,5	0,94 48,4	1,05 60,0	1,53 61,7
23.VII	1,02 89,4	0,83 78,3	0,95 49,0	1,12 64,0	1,65 66,5
6.VIII	1,07 93,8	0,84 79,2	1,04 58,8	— —	— —
20.VIII	1,13 99,1	— —	1,46 75,2	1,54 88,0	2,44 98,3
3.IX	1,14 100,0	0,87 82,0	1,92 99,0	1,70 97,1	— —
10.IX	²⁾ 1,14 100,0	1,06 100,0	— —	1,75 100,0	2,48 ²⁾ 100,0
17.IX	— —	— —	1,93 99,4	²⁾ — —	— —
24.IX	— —	²⁾ — —	²⁾ 1,94 100,0	— —	— —

¹⁾ przyrost rozpoczęty, lecz niezdrewniały;
the growth begun but not turned woody;

²⁾ przyrost całkowicie ukończony;
the growth completely stopped;

la 5

tacyjnym 1956 (Puszcza Niepołomska)

period in the year 1956 (Puszcza Niepołomska)

ó w w m m i % t h o f o a k s					Przyrost średni D (1 — 10) mean growth %	
D 6 mm %	D 7 mm %	D 8 mm %	D 9 mm %	D 10 mm %	bieżący current	okresowy period.
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
0,05 2,8	0,13 7,5	1)	1)	1)	6,8	6,8
0,06 3,4	0,15 8,6	0,15 14,4	„	„	7,5	0,7
0,18 10,2	0,16 9,1	0,16 15,3	0,23 29,5	0,20 22,2	15,8	8,3
0,21 11,9	0,19 19,1	0,21 20,1	0,38 48,7	0,30 33,3	24,0	8,2
0,39 22,1	0,38 21,8	0,42 40,3	0,43 55,1	0,33 36,7	32,3	8,3
0,76 43,1	0,62 35,6	0,48 46,1	0,62 79,5	0,40 44,4	44,2	11,9
3) 0,98 55,7	3) 0,84 48,3	3) 0,55 52,9	3) 0,67 85,9	3) 0,61 67,8	60,9	16,7
1,28 72,7	1,13 64,9	0,67 64,4	0,73 93,6	0,76 84,4	70,5	9,6
1,36 82,9	1,14 65,5	—	0,76 97,4	0,78 86,7	74,4	3,9
1,56 88,6	1,26 72,4	0,96 92,3	0,78 100,0	0,83 92,2	84,7	10,3
1,59 90,3	1,55 89,1	0,99 95,1	—	0,85 94,4	91,2	6,5
1,76 100,0	1,60 91,9	1,04 100,0	2)	0,90 100,0	96,2	5,0
—	1,74 100,0	2)	—	2)	100,0	3,8
2)	2)	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—

3) początek drewna późnego.

the beginning of the summer wood.

Schober (1950) podaje następujące liczby:

do końca kwietnia	4%
w maju	17%
w czerwcu	22%
w lipcu	33%
w sierpniu	24%

Tabela 6

Średni przyrost grubości badanych dębów w poszczególnych miesiącach okresu wegetacyjnego
(wartości średnie w ‰)

Mean diameter growth of the investigated oaks in separate months of the vegetation period
(mean values in ‰)

Miesiąc Month	Przyrost dębów The growth of oaks			
	1955		1956	
	bieżący current ‰	okresowy period. ‰	bieżący current ‰	okresowy period. ‰
IV	—	—	7	7
V	35	35	35	28
VI	59	24	65	30
VII	84	25	81	16
VIII	95	11	95	14
IX	100	5	(24.IX) 100	5

Wyżej przytoczone wyniki badań u cytowanych autorów różnią się dość znacznie między sobą. Podobnie jak u sosen, tak i u dębów, przyczyny należy szukać w różnicach siedliskowych, a następnie w trudnościach metodycznych pozyskiwania dobrego materiału badawczego. Najbardziej zbliżone do moich wyników są dane Topçuoglu.

Niżej podane zestawienie określa terminy zakończenia pewnych części przyrostu grubości u dębów:

Części całorocznego przyrostu grubości: The parts of the seasonal diameter growth:	Przyrost zakończony: The growth ended:	
	1955	1956
25 %	25.V	22.V
50 %	22.VI	16.VI
75 %	17.VII	24.VII
100 %	1.X	3—24.XI

I w tym przypadku, podobnie jak u sosny, pierwsza połowa przyrostu została wcześniej osiągnięta (ok. 1 1/2 miesiąca) aniżeli druga (ok. 3 miesiące). Różnice terminów zakończenia były spowodowane najprawdopodobniej różnicami warunków pogody w tym czasie.

Porównując procesy przyrostowe u sosen i u dębów trzeba jeszcze podkreślić, że proces ten u dębów przebiegał prędzej, ale też i wcześniej się zakończył aniżeli u sosen. W ogóle cały cykl przyrostowy u sosen był przesunięty w kierunku późniejszym w stosunku do dębów.

Należy jeszcze omówić charakterystyczne zjawisko występujące głównie u dębów. Mianowicie u niektórych drzew (w roku 1955: nr 5 i 6, w roku 1956: nr 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10) z końcem sezonu, tj. we wrześniu, w szczególności zaś w drugiej jego połowie, nastąpiło obniżenie krzywej przyrostu bieżącego (tabela 4 i 5), co nasuwać może przypuszczenie, że jest to wynikiem błędu metodycznego.

Tymczasem podobne fakty w badaniach swoich zauważył również Romell (1925) z końcem września. Zaznaczyło się to szczególnie wyraźnie przy stosowaniu metody pomiaru obwodu drzewa, a więc błąd, jaki mógł być popełniony przy pobieraniu próbek do badań za każdym razem w innym punkcie powierzchni pnia, odpadł tutaj całkowicie. Także i Friedrich (1897) stosując metodę pomiaru obwodu zauważył późną jesienią podobne zjawisko. To samo stwierdził Chalk (1930) u dąglezji oraz Schöber (1950) u szeregu gatunków w sierpniu. Friedrich stara się wytłumaczyć to zjawisko procesami parowania w okresach ciepłych, które prowadzą do zmniejszenia objętości jeszcze mało zdrewniałych komórek nowego pierścienia. Nie jest wykluczone, że pewna doza słuszności może się mieścić w tej próbie wyjaśnienia omawianego wyżej zjawiska.

ZAŁĘŻNOŚĆ PRZEBIEGU PRZYROSTU GRUBOŚCI OD ZMIENNOŚCI ELEMENTÓW METEOROLOGICZNYCH

A. Początek przyrostu grubości

Rozpoczęcie podziału komórek miazgi przypada u dębu szypułkowego przed rozwojem liści, a więc wcześniej aniżeli u sosny zwyczajnej, u której proces ten rozpoczyna się już po rozwoju szpilek. Tych różnic nie można oczywiście wyjaśnić sprzyjającymi warunkami pogody, gdyż zależą one od wewnętrznych właściwości drzew.

Natomiast w ramach poszczególnych gatunków istnieją z roku na rok różnice w czasie rozpoczęcia czynności kambium, które wahają się w pewnych określonych granicach. Powstają one niewątpliwie pod wpływem zmienności warunków pogody. Duże znaczenie mają przy tym i indywi-

dualne właściwości poszczególnych drzew, reagujących w swoisty sposób na zespołowe działanie elementów meteorologicznych. Na to wskazują różnice w czasie rozpoczęcia się dzielenia komórek miazgi u poszczególnych drzew zarówno sosny, jak i dębu.

Zależność rozpoczęcia czynności miazgi od elementów pogody u obu gatunków przedstawia się następująco:

Sosna

Rok 1955. Czynność miazgi u 6 drzew rozpoczęła się pod koniec tygodnia, między 15 a 21 maja, u reszty między 21 a 28 maja. Pierwszy tydzień (14—20.V) pod względem temperatury powietrza (tab. 7) nie różnił się wiele od poprzedniego. Jedynie tylko temperatura minimalna w okresach 7—13.V oraz 23—29.IV obniżała się niekiedy poniżej 0°C , a nawet dochodziła do $-1,8^{\circ}\text{C}$, co nie było przypuszczalnie bez znaczenia dla procesów życiowych drzew. Wprawdzie w dwóch następnych tygodniach (21—27.V i 28.V—3.VI) zauważyć można było również obniżenia temperatur minimalnych poniżej 0°C , ale sięgały one co najwyżej $-0,2^{\circ}\text{C}$.

Tydzień (14—20.V) poprzedzający rozpoczęcie przyrostu grubości wykazał natomiast dużą stosunkowo ilość opadów, wynoszącą 43,2 mm, a przewyższającą w bardzo dużym stopniu sumę opadów poprzednich 4 tygodni.

Rok 1956. Początek czynności miazgi u 4 drzew przypadł pod koniec tygodnia między 7 a 14, a u 3 drzew na okres między 14 a 21 maja. W ciągu pierwszego tygodnia zaznaczył się całkiem wyraźny wzrost temperatury w porównaniu do poprzednich (tab. 8).

Temperatura minimalna nie spadła ani razu poniżej 0°C . Opad wynoszący w tym czasie 7,4 mm był znacznie wyższy aniżeli w poprzedzających tygodniach. Następny tydzień (14—20.V), w ciągu którego rozpoczął się przyrost u większości sosen, wykazał podobne warunki termiczne, poza tym o wiele większy opad wynoszący 27,6 mm i przekraczający znacznie sumę opadów poprzednich czterech tygodni.

Na marginesie dwuletnich obserwacji trzeba nadmienić, że między sosnami w zwarciu a z obrzeża lasu pod względem początku przyrostu grubości nie było żadnych istotnych różnic.

Z danych pochodzących z lat 1955 i 1956 wynika, że na rozpoczęcie czynności miazgi mógł wpłynąć opad, przy narastaniu korzystnych warunków termicznych.

W roku 1956 miazga uaktywniła się wcześniej aniżeli w roku 1955, ponieważ zmiana warunków pogody na korzystne dla procesów życiowych nastąpiła wcześniej.

Być może, że opad dla sosen badanych posiadał dlatego takie zna-

czenie, ponieważ drzewa, tak w zwarciu, jak i z obrzeża, rosły na glebie piaszczystej z warstwą orsztynu na głębszych poziomach. Warstwa ta uniemożliwiała (u drzew z obrzeża), względnie utrudniała (u drzew w zwarciu) podsiąkanie wody gruntowej do strefy korzeni. Badane sosny były więc zdane głównie na korzystanie z wody opadowej.

Dąb

Rok 1955. Podział komórek miazgi u 3 drzew (ślady) rozpoczął się z końcem kwietnia, u 7 dębów w pierwszym tygodniu maja.

Temperatury tygodnia (23—29.IV) poprzedzającego rozpoczęcie przyrostu grubości (tab. 7) wykazywały wyraźny wzrost w porównaniu z tygodniem poprzednim, tj. 16—22.IV. Następny zaś tydzień (30.IV—6.V) przyniósł duże ocieplenie. Temperatury minimalne spadały wprawdzie niekiedy poniżej 0°C , dało się jednak zauważyć tendencje do stałego polepszania się warunków ciepłych. Opad w tym czasie wynosił 8,1 mm. W poprzedzającym tygodniu 29,6 mm.

Rok 1956. Podobnie jak u sosen, przyrost rozpoczął się wcześniej niż w roku 1955, bo już 23.IV zauważono początek czynności miazgi u jednego dębu. W następnym tygodniu (23—30.IV) rozpoczął się przyrost u ośmiu drzew i wreszcie u jednego drzewa między 30.IV a 7.V. Z powodu zbyt rozstrzelonego czasu uaktywnienia się miazgi u poszczególnych dębów, związek z warunkami pogody ujawnił się mniej wyraźnie.

Tydzień (16—22.IV) poprzedzający początek przyrostu niewiele różnił się termicznie od wcześniejszego (9—15.IV). Jedynie tylko temperatury minimalne panujące w czasie tego ostatniego były niższe (tab. 8) i być może, że one właśnie nie pozwoliły na wcześniejsze rozpoczęcie czynności miazgi. Tydzień 23—29.IV poprzedzający początek przyrostu u zdecydowanej większości drzew był wyraźnie cieplejszy od wcześniejszego tak pod względem temperatur średnich dobowych, jak i średnich submaksymalnych, natomiast temperatury minimalne utrzymywały się na tym samym poziomie opadając w niektórych dniach poniżej 0°C . Opad w tym czasie był bardzo mały.

Z danych pochodzących z lat 1955 i 1956 zdaje się wynikać, że na rozpoczęcie czynności miazgi u dębów wpływ miały przede wszystkim warunki termiczne. Temperatury minimalne odgrywały tu prawdopodobnie mniejszą rolę, ponieważ u dębów przyrost grubości rozpoczynał się przed rozwojem liści, niebezpieczeństwo temperatur poniżej 0°C było więc w tym czasie nieduże.

Należy przypuszczać, że opad odegrał u dębów mniejszą rolę aniżeli u sosen. Profil glebowy dębów na głębokości 60 cm wykazywał warstwę

T a b e

Temperatury powietrza średnie okresowe, parowanie i
Mean temperatures of the air, evaporation and precipitation

Okresy tygodniowe Weekly periods	Temperatury °C Temperatures °C				Ewaporacja Evaporation sum — mm	Opad Precipitation sum — mm
	średnie dobowe daily mean	średnie submaks. 13 h submax. mean	średnie minim. minim. mean	absol. minim.		
16.IV — 22.IV	2,2	3,8	—	—	—	29,6
23.IV — 29.IV	7,7	12,1	0,9	— 1,4	47,1	8,1
30.IV — 6.V	15,2	20,2	7,7	5,4	60,5	1,8
7.V — 13.V	11,9	17,8	3,9	— 1,8	70,0	4,6
14.V — 20.V	11,8	16,0	4,3	0,3	52,8	43,2
21.V — 27.V	9,3	12,6	2,7	— 0,1	38,3	13,0
28.V — 3.VI	8,9	11,2	4,1	— 0,2	26,4	60,4
4.VI — 10.VI	16,4	21,6	8,3	2,8	50,9	6,7
11.VI — 17.VI	12,1	14,9	6,5	1,9	28,8	8,9
18.VI — 24.VI	17,6	21,1	11,7	2,0	36,6	65,9
25.VI — 1.VII	17,4	21,5	12,6	8,5	36,4	2,1
2.VII — 8.VII	17,5	20,8	12,9	9,3	35,2	58,3
9.VII — 15.VII	18,4	22,6	13,3	9,3	32,3	37,0
16.VII — 22.VII	20,0	25,5	14,0	9,3	40,7	5,6
23.VII — 29.VII	16,8	21,0	13,2	8,4	34,3	8,7
30.VII — 5.VIII	17,6	20,4	14,4	13,6	21,2	133,3
6.VIII — 12.VIII	16,5	19,8	12,7	10,3	29,1	33,5
13.VIII — 19.VIII	17,9	22,7	11,0	7,5	34,6	1,5
20.VIII — 26.VIII	17,7	24,1	11,4	7,7	41,9	13,9
27.VIII — 2.IX	17,6	22,4	12,2	10,5	24,2	8,9
3.IX — 9.IX	17,9	24,8	10,8	9,3	37,8	0,6
10.IX — 16.IX	15,5	21,6	10,3	6,2	¹⁾ 35,5	21,3
17.IX — 23.IX	10,8	15,9	6,3	4,1	20,3	0,0
24.IX — 30.IX	9,7	14,0	6,4	4,2	12,9	15,6
1.X — 7.X	11,0	16,8	6,2	1,3	19,2	0,0
8.X — 14.X	11,0	11,6	9,2	6,6	4,9	11,7

¹⁾ suma z 6 dni.

1 a 7

opad wg stacji meteorologicznej Niepołomice — rok 1955

from the meteorological station Niepołomice — year 1955

Okresy dwutygodniowe Two weeks periods	Temperature °C Temperatures °C				Ewaporacja Evaporation sum — mm	Opad Precipitation sum — mm
	średnie dobowe daily mean	średnie submaks. 13 h submax. mean	średnie minim. minim. mean	absol. minim.		
16.IV — 29.IV	9,9	15,9	—	—	—	37,7
30.IV — 13.V	13,5	19,0	5,8	— 1,8	130,5	6,4
14.V — 27.V	10,5	14,3	3,5	— 0,1	91,1	53,2
28.V — 10.VI	12,6	16,4	6,2	— 0,2	77,3	66,4
11.VI — 24.VI	14,8	18,0	9,1	1,9	65,4	74,8
25.VI — 8.VII	17,4	21,1	12,8	8,5	71,6	60,4
9.VII — 22.VII	19,2	24,0	13,6	9,3	73,0	42,6
23.VII — 5.VIII	17,2	20,7	13,8	8,4	55,5	142,0
6.VIII — 19.VIII	17,2	21,2	11,8	7,5	63,7	35,0
20.VIII — 2.IX	17,6	23,2	11,8	7,7	66,1	22,8
3.IX — 16.IX	16,7	23,2	10,5	6,2	73,3	21,9
17.IX — 30.IX	10,2	14,9	6,5	4,1	33,2	15,6
1.X — 14.X	11,0	14,1	7,7	1,3	24,1	11,7

Temperatury powietrza średnie okresowe, wilgotność względna, paro
Mean periodical temperatures of the air, relative humidity, evaporation

Okresy tygodniowe Weekly periods	Temperature °C Temperatures °C				Wilgot. wzgl. Relat. humid. %	Ewapo- racja Evapo- ration sum mm	Opad Precipi- tation sum mm
	średnie dobowe daily mean	średnie submaks. 13 h submax. mean	średnie minim. minim. mean	absol. minim.			
9.IV — 15.V	7,3	11,1	—0,3	—3,9	—	—	9,7
16.IV — 22.IV	7,4	10,8	2,6	—2,6	69	39,6	4,2
23.IV — 29.IV	9,4	13,8	2,4	—2,5	69	34,8	0,9
30.IV — 6.V	9,0	11,9	5,0	2,2	74	¹⁾ 22,1	3,0
7.V — 13.V	13,1	17,2	6,6	1,3	65	46,0	7,4
14.V — 20.V	11,0	15,3	6,1	2,5	72	32,0	27,6
21.V — 27.V	14,5	20,3	5,6	2,1	63	52,9	16,5
28.V — 3.VI	16,7	21,8	8,6	7,7	60	58,3	0,0
4.VI — 10.VI	19,4	26,6	11,0	9,4	62	59,4	33,2
11.VI — 17.VI	16,2	21,0	8,5	2,3	70	45,4	8,6
18.VI — 24.VI	14,1	15,8	10,7	7,5	88	13,8	55,2
25.VI — 1.VII	13,8	16,5	9,8	7,9	81	¹⁾ 19,2	24,7
2.VII — 8.VII	16,5	18,9	12,4	9,8	77	37,9	15,8
9.VII — 15.VII	18,6	24,5	9,8	6,6	63	58,5	3,1
16.VII — 22.VII	16,6	21,2	11,7	7,3	77	35,1	5,5
23.VII — 29.VII	17,0	22,3	12,1	10,7	72	43,6	8,4
30.VII — 5.VIII	15,5	19,5	9,4	5,0	72	40,2	15,6
6.VIII — 12.VIII	15,9	21,8	9,0	6,1	75	35,3	18,0
13.VIII — 19.VIII	17,0	21,8	10,4	6,0	68	46,4	8,2
20.VIII — 26.VIII	16,1	19,9	11,2	6,7	77	38,9	25,7
27.VIII — 2.IX	17,2	22,7	9,7	4,0	75	43,9	10,2
3.IX — 9.IX	15,3	21,0	10,4	8,1	79	32,5	7,3
10.IX — 16.IX	12,4	16,9	7,1	4,2	80	26,0	12,1
17.IX — 23.IX	9,0	15,8	2,9	—1,4	78	27,2	9,9
24.IX — 30.IX	13,8	20,6	5,2	—1,1	70	54,2	0,0
1.X — 7.X	12,1	16,7	6,1	1,4	77	35,4	55,5
8.X — 14.X	6,1	10,1	0,8	—2,1	76	28,0	0,6
15.X — 21.X	7,6	13,0	2,6	—3,3	83	—	9,2

¹⁾ suma z 6 dni.

l a 8

wanie i opad wg stacji meteorologicznej Niepołomice — rok 1956
and precipitation from the meteorological station Niepołomice, year 1956

Okresy dwutygo- dniowe Two weekly periods	Temperatury °C Temperatures °C				Wilgot. wzgl. Relat. humid. %	Ewapo- racja Evapo- ration sum mm	Opad Precipi- tation sum mm
	średnie dobowe daily mean	średnie submaks. 13 h submax. mean	średnie minim. minim. mean	absol. minim.			
16.IV — 29.IV	8,4	12,3	2 5	—2,6	69	74,4	5,1
30.IV — 13.V	11,0	14,5	5,8	1,3	69	68,1	10,4
14.V — 27.V	12,7	17,8	5,8	2,1	67	84,9	44,1
28.V — 10.VI	18,0	24,2	9,8	7,7	61	117,7	33,2
11.VI — 24.VI	15,1	18,4	9,6	2,3	79	59,2	63,8
25.VI — 8.VII	15,1	17,7	11,1	7,9	79	57,1	40,5
9.VII — 22.VII	17,6	22,8	10,7	6,6	70	93,6	8,6
23.VII — 5.VIII	16,2	20,9	10,7	5,0	72	83,8	24,0
6.VIII — 19.VIII	16,4	21,8	9,7	6,0	71	81,7	26,2
20.VIII — 2.IX	16,6	21,3	10,4	4,0	76	82,8	35,9
3.IX — 16.IX	13,8	18,9	8,7	4,2	79	58,5	19,4
17.IX — 30.IX	11,4	18,2	4,0	—1,4	74	81,4	9,9
1.X — 14.X	9,1	13,4	3,4	—2,1	76	63,4	56,1

pylastą, w której tkwiły głęboko korzenie drzew. Były więc korzystne warunki dla podsiąkania wody gruntowej, będącej niewątpliwie ważnym źródłem wilgotności dla zbadanych dębów.

Jaccard (1930) jest zdania, że rozpoczęcie czynności kambium da się powiązać z temperaturą, wilgotnością powietrza, ze światłem itp. Wichrow (1954) podaje, że dla rozpoczęcia przyrostu drewna wiosennego u dębu miarodajną jest temperatura średnia dobowa powyżej 5°C , zaś dla warstwy letniej analogiczna temperatura powyżej 15°C . Schöber (1950) uważa, że przyrost grubości rozpoczął się po przekroczeniu granicznej temperatury wynoszącej 10°C .

Badania niniejsze potwierdzają częściowo poglądy Wichrowa i Schöbera dotyczące przyrostów drewna wiosennego. Nie zdołałem natomiast zauważyć żadnego związku pomiędzy warunkami meteorologicznymi a początkiem przyrostu warstwy letniej pierścienia rocznego, tak u sosny, jak i u dębów.

B. Sezonowy przebieg przyrostu grubości

Zależność przyrostu grubości od elementów meteorologicznych badałem przez porównywanie krzywej średniego przyrostu badanych drzew z krzywą średnich wartości danego elementu meteorologicznego za okres, jaki upłynął między najbliższymi dwoma dniami pobierania wałków do badań, a więc za okres 1 lub 2 tygodni. Z badań niniejszych wynika, że nie tylko temperatura powietrza, ale i opad, w zależności od warunków siedliskowych, mógł wywrzeć decydujący wpływ na przebieg przyrostu. Wyniki badań są następujące:

Sosna

W zwarciu:

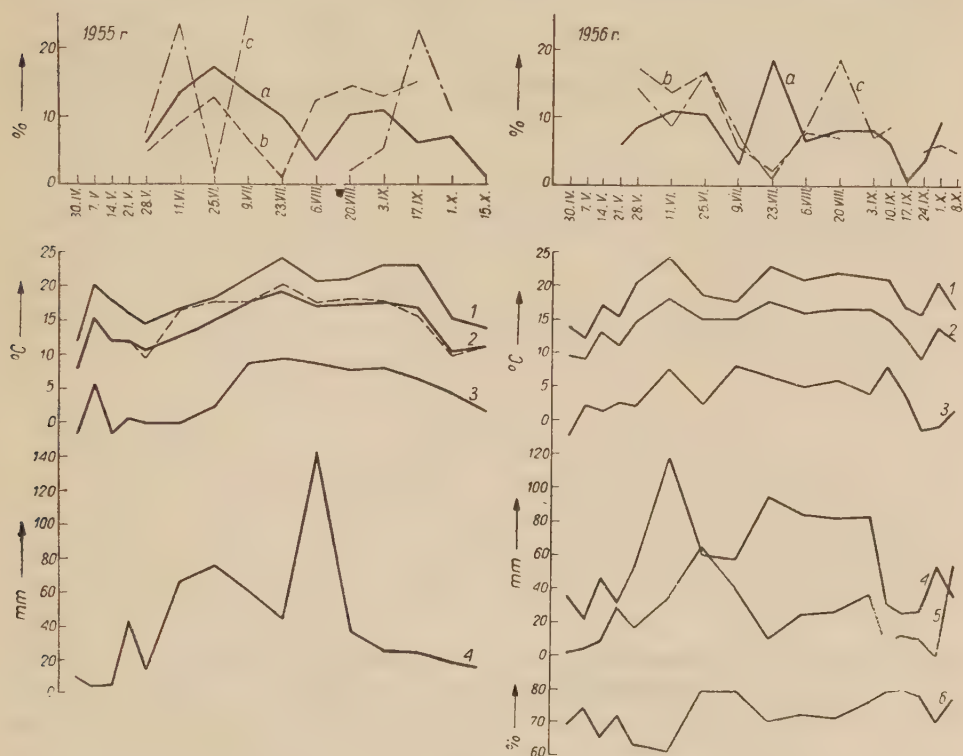
Rok 1955. Z ryciny 6 wynika, że w okresie tworzenia się warstwy wiosennej aż do czasu powstawania warstwy letniej, tj. od 28.V—23.VII, dominował wpływ opadu, wyrażony sumą z okresów dwutygodniowych, poprzedzających dni pobierania próbek do badań. Pewne znaczenie w tym czasie miała również temperatura średnia dobowa tygodnia poprzedzającego dzień wykonania nawierceń. Natomiast w czasie tworzenia się warstwy letniej, tj. od 23.VII zaznaczył się tylko wpływ temperatury tak średniej dobowej, jak i średniej submaksymalnej. Wpływ temperatur minimalnych nie ujawnił się w ogóle.

Rok 1956. Na ryc. 6 zaznacza się wyraźna zależność krzywej przyrostu od temperatury średniej submaksymalnej i średniej dobowej z 1 lub 2 tygodniowych okresów, jakie dzieliły od siebie dni pobierania próbek do badań. Widać również znaczną zgodność z krzywą parowania, tj. z sumą

parowania z tych samych okresów co temperatura powietrza. Ta ostatnia zależność jest wynikiem niewątpliwie tego, że parowanie w bardzo dużym stopniu zależy od temperatury powietrza i dlatego jego krzywa jest równoległa z krzywą temperatury. Natomiast stymulujący wpływ parowania na przyrost grubości w warunkach glebowych raczej ubogich w wodę budzić musi poważne zastrzeżenia. Natomiast opady i temperatury minimalne nie ujawniły swego znaczenia.

Z obrzeża lasu:

Rok 1955. Z ryc. 6 wynika bardzo duża zgodność krzywej przyrostu (tylko sosna nr 20 — materiał dotyczący sosny nr 16 jest zdekompento-



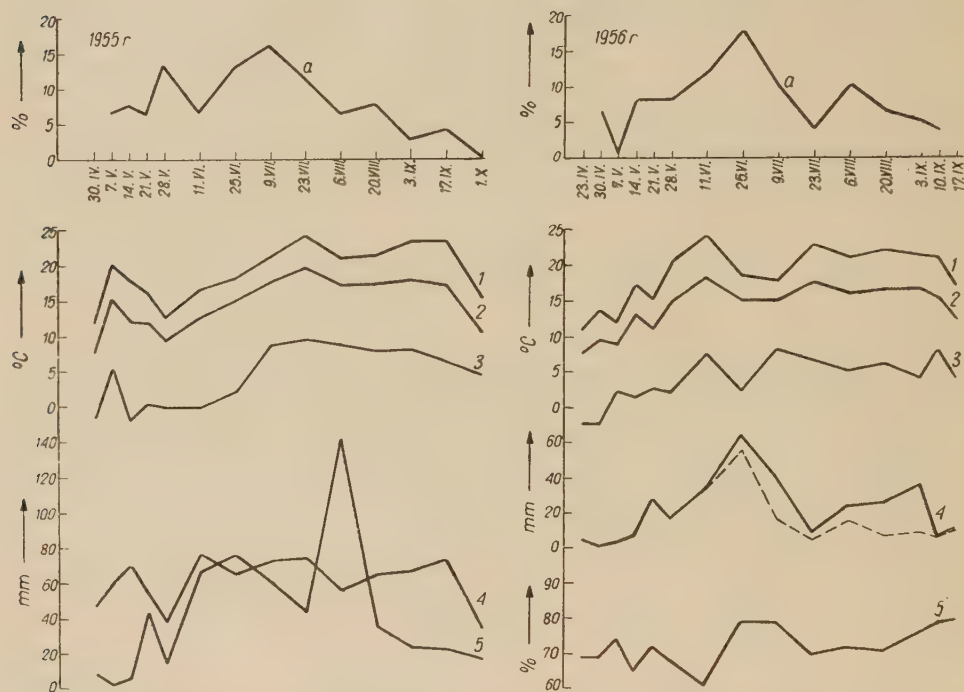
Ryc. 6. Krzywe sezonowego przebiegu przyrostu grubości u sosen w zwarcu i z obrzeża oraz krzywe elementów pogody w latach 1955 i 1956

The curves of the seasonal course of the diameter growth of pines in the skirt and from the close stand and the curves of the weather elements in years 1955 and 1956

a, b, c — krzywe przebiegu przyrostu grubości u sosen: a — w zwarcu (rok 1955 średnia z 10 drzew, rok 1956 średnia z 5 drzew), b — z obrzeża u sosny nr 20, c — z obrzeża u sosny nr 16; 1 — temperatura śr. submaksymalna (śr. z 1 wzgl. 2 tygodni poprzedzających czas pobrania próbek); 2 — temp. śr. dobowa (——— śr. z 1 wzgl. 2 tygodni, — — — — śr. z ostatniego tygodnia poprzedzającego czas pobrania próbek); 3 — temp. abs. min. z 1 wzgl. 2 tygodni; 4 — parowanie, suma z 1 wzgl. 2 tygodni; 5 — opad, suma z 1 wzgl. 2 tygodni; 6 — wilgotność względna, śr. z 1 wzgl. 2 tygodni

wany) z krzywą sumy opadów z okresów dwutygodniowych. Dominujący wpływ opadów na przyrost grubości przypadł w okresie tworzenia się drewna wczesnego aż do rozpoczęcia kształtowania się cewek drewna późnego (21.V do 6.VIII). Później takiej zależności już nie było. Brak było również jakiegokolwiek związku z temperaturą powietrza.

Rok 1956. W ryc. 6 w odniesieniu do sosen nr 16 i 20 zaznacza się podobna zależność jak w roku 1955. Dominujący wpływ miał opad w cza-



Ryc. 7. Krzywe sezonowego przebiegu przyrostu grubości u dębów oraz krzywe elementów pogody w latach 1955 i 1956

The curves of the seasonal course of the diameter growth of oaks and the curves of the weather elements in years 1955 and 1956

a — krzywe przebiegu przyrostu grubości u dębów (rok 1955 średnia z 9 drzew, rok 1956 śr. z 10 drzew); 1 temperatura średnia submaksymalna (śr. z 1 wzgl. 2 tygodni poprzedzających czas pobrania próbek do badań); 2 — temp. średnia dobowa (śr. z 1 wzgl. 2 tygodni); 3 — temp. abs. minim. (z 1 wzgl. 2 tygodni); 4 opad, suma: — z 1 wzgl. 2 tygodni, — — — z ostatniego tygodnia poprzedzającego czas pobrania próbek; 5 — wilgotność względna (śr. z 1 wzgl. 2 tygodni)

się tworzenia się drewna wiosennego aż do różnicowania się warstwy letniej, tj. 28.V do 6.VIII. Istnieje również pewna zależność od wilgotności względnej, ale tylko w roku 1956, bowiem rok 1955 tego nie potwierdza.

Na podstawie analizy wyników dwuletnich badań nad sosnami w zwarcu i z obrzeża lasu dochodzi się do wniosku, że na przyrost grubości sosen ze zwarcia wpływ miała temperatura powietrza i to średnia dobowa oraz średnia submaksymalna. Ten wpływ był całkiem wyraźny w roku 1956, nieco mniej w roku 1955. Znaczenie opadów w okresie przyrostu drewna wczesnego w roku 1955 nie zostało potwierdzone w roku 1956, mimo że rok ten był znacznie suchszy w okresie przyrostu warstwy wiosennej.

U sosen z obrzeża lasu oddziaływanie temperatury w ogóle się nie zaznaczyło, natomiast w obu latach przejawiał się bardzo wyraźnie wpływ opadów, ale tylko w okresie tworzenia się drewna wczesnego aż do różnicowania się cewek drewna późnego.

Okres tworzenia się drewna wczesnego jest tym, w którym drzewo potrzebuje najwięcej wody. Nic więc dziwnego, że właśnie w tym czasie zaznaczył się wyraźny wpływ opadów.

Tę bardziej zdecydowaną zależność przyrostu grubości u sosen z obrzeża lasu od ilości opadów, w stosunku do sosen ze zwarcia, można by wyjaśnić przystosowaniem się tych drzew do warunków siedliskowych.

W pierwszej części niniejszego rozdziału zaznaczyłem już, że w profilach glebowych obu grup sosen występowały warstwy rudawca z tym, że u drzew z obrzeża rudawiec był w pełni wykształcony, zbity, uniemożliwiający podsiąkanie wody gruntowej, zaś u drzew w zwarcu orsztyń dopiero się tworzył, tak że miejscami korzenie mogły, przynajmniej w pewnym stopniu, korzystać z wody kapilarnej. Należy więc przypuszczać, że u drugiej grupy znaczenie opadów było mniejsze, gdyż nie były one jedynym źródłem wody. Drzewa zaś grupy pierwszej zdane były wyłącznie na opad atmosferyczny. Ten stan rzeczy znalazł swój wyraz w zależności przyrostu grubości od opadów.

Korzystne warunki termiczne były ważniejsze dla sosen ze zwarcia aniżeli dla drzew z obrzeża. Te ostatnie bowiem rosły na brzegu lasu o wystawie południowej, korzystały więc w znacznie większym stopniu z promieniowania słonecznego, ich stosunki cieplne były więc lepsze aniżeli w zwarcu.

Wychylenia temperatur w kierunku minimów u wszystkich badanych sosen nie przejawiały swego wpływu na przyrost grubości, przy czym trzeba zaznaczyć, że sosna jest wytrzymała na niskie temperatury.

Dąb

Związek między elementami pogody a przyrostem grubości u dębu jest mniej wyraźny aniżeli u sosny. Przyczynia się do tego fakt, że wychylenia krzywych średnich przyrostów w obu latach nie mają zgodnych tendencji.

W roku 1955 nie udało się zauważyć żadnej korelacji z elementami meteorologicznymi (ryc. 7).

W okresie wegetacyjnym 1956 roku zależność przyrostu grubości od opadów była zupełnie wyraźna (ryc. 7). Podobna zależność aczkolwiek nieco w mniejszym stopniu, zaznaczyła się również w odniesieniu do wilgotności względnej powietrza. Dąb jak wiadomo ma większe wymagania względem wilgotności aniżeli sosna (Ermich 1953). Stąd pochodzi przypuszczalnie wyraźnie zaznaczający się wpływ opadów i wilgotności względnej na przyrost jego grubości. Nie zauważyłem natomiast żadnego związku z temperaturą powietrza.

Podkreślić należy również, że rytm krzywych przyrostowych u sosen z obrzeża w ciągu obu lat, oraz u dębów w roku 1956, jest bardzo podobny i różni się od rytmu krzywych przyrostu grubości u sosen w zwarciu. Przyczyną powyższych różnic jest najprawdopodobniej to, że u obu grup sosen inne elementy pogody były odpowiedzialne za przebieg przyrostu grubości.

C. Zakończenie przyrostu grubości

Czas zakończenia przyrostu grubości w ramach danego gatunku jest uzależniony od jego wewnętrznych właściwości, podobnie jak z początkiem przyrostu grubości. Niemniej jednak i tu czynniki zewnętrzne mogą w określonych granicach przyspieszać względnie opóźniać zakończenie przyrostu.

Jacquot (1950) uważa, że czynność miazgi ustaje, gdy minima nocne temperatury obniżą się do około 0°C ; temperatura powietrza byłaby więc czynnikiem decydującym.

Chalk (1930) jest zdania, że podczas gdy rozpoczęcie przyrostu grubości związane jest z temperaturą, to przy zakończeniu związek ten jest bardzo słaby. Wichrow (1954) wyraża pogląd, że zakończenie czynności miazgi jest związane z niedoborem wody w glebie w drugiej części okresu wegetacyjnego. Topçuoğlu (1940) twierdzi, że koniec przyrostu warunkowany jest czynnikami klimatycznymi i wewnętrznymi właściwościami drzew. Schober (1950) uważa, że zakończenie następuje, gdy temperatury opadną trwale poniżej 10°C , ponieważ okres z temperaturą

graniczną powyżej 10°C jest ważny dla wegetatywnego i generatywnego rozwoju roślin drzewiastych.

Że wewnętrzne właściwości drzew są w głównej mierze odpowiedzialne za określony czas rozpoczęcia i zakończenia przyrostu grubości, zaś czynniki zewnętrzne wpływają jedynie modyfikująco na ten czas, potwierdzają fakty wzięte z hodowli drzew w szklarniach, w których utrzymywano jednostajne warunki klimatyczne przez cały rok. Mimo to drzewa zrzucały okresowo liście, rozwijały pączki i wytwarzały roczne pierścienie, jak w warunkach normalnych (Szymkiewicz 1933). Podobne doświadczenia robiono z drzewami europejskimi, hodowanymi w strefie tropikalnej. W nowych warunkach zachowywały one nadal swoją rytmikę z poprzednich warunków siedliskowych, co dowodzi autonomiczności zjawisk okresowych, będących wynikiem właściwości dziedzicznych.

Zakończenie przyrostu grubości u poszczególnych drzew, tak u sosen jak i dębów, nie nastąpiło równocześnie (tab. 1, 2, 4, 5). U sosen wahania te były mniejsze, natomiast u dębów, szczególnie zaś w roku 1956, były bardzo duże (tab. 5).

Powyższa rozbieżność u poszczególnych drzew świadczy o wpływie ich indywidualnych właściwości. Niemalą rolę odegrały tutaj również różnice mikroklimatyczne, w jakim jednak stopniu, nie mogę określić, ponieważ badania takie nie były tutaj prowadzone.

Wyniki niniejszej pracy, dotyczące zakończenia przyrostu grubości u badanych sosen i dębów, są następujące:

Sosna

Rok 1955. Zakończenie przyrostu u większości sosen nastąpiło w trzeciej dekadzie września, u czterech dalszych dopiero w pierwszej połowie października, w szczególności zaś z początkiem tego miesiąca. W tygodniu 17—23.IX, tj. poprzedzającym zakończenie przyrostu, nastąpił zdecydowany spadek temperatury w porównaniu z poprzednim (10—16.IX vide tab. 7). W tygodniu tym nie było też żadnych opadów. W następnym (24—30.IX) zaznaczyło się dalsze choć łagodniejsze obniżenie temperatury. W pierwszym tygodniu października temperatury średnie dobowe i submaksymalne wprawdzie nieco wzrosły, za to temperatury minimalne obniżyły się, przy zupełnym braku deszczu.

Być może, że na zakończenie przyrostu grubości w tym okresie wpłynęło obniżenie temperatury oraz brak opadów w dwóch tygodniach (17—23.IX i 1—7.X) poprzedzających proces zakończenia przyrostu grubości u 8, a następnie u 4 sosen.

Rok 1956. Zakończenie przyrostu grubości 9 sosen zauważono I.X, u jednej sosny 8.X (tab. 1).

Zadecydowały tutaj najprawdopodobniej warunki pogody tygodnia 24—30.IX (tab. 8). Temperatury średnie dobowe oraz submaksymalne nie uległy obniżeniu i były nawet nieco wyższe aniżeli w tygodniu wcześniejszym (17—23.IX). Natomiast temperatury minimalne obniżyły się w obu tygodniach bardzo znacznie, spadały nawet poniżej 0°C . Należy podkreślić brak opadów — jako ważne zjawisko zaznaczające się w tym czasie (24—30.IX), jak również brak ich w pierwszych dniach października (deszcz dopiero z końcem tygodnia).

Przy zestawieniu danych dotyczących zakończenia przyrostu u sosen w latach 1955 i 1956, z danymi temperatury i opadów, nasuwa się pogląd, że na koniec procesu przyrostowego mógł wpłynąć przede wszystkim brak opadów atmosferycznych w okresach poprzedzających zakończenie przyrostu, przy obniżeniu temperatur minimalnych. Wynik ten potwierdzałby w pewnym stopniu pogląd Wichrowa (1954) wskazujący na niedobór wody w glebie jako decydujący o zakończeniu czynności miazgi.

Miedzy drzewami w zwarcu i z obrzeża lasu nie ujawniła się pod tym względem wyraźniejsza różnica.

Dąb

Rok 1955. Zakończenie przyrostu grubości u 7 dębów zauważono 17.IX, u 3 dalszych — 1.X. W okresie poprzedzającym, w dniu z 13 na 14.IX, nastąpił silniejszy spadek temperatur średnich dobowych z $18,4^{\circ}\text{C}$ na $13,1^{\circ}\text{C}$ i w dalszych dniach temperatury te ulegały już stałemu obniżaniu. Temperatury minimalne nie spadały w tym czasie poniżej 0°C . Podkreślić należy również bardzo małą ilość opadów, mianowicie od początku września do 24 tego miesiąca nie było ich zupełnie z wyjątkiem 14.IX — 4,6 mm i 15.IX — 16,7 mm. Temu brakowi opadów, przy obniżaniu się temperatury powietrza należy prawdopodobnie przypisać pewien wpływ na zakończenie przyrostu grubości. Podobnie jak u sosen w okresie poprzedzającym koniec przyrostu, tak i tutaj ewaporacja była dość znaczna.

Rok 1956. Czas zakończenia przyrostu grubości był w tym roku bardzo rozstrzelony, co niewątpliwie utrudnić musiało znalezienie związku ze zmiennością elementów pogody.

Zakończenie przyrostu jednego drzewa zauważono 3.IX, czterech drzew 10.IX, trzech 17.IX, a dwóch 24.IX.

Temperatury powietrza w okresach poprzedzających zakończenie przyrostu we wrześniu ulegały znacznie większym wahanieniom aniżeli w roku 1955. Dlatego wpływ zdecydowanego obniżenia temperatury na

zakończenie przyrostu nie przejawiał się wystarczająco wyraźnie. Podobnie było z opadami atmosferycznymi.

Reasumując wyniki badań nad zależnością zakończenia przyrostu grubości u sosen i dębów od wpływów klimatycznych, należy stwierdzić, że wpływ taki miał miejsce. Decydująco działało najprawdopodobniej wyraźne zmniejszenie opadów atmosferycznych, przy określonej obniżce temperatury powietrza. Zaznaczyć przy tym należy, że ewaporacja w tym czasie osiągała dość znaczne wartości (tab. 7 i 8), co mogło powiększyć niekorzystne warunki wodne w glebie.

Ta zależność od wymienionych elementów meteorologicznych zaznaczyła się wyraźniej w obu latach u sosny, u dębów zaś tylko w roku 1955.

Na zakończenie niniejszego rozdziału należy podkreślić, że pełny obraz zależności przebiegu przyrostu grubości u drzew od elementów meteorologicznych można uzyskać dopiero na podstawie wieloletnich obserwacji. Niniejsze dwuletnie badania dają w tym względzie wstępne wiadomości oraz wskazania co do kierunku, w jakim należy prowadzić takie badania w przyszłości.

STRESZCZENIE

W okresach wegetacyjnych 1955 i 1956 roku prowadzone były badania nad przebiegiem przyrostu grubości u sosny zwyczajnej i dębu szypułkowego w Puszczy Niepołomickiej.

Próbki drewna do badań pobierano za pomocą małej rurki stalowej typu „dziurkacza“, o ostrych brzegach otworu, średnicy 3 mm, którą wbijano młotkiem prostopadle do osi drzewa. Po wyjęciu rurki wałek drewna wyciskano pręcikiem metalowym od strony, którą się wbija w drzewo, ażeby uniknąć oddzielenia się kory od drewna. Zaletą wymienionego przyrządu w odróżnieniu od świdra przyrostowego jest to, że zrobiony otwór jest bardzo mały, dlatego nie powoduje zwiększenia intensywności podziału komórek miazgi ponad normalny w okolicy rany. Przy tym świeżo wytworzone zdrewniałe elementy drewna nie ulegają zniekształceniu.

Wyniki badań są następujące:

1. Rozpoczęcie czynności miazgi u sosen nastąpiło w drugiej dekadzie maja, powstanie pierwszych zdrewniałych elementów drewna w trzeciej dekadzie maja. Drewno późne zaczęło się tworzyć w drugiej połowie lipca i z początkiem sierpnia. Nie zauważono wyraźnej różnicy między sosnami w zwarciu a z obrzeża.

2. Uaktywnienie miazgi i początek przyrostu grubości u dębów nastąpiło z końcem kwietnia i początkiem maja. Rozpoczęcie tworzenia się elementów drewna późnego przypadło na koniec czerwca i początek lipca.

3. Zakończenie przyrostu grubości u sosen nastąpiło głównie z końcem września, u niektórych drzew nawet z początkiem października. Nie było istotnych różnic między sosnami w zwarciu i z obrzeża.

4. Dęby wykazały duże rozproszenie terminów zakończenia przyrostu,

szczególnie w roku 1956. Z tego powodu jako zakończenie przyrostu można jedynie orientacyjnie podać drugą połowę września.

5. U sosen stwierdzono opóźnienie w stosunku do dębów na wszystkich etapach przyrostu grubości. Podkreślić należy, że u dębów początek przyrostu nastąpił przed rozwojem liści, u sosen po rozwoju szpilek.

6. Najintensywniejszy przyrost u sosen w zwarciu przypadł na czerwiec i lipiec, u sosen z obrzeża na sierpień. Także i we wrześniu zauważono pokaźne wartości przyrostu grubości; należy to przypisać niewątpliwie korzystniejszym warunkom pogody.

7. Najintensywniejszy przyrost grubości u dębów przypadł w maju względnie w czerwcu, przy czym nie było pełnej zgodności między oboma latami.

8. Obserwacje z obu lat wykazały następnie, że na początek przyrostu grubości u sosen wywarły wpływ przede wszystkim opady atmosferyczne oraz ocieplenie.

9. Na termin rozpoczęcia przyrostu u dębów wpłynęły przypuszczalnie korzystne warunki termiczne, wpływ opadów się nie zaznaczył. Tak było w ciągu obu okresów wegetacyjnych.

10. Na przebieg przyrostu grubości u sosen w zwarciu, zaznaczyło się oddziaływanie temperatury powietrza w obu okresach wegetacyjnych (nieco słabiej w r. 1955). Bardzo wyraźny wpływ opadów, jaki uwidocznił się w roku 1955 i to tylko w okresie tworzenia się drewna wczesnego, nie potwierdził się w roku 1956. U sosny z obrzeża zauważono w ciągu obu lat, zależność przyrostu grubości od opadów w okresie powstawania wiosennej części słoju rocznego.

11. U dębów zaznaczył się wyraźny wpływ opadów oraz słabiej wilgotności powietrza w ciągu całego prawie okresu wegetacyjnego, lecz tylko w roku 1956; rok 1955 nie potwierdził tego.

12. Na zakończenie przyrostu grubości u sosen i u dębów mógł wpłynąć niedobór wody opadowej, przy równoczesnym obniżeniu temperatur powietrza, co jednak nie ujawniło się całkiem wyraźnie.

Autor wyraża podziękowanie prof. dr J. Szaferowej oraz prof. dr T. Gieruszyńskiemu za cenne uwagi dotyczące niniejszej pracy. Mgr S. Myczkowski wykonał zdjęcia fitosocjologiczne, za co winien mu jestem słowa podziękowania.

(Wpłynęło dn. 7.3.1958 r.)

SUMMARY

During the 1955 and 1956 vegetative seasons an investigation was carried out in the Niepołomice Forest on the diameter growth of the common pine *Pinus silvestris* L. and oak *Quercus robur* L.

Samples of wood for examination were obtained by means of a steel tube 3 mm in diameter, of the hole-puncher type, sharpened at one end. The puncher was driven into the trunk with a hammer normally to the trunk axis. The wood sample was pressed out with a metal rod from inside the tube through the opposite end than that driven into the trunk so as to avoid the splitting away of the bark. The holes made with this device, contrary to the ordinary growth auger, are very small and thus

the division of cambium cells in the vicinity of the wound is not excessively vigorous. Moreover, freshly formed xylem elements are not damaged.

The results obtained were as follows:

1. In pine the activity of cambium began after the 10th of May and the first xylem elements appeared after the 20th of May. Secondary xylem formation started in the second half of July and at the beginning of August. No marked difference was observed between pine trees from the inside and the fringe of the forest.

2. In oak the activation of cambium and diameter growth started at the end of April and the beginning of May. Secondary xylem started to develop at the end of June and at the beginning of July.

3. In pine diameter growth stopped in most cases at the end of September, but in some specimens it continued till the beginning of October. There was no marked difference between trees growing in the middle of the forest and on the fringes.

4. In the case of oak there was no uniformity in the time at which diameter growth stopped, especially in 1956, and thus this date can be established only approximately at the second half of September.

5. All stages of diameter growth in pine occurred later than in oak. In oak diameter growth started before the development of leaves and in pine after the development of needles.

6. The rate of growth of pine growing inside the forest was greatest in June and July and of trees growing on the fringes in August. However, the diameter growth was also considerable in September which seemed to be due to favourable climatic conditions.

7. The greatest diameter growth in oak occurred in May and June, but the results from both years differed somewhat.

8. It was noted during the two years of observation that the beginning of diameter growth was, in the first place, influenced by rainfall and rise of temperature.

9. The beginning of diameter growth in oak was probably influenced by the temperature and not by rainfall. This was noted in both years.

10. The influence of temperature on the diameter growth of pine growing inside the forest was noted in both years, though somewhat more markedly in 1956. The very pronounced influence of rainfalls at the stage of primary xylem formation observed in 1955 was not recorded in 1956. In pine trees growing on the outskirts of the forest the formation of the spring part of the annual ring was affected by rainfalls in both years.

11. In oak the influence of rainfalls and air humidity was pronounced almost throughout the 1956 vegetative season. No such relation was however observed in 1955.

12. The time at which the diameter growth in both oak and pine ended might have been affected by the decrease of rainfalls and the simultaneous drop of temperature, but this was not clearly apparent.

The author expresses his most sincere gratitude to Professor J. Szafer and Professor T. Gieruszyński for valuable advice in the course of this work. The author is also indebted to S. Myszowski for the phytosociological record which he carried out.

LITERATURA

- Bauman M. W., 1955, The vascular cambium and radial growth in *Thuja occidentalis* L., Canad. J. Bot. 33.
- Brown H. P., 1912, Growth studies in forest trees. I. *Pinus rigida* Mill., Botan. Gazette 54.
- Büsgen M., 1927, Bau und Leben unserer Waldbäume, Jena.
- Chalk L., 1930, The formation of spring and summerwood in ash and Douglas Fir., Oxford Forestry Memoirs 10.
- Charitonowicz F. N., 1930, Sezonnyj prirost ranorazpuskajuszczegosia i pozno-raspuskajuszczegosia duba, Fr. po lesn. diełu Ukrainy, wyp. 15, Charkow.
- Charitonowicz F. N., 1941, Sezonnyj prirost duba w usłowijach smytoj i namytoj poczwij na jugo-wostocznom skłonie białki, Katlagacz., Poczwowie-dienije 3.
- Ermich K., 1953, Wpływ czynników klimatycznych na przyrost dębu szypułkowego i sosny zwyczajnej, Prace Rolniczo-Leśne PAU 68, Kraków.
- Ermich K., 1956, Badania nad dynamiką przyrostu grubości u *Pinus silvestris* L. i *Quercus robur* L. w ciągu okresu wegetacyjnego, Doniesienie tymczasowe, Ekologia Polska, Seria A.
- Friedrich J., 1897, Über den Einfluss der Witterung auf den Baumzuwachs, Mitteil. a. d. forstl. Versuchswes., Österreich.
- Godman Richard M., Gregory Robert A., 1955, Seasonal distribution of radial and leader growth in the Sitka spruce western hemlock forests of Southeast Alaska, J. Forestry 53 (Referatywny Zurnał. N. 18. 1956).
- Hartig T., 1865, Vergleichende Untersuchungen über Wachstumsgang u. Ertrag d. Rotbuche u. Eiche im Spessart, d. Rotbuche in Wesergebirge, der Kiefer in Pommern u. d. Weisstanne im Schwarzwald, Cotta, Stuttgart.
- Hartig R., 1882, Über Beginn u. Schluss d. Jahrringbildung d. Bäume in verschiedenen Höhen der Bäume, Flora.
- Hartig R., 1885, Das Holz d. deutschen Nadelbäume, Berlin, Verl. J. Springer.
- Hartig R. u. Weber R., 1888, Das Holz d. Rotbuche, Berlin, Verl. J. Springer.
- Heck, 1905, Jahreszeit u. Zuwachs. Forstwiss. Ztrblatt. 27.VI.
- Jaccard P., 1930, Beginn u. Verlauf d. Kambiumtätigkeit bei einigen Waldbäumen, Schweiz. Ztschr. f. Forstwesen 81 (10).
- Jacquot Cl., 1950, Contribution à l'étude des facteurs déterminant le cycle d'activité du cambium chez quelques arbres forestiers, Rev. Forest. Franç.
- Kohh E., 1932, Uurimusi puude läbimõõdu ja kõrguse kasvu kohta Tartu Ülikooli õppe — ja katsemetskonnas 1930 a. Tartu Ülikooli Metsaosakonna teimetused, 23.
- Knudson 1913, Observations on the Inception Season and Duration of Cambium Development in the American Larch (*Larix laricina* Du Roi), Bull. Torrey Bot. Club. 40.
- Krahl-Urban J., 1939, Untersuchungen über den Jahrringbau der Eichen in Preus., Forstamt Freienwalde, Neudamm.
- Ladefoged K., 1952, The periodicity of wood formation, Det Kongelige Danske Videnskabernes Selskab, Biologiske Skrifter 7 (3), København.
- Lodewick J. E., 1928, Seasonal activity of the cambium in some northeastern trees, N. York State College of Forestry, Syracuse, Techn. Publ. (23).
- Mac Dougall D. T., 1921, Growth of trees, Carn. Inst. Washington.
- Mac Dougall D. T., 1925, Reversible variations in volume pressure and movements of sap in trees, Carn. Inst. Washington.

- Mac Dougall D. T., 1938, Tree growth, Leiden (Holland).
- Medwecka-Kornasiowa A., Zespoły leśne Polski, Rozdz. w „Szata roślinna Polski“, PWN w druku.
- Mer E., 1892, Réveil et extinction de l'activité cambiale dans les arbres, Compte Rend. de l'Acad. Franc. T. CXIV.
- Mer E., 1892, Sur les causes de variation de la densité des bois, Bull. d. Soc. Bot. de France 39.
- Mielechowa T. A., 1949, O formiowaniu godicznego słoja jeli. Tr. Archang. Lesotechn. In-ta im. Kujbyszewa, XIII.
- Malinowski E., 1953, Anatomia roślin, PWN, Warszawa.
- Owsiannikow W. G., 1941, K izuczeniju obrazowanija godicznych kolec drewniesiny, Naucz. Zap. Woroneżsk. Lesochoz. In-ta 8.
- Priestley J. H. and Malins M. E., 1933, A new method of studying cambial activity., Proc. Leeds Phil. and Liter. Soc. Scien. Sect.
- Priestley J. H. and Scott L. Y., 1936, A note upon summerwood production in the tree, Proc. Leeds Phil. and Liter. Soc. Scien. Sect.
- Raskatow P. B., 1946, Chod prirosta drewiesiny duba wtieczenije wegetacionogo pierioda w razlicznych ekologiczeskich usłowijach, Naucz. zap. Woroneż. Lesochoz In-ta, 9.
- Raskatow P. B., 1948, K woprosu o formiowaniu godicznych kolec drewiesiny duba, Woroneż. Lesochoz. Inst. Naucz. Trudy. 10.
- Rees L. W., 1929, Growth studies in forest trees *Picea rubra* Link., Journ. of Forestry.
- Romell L. G., 1925, Växttidsundersökningar å tal och gran., Meddelanden Från Statens Skogsförsöksanstalt 22.
- Schober R., 1950, Zum jahreszeitlichen Ablauf des sekundären Dickenwachstums, Allg. Forst u. Jagdztg.
- Schwarz Fr., 1889, Dickenwachstum u. Holzqualität von *Pinus silvestris*, Berlin.
- Sokołowski S., 1927, Budowa roślin drzewiastych, K. S. Jakubowski, Lwów.
- Szreder P. I., 1879, K woprosu ob uwieliczenii tołszcziny stwołow deriewiew w razlicznyje wriemienia goda, Izw. Pietrow. zemled. i lesnoi akad.
- Szymkiewicz D., 1932, Ekologia roślin, K. S. Jakubowski, Lwów.
- Topçuoglu A., 1940, Die Verteilung des Zuwachses auf die Schaftlänge der Bäume, Thar. Forstl. Jbuch 8/9.
- Towstoles D. J., 1938, Issledowanije nad prirostom sosny, Tr. In-ta Bot. Ak. Nauk SSSR 16/24.
- Trendelenburg R., 1939, Das Holz als Rohstoff.
- Ullrich J., 1955, Vergleichende Untersuchungen über Verholzung und Verholzungsreaktionen, Ber. d. Deutsch. Bot. Gesellsch. 68.
- Wichrow W. E., 1954, Strojenije i fiziko-mechaniceskije swojstwa drewiesiny duba, Izdat. Ak. Nauk SSSR, Moskwa.
- Wieler A. L., 1898, Über die jährliche Periodizität im Dickenwachstum des Holzkörpers der Bäume, Thar. Forstl. Jbuch 48.
- Wilhelmi Th., 1956, Untersuchungen mit einem schwedischen Mikrodendrometer über das Dickenwachstum an Bäumen, Forstarchiv. 27 (11).

Rola skracania się lub wydłużania dnia przy indukcji fotoperiodycznej rośliny krótkiego dnia *Perilla ocimoides* L.

*The influence of the shortening or lengthening of the day on the
photoperiodic induction of the short-day plant Perilla ocimoides L.*

T. RYLSKA

Rośliny jednoroczne wysiane w drugiej połowie lata mają wyraźne tendencje do skracania okresu wegetacyjnego. W doświadczeniu przeprowadzonym przez Matusiewicza (1951) konopie wysiane w końcu sierpnia zakwitły już po 27 dniach, podczas gdy z normalnego wysiewu (początek maja) dopiero po 88 dniach. Przyspieszeniu rozwoju generatywnego towarzyszy w tym wypadku silne zahamowanie rozwoju wegetatywnego; Woroszyłow (1955) podaje, że uczepek — *Bidens Maksimowiczii* — wysiany w sierpniu daje karłowatą 15-centymetrową roślinkę, zaś z wysiewu wiosennego osiąga wysokość około 150 cm.

Garner i Allard (1931) oraz Woroszyłow (1955) skłonni są przypuszczać, że podobne fakty świadczą o ważnej roli skracania się dnia (w jesieni) lub wydłużania się (na wiosnę) przy reakcjach fotoperiodycznych roślin.

Bezpośredni asumpt do niżej opisanych doświadczeń dały zarówno te uwagi spotkane w literaturze, jak i wyniki pewnych własnych doświadczeń wazonowych z pachnotką, przeprowadzonych w jesieni 1955 roku (Rylska T. 1958). Okazało się mianowicie, że pachnotka, wysiana w końcu lipca i trzymana w hali na dniu naturalnym, skraca swój normalny okres wegetacyjny przeszło 2 i 1/2-krotnie (zakwitła po 34 dniach wobec normalnych 90), a jednocześnie tak słabo się rozwija wegetatywnie, że wysokość dojrzałych roślin niewiele przekracza 1/3 wysokości takichże roślin z siewu wiosennego. Dzień naturalny w sierpniu wynosi (wliczając świt i zmrok) od 16 do 15½ godzin, a więc jest jeszcze długi i nie usprawiedliwia indukcji fotoperiodycznej. W dodatku mamy tu do czynienia z roślinami młodymi — zaraz po wschodach — które nie powinny jeszcze

być w fazie największej wrażliwości fotoperiodycznej na długość oświetlenia dziennego (Rylska i Wisłocka 1956). Nasunęło się więc przypuszczenie, że chodzi tu nie o bezwzględną długość dnia i nocy, a o wpływ dynamiki zmiany wartości stosunku dnia do nocy. Codzienne przesuwanie się wartości tego stosunku na korzyść nocy mogłoby być dla roślin impulsem do skracania okresu wegetacyjnego.

Aby sprawdzić słuszność tej hipotezy, postanowiono przeprowadzić doświadczenia przy sztucznym oświetleniu, żeby można było czas trwania „dnia“ dowolnie zmieniać — jednej grupie roślin codziennie go skracać, innej wydłużać. Poza tym jedynym czynnikiem zmiennym, należało zapewnić obu grupom roślin warunki jak najbardziej jednakowe (barwa i natężenie światła, temperatura i wilgotność).

MATERIAŁ I METODA

Obiektem doświadczalnym była roślina krótkiego dnia *Perilla ocimoides* L. Pachnotkę wysiano w wazonach typu Mitscherlicha w hali wegetacyjnej, a na okres największej wrażliwości fotoperiodycznej (oznaczony w poprzedniej pracy: Rylska i Wisłocka 1956) wstawiano ją na 10 do 14 dni do luminostatów — ciemnych kamer z oświetleniem luminescencyjnym. Dokładny opis metody naświetlania roślin w luminostatach przy wyrównanych (w dużym stopniu) warunkach temperatury, wilgotności oraz intensywności i barwy światła znajduje się w pracy „Wpływ pory doby naświetlania na efekt indukcji fotoperiodycznej u rośliny krótkiego dnia *Perilla ocimoides* L.“ (Rylska i T. 1958).

OPIS DOŚWIADCZEN

Jesienią 1956 roku i na wiosnę 1957 roku, równoległe z doświadczeniami nad wpływem na indukcję fotoperiodyczną naświetlania w różnych porach doby, przeprowadzono badania nad ewentualnym wpływem skracania się lub wydłużania dnia. W pierwszym roku wysiano pachnotkę 26 lipca, wschody nastąpiły 5 sierpnia, indukcja w luminostatach od 22 do 31 sierpnia. W drugim roku wysiew był 27 kwietnia, wschody 10 maja, indukcja od 11 do 23 czerwca — 4 kombinacje po 7 wazonów — powtórzeń. Dla kombinacji 1 i 2 przesuwano w pierwszym doświadczeniu porę włączania i wyłączania światła za każdym razem o 20 minut, a więc dzieńne przedłużenie lub skrócenie dnia wynosiło 40 minut; między pierwszym i ostatnim dniem indukcji była różnica 6 godzin. Pierwsza kombinacja (dzień wydłużający się) rozpoczynała okres fotoperiodyczny dniem 8-godzinnym (od 7.30 do 15.30), a kończyła dniem 14-godzinnym (od 4.30 do

18,30), druga kombinacja (dzień skracający się) odwrotnie, rozpoczynała od dnia 14-godzinnego, a kończyła 8-godzinny. Były też dwie kombinacje kontrolne: jedna (komb. 3) indukowana dniem 8-godzinny, druga (komb. 4) dniem 14-godzinny.

Na tabeli 1 są zestawione dane o rozwoju wegetatywnym roślin tego doświadczenia.

Tabela 1

Wpływ indukcji dniem wydłużającym się lub skracającym na rozwój wegetatywny *Perilla ocimoides*, jesień 1956 (średnie z 7 powtórzeń)

Nr komb.	Długość dnia	Liczba godzin światła	Liczba węzłów			Wysokość roślin w cm			Długość liścia w cm		
			początek indukcji	koniec indukcji	okres kwitnienia	początek indukcji	koniec indukcji	okres kwitnienia	początek indukcji	koniec indukcji	okres kwitnienia
1	wydłużający się	8—14	3,3	4,6	12,0	1,0	2,4	7,7	1,9	4,9	10,9
2	skracający się	14—8	3,3	4,6	13,0	1,0	2,8	8,5	1,9	5,4	11,1
3	krótki	8	3,1	4,0	11,7	1,0	1,9	7,0	1,9	4,6	9,7
4	długi	14	3,3	5,0	12,3	0,9	3,6	8,8	1,8	4,8	11,8

Wbrew oczekiwaniom między kombinacją pierwszą i drugą prawie nie było różnic: rozwój wegetatywny roślin traktowanych zarówno dniem skracającym się, jak i wydłużającym, był pośredni między rozwojem dwóch krańcowych kombinacji kontrolnych (dzień 8-godzinny i dzień 14-godzinny). Rozwój wegetatywny roślin z dnia wydłużającego się był nieco bardziej zbliżony do kontroli z dnia krótkiego, a roślin z dnia skracającego się do kontroli z dnia długiego, ale rozmiary różnicy były w tym wypadku tak niewielkie, że nie można przykładać do tego większej wagi. Ze wszystkich czterech kombinacji jedynie rośliny trzeciej (dzień krótki) były wyraźnie słabiej rozwinięte od pozostałych.

Rozwój generatywny roślin wszystkich kombinacji tego doświadczenia był szybki i równomierny (tab. 2). Opóźnienie kwitnienia o jeden dzień kombinacji trzeciej trudno uważać za faktyczną różnicę.

Liczba kwiatów jest prawie jednakowa w pierwszej, trzeciej i czwartej kombinacji, a wyraźnie od nich wyższa w kombinacji drugiej (dzień skracający się). Jest to być może związane z nieco większą liczbą węzłów u tych roślin.

Ogólnie z tabeli 1 i 2 możemy wyciągnąć wniosek, że indukcja fotoperiodyczna pachnotki, tak skuteczna w okresie wiosennym — w końcu lata jest bezcelowa, gdyż najwyraźniej warunki naturalne w hali wegetacyjnej

już w pierwszym okresie po wschodach wywołują bardzo szybkie przejście do reprodukcji.

Wobec powyższego konieczne było przeprowadzenie drugiego doświadczenia w normalnych warunkach na wiosnę. Doświadczenie takie założono w roku 1957. Wysiano pachnotkę w wazonach 27 kwietnia, wschody nastąpiły 10 maja, indukcja miała miejsce od 11 do 23 czerwca; 4 kombinacje

Tabela 2

Wpływ indukcji dniem wydłużającym się i skracającym
na kwitnienie *Perilla ocimoides*,
jesień 1956 (średnie z 7 powtórzeń)

Nr komb.	Długość dnia	Kwitnienie		Liczba kwiatów na 1 roślinę
		data	liczba dni po wschodach	
1	wydłużający się	21.IX.	47	39,6
2	skracający się	21.IX.	47	51,7
3	krótki	22.IX.	48	41,0
4	długi	21.IX.	47	42,0

po 7 wazonów — powtórzeń. Dzielne przedłużanie lub skracanie dnia wynosiło 1 godzinę (30 minut rano i 30 minut wieczorem), tak że w ciągu 13 dni okres świetlny się stopniowo wydłużał od 8 do 18 godzin (kombinacja 1) albo skracał od 18 do 8 godzin (kombinacja 2). Kombinacja pierwsza miała więc pierwszego dnia indukcji 8 godzin światła, w ostatnim 18 godzin, kombinacja druga zaś odwrotnie rozpoczynała dniem 18-godzinnym, kończyła 8-godzinny. Kombinacje kontrolne w roku 1957 były odpowiednio na dniu 8-godzinny (kombinacja 3) i 18-godzinny (kombinacja 4). Po zakończeniu indukcji rośliny wszystkich kombinacji były przeniesione do hali na dzień naturalny — długi.

Rozwój wegetatywny roślin poszczególnych kombinacji tego doświadczenia ilustruje tabela 3.

Jak widzimy z tej tabeli, pachnotka wysiana w wazonach w zwykłym terminie zachowała się zupełnie typowo jak roślina wrażliwa fotoperiodycznie. Rośliny kombinacji trzeciej (dzień 8-godzinny) rozwinęły się dużo słabiej niż rośliny z 18-godzinnego dnia (kombinacja czwarta). Mimo to — tak jak w pierwszym doświadczeniu — prawie nie wystąpiły różnice między kombinacją pierwszą (dzień wydłużający się) i kombinacją drugą (dzień skracający się). Rośliny obu tych kombinacji wzrostem prawie do-

równały kontrolnym z długiego dnia, ale pokrojem bardzo znacznie się od nich różniły (ryc. 1 i 2). Wytworzyły one długie kwiatostany z małą liczbą kwiatków, przy tym podkwiatki przerastające w liście uległy w wy-

T a b e l a 3

Wpływ indukcji dniem wydłużającym się lub skracającym
na rozwój wegetatywny *Perilla ocimoides*, wiosna 1957 (średnie z 7 powtórzeń)

Nr komb.	Długość dnia	Liczba go- dzin światła	Liczba węzłów			Wysokość roślin w cm			Długość liścia w cm		
			początek indukcji	koniec indukcji	okres kwitnie- nia	początek indukcji	koniec indukcji	okres kwitnie- nia	początek indukcji	koniec indukcji	okres kwitnie- nia
1	wydłuża- jący się	8 do 18	5,0	7,0	8,5 + 26,7	3,2	5,2	48,0	6,4	11,2	19,3
2	skracający się	18 do 8	5,0	7,0	9,0 + 27,0	3,1	5,2	47,0	6,4	10,1	20,9
3	krótki	8	5,0	6,4	8,0 + 20,3	3,3	4,6	19,3	6,3	9,7	15,1
4	długi	18	5,0	7,9	16,2 + 12,4	3,1	6,5	49,9	6,7	12,6	22,9

sokim stopniu modyfikacjom morfologicznym (ryc. 3), czego zupełnie nie było u roślin kontrolnych. Ostatecznie przerosły one znacznie rośliny kontrolne z krótkiego dnia (o przeszło 100%) i prawie dorównały roślinom z dnia długiego.



fot. B. Siemaszko

Ryc. 1. Rośliny *Perilla ocimoides* 18.VII.1957 (24 dni po zakończeniu indukcji w luminostatach)

1 — kombinacja 4 (dzień 18-godzinny); 112 — kombinacja 2 (dzień skracający się);
122 — kombinacja 1 (dzień wydłużający się); 45 — kombinacja 3 (dzień 8-godzinny)



fol. B. Siemaszko

Ryc. 2. Rośliny *Perilla ocimoides* 20.VIII.1957 (57 dni po zakończeniu indukcji w luminostatach). Oznaczenia jak na ryc. 1



Ryc. 3. Wierzchołkowa zmieniona część pędu pachnotki, typowa dla roślin indukowanych dniem wydłużającym się lub skracającym

fol. B. Siemaszko

Tabela 4

Wpływ indukcji dniem wydłużającym się i skracającym na kwitnienie
Perilla ocimoides, wiosna 1957 (średnie z 7 powtórzeń)

Nr. komb.	Długość dnia	K w i t n i e n i e			Liczba kwiat- ków na 1 roś- linę
		data	Liczba dni po wschodach	przyspiesze- nie kwitnie- nia o dni	
1	wydłużający się	11.VII.	61	34	27,5
2	skracający się	13.VII.	63	32	26,7
3	krótki	5.VII.	56	39	42,7
4	długi	13.VIII.	95	—	34,9

Indukcja w roku 1957 dała również wyraźne efekty, jeśli chodzi o rozwój generatywny; różnica początku kwitnienia między roślinami z krótkiego i z długiego dnia wyniosła 39 dni. Natomiast między zakwitaniem roślin z dnia skracającego się i wydłużającego zanotowano tylko 2 dni różnicy. Wcześniej zakwitły rośliny z dnia wydłużającego się. Obie zaś kombinacje przyspieszyły kwitnienie w stosunku do kontroli z długiego dnia o przeszło miesiąc, a więc znacznie bardziej, niż się można było spodziewać (przyspieszenie zakwitania obliczone jako średnia między terminem kwitnienia roślin z dnia 8- i 18-godzinnego wynosiłoby zaledwie 20 dni). Kwiatów najwięcej wytworzyły rośliny kombinacji trzeciej (krótki dzień), potem kombinacji czwartej (długi dzień), a najmniej rośliny z obu kombinacji z dniem zmiennym.

Zaobserwowano poza tym znaczne różnice w zabarwieniu liści (antocyjany) między roślinami doświadczalnymi i obu kontrolami. Indukcja czy to wydłużającym się, czy skracającym się dniem spowodowała zupełne zahamowanie syntezy antocjanów. Liście wyższych węzłów były bardzo długo zielone aż przy końcu wegetacji pożółkły. Niektóre liście dolnych węzłów miały miejsca lekko fioletowe, ale z reguły nie miały zabarwionych nerwów. Tymczasem liście roślin indukowanych krótkim dniem były w okresie dojrzewania ciemnofioletowe, ze szczególnie silnym zabarwieniem nerwów. Rośliny z długiego dnia wytworzyły antocjan dużo później od poprzednich, ale też pod koniec wegetacji były fioletowe.

DYSKUSJA

Wyniki opisanych tu doświadczeń nie potwierdziły przypuszczeń W o r o s z i ł o w a (1955) o zależności reakcji fotoperiodycznej od wydłużania się lub skracania dnia.

Roślina krótkiego dnia — *Perilla ocimoides* zareagowała na sztuczne skracanie lub wydłużanie dnia tak, jak by otrzymała normalny krótki fotoperiod przez mniejszą ilość dni. Porównując rozwój wegetatywny i termin zakwitania roślin doświadczalnych (komb. 1 i 2) i kontrolnych (komb. 3 i 4) stwierdzamy, że efekt indukcji był tu pośredni między dwoma krańcowymi kontrolami. Taki pośredni efekt otrzymali także Garner i Allard (1931) stosując na zmianę dzień długi i krótki. Jedno i drugie wskazuje na to, że nie co innego tylko ilość odpowiednich fotoperiodów decyduje o efekcie indukcji.

Rośliny kombinacyj z dniem zmiennym miały na głównym kwiatostanie mniej kwiatków niż obie kontrole — musimy to przypisać ich specjalnemu charakterowi związanemu z przerastaniem. U roślin przerastających główny kwiatostan jest słabo rozwinięty, a w kątach liści zamiast bocznych pędów wyrastają duże kwiatostany.

Nieco silniejszą indukcję roślin traktowanych dniem wydłużającym się niż skracającym można tłumaczyć tym, że krótki dzień wypadł dla tych roślin wcześniej, a więc w okresie większej wrażliwości fotoperiodycznej, podczas gdy przy dniu skracającym się rośliny otrzymały krótkie dni w późniejszej fazie rozwoju, gdy wrażliwość była mniejsza. Byłoby to zgodne z wynikami naszymi z roku 1956 (Rylska i Wisłocka).

Matusiewicz (1951) wiązał obserwowane na wiosnę zmiany morfologiczne liści konopi z wydłużaniem się dnia. Nie potwierdzają tego nasze wyniki, gdyż tego samego stopnia zmiany morfologiczne wystąpiły u roślin, którym dzień skracano lub wydłużano, a więc nie działa tu kierunek zmiany długości dnia. Przerastanie i towarzyszące mu zmiany pokroju roślin i budowy liści są wynikiem niepełnej indukcji fotoperiodycznej. W opisanym doświadczeniu rośliny doświadczalne otrzymały zbyt małą ilość krótkich fotoperiodów, żeby mogły się przestawić całkowicie na procesy generatywne, stąd wynikło ich przerastanie.

Różnice w zabarwieniu antocjanowym roślin doświadczalnych i obu kontroli wiążemy również z tym nienormalnym stanem fizjologicznym roślin, którego wyrazem jest przerastanie.

Koleżankom mgr L. Rozegnałowej, mgr M. Wisłockiej oraz A. Oleksiej serdecznie dziękuję za pomoc przy przeprowadzaniu doświadczeń.

STRESZCZENIE

1. Przeprowadzono doświadczenia wazonowe w luminostatach nad wpływem wydłużającego się lub skracającego się dnia na rozwój rośliny krótkiego dnia *Perilla ocimoides* L.

2. Rośliny traktowane zarówno dniem wydłużającym się, jak skracającym początkowo zahamowały rozwój wegetatywny, następnie uległy

przerastaniu i przy końcu wegetacji pod niektórymi względami prawie dorównywały roślinom kontrolnym.

3. Kwitnienie obu kombinacji doświadczalnych miało miejsce w terminie prawie jednakowym i pośrednim między roślinami dwóch kombinacji kontrolnych (indukowanych tylko krótkim albo tylko długim dniem).

4. Nie skracanie lub wydłużanie dnia decyduje o kierunku indukcji fotoperiodycznej, lecz bezwzględna długość okresu świetlnego i ciemnego w rytmie dobowym. Różnicę w reakcji fotoperiodycznej roślin na wiosnę i w jesieni należy przypisać innym czynnikom klimatycznym, a nie kierunkowi zmiany w długości dnia.

5. Bardzo małą przewagę w indukcji wykazały rośliny traktowane dniem wydłużającym się, co tłumaczymy lepszym przystosowaniem rośliny do odpowiedzi na indukcję w początkowym okresie naświetlania.

(Wpłynęło dn. 21.4.1958 r.)

*Laboratorium Fizjologii Rozwoju Roślin
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin*

SUMMARY

1. Pot experiments in luminostats were carried out with the aim of investigating the influence of the lengthening and the shortening of the day on the growth of the short-day plant *Perilla ocimoides* L.

2. In plants submitted to a lengthening or shortening of the day vegetative growth was at first inhibited. Later growth was more vigorous so that at the end of vegetation the experimental plants equalled in many respects the long day controls.

3. Flowering in both experimental groups occurred almost simultaneously and intermediately between the time of flowering of controls induced with a short or a long day only.

4. The direction of the photoperiodic induction is not determined by the changing (lengthening or shortening) day length but by the absolute length of the light and dark periods during a 24 hours cycle. The difference between the response of plants in the spring and in the autumn seems to be due to factors other than the changing day length.

5. Plants submitted to a lengthening of the day showed a slight superiority in induction which seems to be due to their better adaptation to induction in the initial stages of the experiment.

LITERATURA

- Garner W. W. and Allard H. A., 1931, Duration of the flowerless condition of some plants in response to unfavorable length of day, J. Agric. Res. 43 (5): 439—443.
- Matusiewicz E., 1951, Studia nad fotoperiodyzmem konopi, Poznań (maszynopis).
- Rylska T. i Wisłocka M., 1956, Badania nad fotoperiodyzmem pachnotki (*Perilla ocimoides* L.), Acta Agrobotanica 4: 13—43.
- Rylska T., 1958, Wpływ pory doby naświetlania na efekt indukcji fotoperiodycznej u rośliny krótkiego dnia *Perilla ocimoides* L., Acta Soc. Bot. Pol. 27 (4).
- Woroszyłow W. N., 1955, Dłina dnia kak faktor formoobrazowania u rastienij w prirode, Biull. Gł. Bot. Sada 20: 85—95.

Występowanie oksyflawonów i flawonów w generatywnej komórce irysa

On the occurrence of oxyflavones (flavones?) in generative cells of the Iris

STEFAN KRUPKO

W początkach moich wykładów na Uniwersytecie w Johannesburgu (Unia Połudn.-Afrykańska) chciałem w październiku 1946 r. przygotować kultury łagiewek dla ćwiczeń ze studentami z cytologii roślin. Jeszcze z moich doświadczeń przed 1939 r. na Uniwersytecie Warszawskim wiedziałem, że ładne łagiewki tworzy pyłek żółtych irysów, wysiany na szkiełkach przykrywkowych, smarowanych pożywką i umieszczanych na szklanych pierścionkach. A więc i tym razem skorzystałem z ogromnej ilości kwiatów żółtych irysów, odmiany zwanej przez holenderskich hodowców „hiszpańska“, sprzedawanych w sklepach z kwiatami. Bliską optymalnej okazała się pożywka o składzie: 15% sacharozy, 2% agaru, 2% żelatyny*, do której czasem dodawałem kwasu bornego w rozcieńczeniu 0,001%.

Okazało się, że i tym razem irys daje piękne i długie łagiewki i bardzo ładne przyżyciowe obrazy generatywnej komórki w łagiewce i spermów. Ale tym razem zauważyłem pewien szczegół w generatywnej komórce, którego, byłem pewien, nie widziałem w moich wysiewach w Warszawie. Oto na obu spiczastych końcach komórki generatywnej w łagiewce widać było stłoczone nagromadzenie „żółtych ciałek“, kształtu nieprawidłowo okrągłego. Nasunęło się od razu pytanie, czy ten żółty barwnik występuje w wakuolach, czy w plastydach lub chondriosomach? Żeby rozstrzygnąć to pytanie, zastosowałem: a. przyżyciowe barwienie czerwinią obojętną i zielenią Janusową, b. reakcje z $KJ+J$ i z 1% $AgNO_3$.

Przyżyciowe wybarwienia bezpośrednie w kropli powyższych barwników nie udały się, bo wszystkie łagiewki pękały. Trzeba było zastosować dodanie obu barwników do pożywki i wtedy wybarwienia udawały się.

* Żelatynę dodawałem dla łatwiejszego utrzymania łagiewek przy przygotowaniu preparatów trwałych.

Barwiłem więc czerwienią obojętną w rozcieńczeniu 0,001% dodając barwnik wprost do pożywki. Najlepsze łagiewki, z komórkami generatywnymi płynącymi w nich, zwykle otrzymywałem po 5—6 godzinach przy temperaturze pokojowej ($\pm 25^{\circ}\text{C}$). Najlepsze wybarwienie czerwienią obojętną otrzymałem po 8^h—12^h. Wakuole w łagiewce zabarwiły się na różowo, ale „ciałka żółte“ w końcach komórki generatywnej zabarwiły się na kolor czerwony. Miałem więc dowód, że należą one nie do klasy plastydów lub chondriosomów, ale do wakuoli. Poza tym takie mocne ich zabarwienie przypominało spostrzeżenie Guilliermonda i Gauthereta (1933), w którym oni stwierdzali, że zabarwienie wakuoli czerwienią obojętną na intensywny kolor czerwony „rouge framboise“, jak oni się wyrażali, jest reakcją na obecność oksyflawonów w tych wakuolach. To przypuszczenie popierała również ta okoliczność, że inne wakuole w łagiewce i w pyłkach barwiły się jak zwykle tylko na różowo. Wysiewając pyłki na pożywce: 15% sacharozy, 2% agaru, 2% żelatyny, 0,001% kwasu bornego, otrzymywałem zabarwienie wakuoli dużo mocniejsze niż na pożywce poprzedniej bez kwasu bornego, reakcja następowała prędzej, a kolor wakuolek w komórce generatywnej zmieniał się z żółtego na piękny czerwony, rzeczywiście przypominający kolor malinowy, zgodnie z określeniem Guilliermonda i Gauthereta.

Żeby skontrolować, że żółty barwik występuje w wakuolach, zastosowałem również barwienie przyżyciowe zielenią Janusową, w rozcieńczeniu 0,0001%, dodając ten barwik również bezpośrednio do pożywki. Z początku „żółte ciała“ na biegunach komórki generatywnej nie barwiły się wcale, chociaż w tym samym czasie chondriosomy w łagiewce i w pyłkach kielkujących zabarwiły się na kolor bladozielony. Jednak po pewnym czasie żółty kolor ustępował i przechodził na lekko różowy, mimo iż w tym samym czasie chondriosomy łagiewki wciąż jeszcze utrzymywały swój kolor lekko zielony. Taka reakcja wakuoli na zielen Janusową, zdaniem Guilliermonda i Gauthereta (1946), też wskazuje na obecność oksyflawonów, chociaż nie jest na nie reakcją specyficzną.

Z reaktywem KJ+J „ciałka żółte“ w komórkach generatywnych koloru swego nie zmieniły. W tym samym preparacie reaktyw ten wybarwił bardzo intensywnie liczną skrobieć w pyłkach oraz chondriosomy na ciemnożółty kolor na złocistym tle cytoplazmy. Użycie 1,25% AgNO_3 na świetle dziennym może być reaktywem na chloroplasty (Ruhland 1924). W wakuolach, w razie obecności związków flawonowych, reaktyw ten daje też wyraźny czarny kolor. W pewnych wypadkach w obecności tanin wywołuje on czarne strącenia. Tutaj jednak nigdy komórki generatywne nie wybarwiły się na czarno. Z rzadka niektóre wakuole generatywnej komórki zmieniały kolor żółty na brązowoczerwony. Uważałem

więc tę reakcję za negatywną na plastydy i obecność tanin i nijaką na flawony.

Przytoczone powyżej reakcje i barwienie przyżyciowe wykazały mi niewątpliwie, że żółte barwniki są umieszczone w wakuolach, a nie w chondriosomach lub plastydach. Poza tym reakcja z czerwienią obojętną wskazuje na obecność oksyflawonów w tych wakuolach i to samo, do pewnego stopnia, potwierdza słaboróżowa reakcja z zielenią Janusową.

Ze skąpej literatury, omawiającej występowanie flawonów i oksyflawonów w wakuolach, wynikała konieczność zachowania ostrożności, żeby ich nie mieszać z występującymi również substancjami taninowymi i fenolowymi. W tym celu zastosowałem następujące reakcje na łagiewki irysa:

1. 10% FeCl_3 z użyciem po nim węglanu sodu — z negatywnym rezultatem;
2. siarczan żelaza z następującym po nim działaniem formaliną (wg podręcznika Mac Clunga, 1929) — z negatywnym wynikiem;
3. błękit metylenowy w rozcieńczeniu 1 : 500.000 — rezultat nijaki, bo łagiewki pękały albo zamierały;
4. 1% $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ — z negatywnym rezultatem;
5. 1% osm. kw. — z rezultatem negatywnym, chociaż po dłuższym działaniu na świetle zjawiały się drobne szare i czarne ziarnistości w żółtych wakuolach komórek generatywnych.

Wszystkie powyższe reakcje na substancje taninowe i fenolowe dały wyniki negatywne.

Zastosowałem oprócz tego utrwalanie w płynie Regaud IV. Łagiewki utrzymywały się bardzo dobrze i na preparatach trwałych bez barwienia i bezpośrednio po utrwaleniu na preparatach w wodzie zamkniętych. Kształt komórki generatywnej był bardzo wyraźny, a drobne wakuole na obu spiczastych końcach komórki występowały jako zupełnie niezabarwione oczka w cytoplazmatycznej siateczce. Tym samym ten utrwalacz był reaktywnym na substancje taninowe i fenolowe, bo w ich obecności wakuole zabarwiłyby się na brązowo lub ciemnobrązowo. Łagiewki po powyższym utrwalaczu barwiły się dobrze żelazową hematoksyliną. I znowu teren wakuolek w komórce generatywnej był nie zabarwiony, chociaż w jej cytoplazmie i w łagiewce chondriosomy barwiły się na czarno.

Z powyższych reakcji, jak również z zastosowania utrwalacza Regaud IV, wynika jeszcze raz, że żółty barwnik mieści się w wakuolach i że nie zawierają one substancji taninowych i fenolowych.

Próbowałem również zastosować znane z literatury reakcje rozpuszczania na flawony i oksyflawony (Klein 1923), ale zawsze z wynikiem nijakim, bo łagiewki od razu pękały w zastosowanych typowych rozpusz-

czalnikach. Następnie stosowałem szereg reakcji na oksyflawony i flawony znanych z literatury. Ogromna większość z nich nie udawała się po prostu dlatego, że łagiewki w płynach pękały. Poniżej wymienię niektóre z moich prób:

Działanie 1% NH_4OH — łagiewki od razu pękają. Działanie 1% NH_4OH na łagiewki poprzednio utrwalone powoduje żółknięcie całej łagiewki. Jest to rezultat nijaki, bo wakuole w komórce generatywnej już za życia miały kolor żółty.

Po zastosowaniu innych słabych alkali (Guilliermond et Gautheret 1933), np. 1% NaOH , łagiewki również pękały. Opary stężonego NH_4OH niszczyły łagiewki zupełnie. Jedna z reakcji proponowanych przez Kleina, a mianowicie działanie stężonego HCl przy temp. 40°C , wzmacnia żółty kolor łagiewek, ale nie daje przewidzianych strąceń. Uważam to za wynik nijaki.

Z szeregu reakcji proponowanych przez Hurel-Py (1933) stosowałem: a. wodę destylowaną z acetonem; b. wodę destylowaną z gliceryną; c. wodę destylowaną czystą. Przy bardzo krótkim działaniu przewidywane sferokryształy nie tworzyły się, a przy trzymaniu przez czas przepisowy — łagiewki pękały. Uważam więc ten wynik za nijaki.

Reakcja R. Combessa z 1—0,5% octanem ołowiu (Guilliermond et Gautheret 1946), zastosowana na żywe łagiewki, wywoływała natychmiastowe pęknięcia łagiewek. Zastosowana na łagiewki utrwalone poprzednio 10% formaliną nie wywoływała powstania przewidzianych żółtych kryształów, a przy dłuższym trzymaniu następowało czasami wyczernienie chromatyny jądra. Uważam ten rezultat za nijaki. Natomiast reakcja opisana przez Marini-Bettolo i Ballio (1946) dała wyraźnie pozytywny rezultat. Polega ona na użyciu SbCl_5 rozpuszczonego w bezwodnym CCl_4 , w stosunku 5—10 mg SbCl_5 na 5 cm^3 CCl_4 . Reaktyw ten użyty na żywe łagiewki powodował natychmiastowe ich zniszczenie. Dlatego musiałem używać łagiewek utrwalonych albo w 10% formalinie, albo w alkoholu absolutnym. Ale nawet w tych warunkach łagiewki nie wytrzymywały dłuższego działania tego odczynnika. Wybarwiły się natomiast bardzo wyraźnie wakuole w tych generatywnych komórkach, które nie zdążyły wyjść z pyłku do łagiewek. W tych warunkach wybarwiły się one na kolor czerwony, ale zbliżony do pomarańczowego lub brązowego. Otóż, zdaniem powyższych autorów, z SbCl_5 reagują: chalkony — dając kolor czerwony, flawony i flawonole — dając kolor pomarańczowy lub żółty. W komórce generatywnej irysa otrzymaliśmy kolor czerwony, ale raczej pośredni, bliższy do pomarańczowego. Zachodzi więc przypuszczenie — na podstawie tej reakcji — że barwniki obecne w wakuolach generatywnej komórki są albo flawonami, albo zawierają obok oksyflawonów również flawony.

Użycie tego odczynnika na żywe pyłki i łagiewki, jak już nadmienilem, nie dawało żadnego rezultatu, bo łagiewki niszczyły się. Spostrzegłem jednocześnie, że żółta substancja, pokrywająca zewnętrzne błony pyłkowe, barwi się od razu tym reaktywem na wyraźny kolor zielony. To bardzo wyraźne zabarwienie, przypominające kolor roztworów zieleni świetlnej, już po 2^h działania tego odczynnika stopniowo zanika.

Ostatni raz wróciłem do moich obserwacji nad żółtymi wakuolami w generatywnej komórce „hiszpańskiego“ żółtego irysa w 1951 roku. Wtedy także widziałem parę razy w łagiewkach spermy, tj. męskie komórki płciowe, również z żółtymi wakuolami na spiczastych końcach. Dwa razy udało mi się obserwować takie spermy z mocno na czerwono wybarwionymi wakuolami, po działaniu czerwieni obojętnej. W tym sezonie wysiałem również pyłek *Homeria pura* N. E. Br., rośliny z rodziny *Iridaceae*, o żółtych kwiatach, rosnącej dziko nad brzegami rzeki Vaal.

Tu również komórka generatywna w łagiewkach miała wyraźnie żółte wakuole. Część wyżej opisanych reakcji i przyżyciowych zabarwień powtórzyłem też na komórkach generatywnych *Homeria* z takim samym wynikiem.

Streszczając moje wyniki przyszedłem do przekonania, że: 1) nie miałem wyraźnie negatywnych reakcji na obecność oksyflawonów; 2) miałem trzy wyraźnie pozytywne wyniki, a mianowicie: a) otrzymanie koloru czerwono-malinowego z czerwieni obojętną, b) otrzymanie różowego zabarwienia po zieleni Janusowej, kiedy jednocześnie chondriosomy jeszcze były zielone, c) zabarwienie czerwone po SbCl_5 (reakcje Marini-Bettolo i Ballio).

Wobec tego, że w literaturze wciąż nie ma specyficznej i pewnej reakcji mikroskopowej na oksyflawony i flawony, uważam, iż przypuszczenie moje, że barwnik w wakuolach komórek generatywnych irysa „hiszpańskiego“ należy do oksyflawonów, a może nawet do flawonów, jest bardzo prawdopodobne.

W literaturze, o ile mi wiadomo, jest ogłoszona tylko jedna obserwacja K o s t r i u k o w e j (1939) o występowaniu, ale tylko zielonego barwnika, a nie żółtego, w komórce generatywnej u *Lilium Martagon*. Wobec tego postanowiłem to moje spostrzeżenie ogłosić, by zachęcić dalszych badaczy do zastosowania do tych obiektów więcej nowoczesnych metod badań, a zapewne szczególnie różniczkowej mikrospektrofotografii w świetle fioletowym i pozafioletowym. Już S h i b a t a, N a g a i i K i s h i d a (1916) stwierdzali, że oksyflawony i flawony mocno pochłaniają fioletowe i pozafioletowe promienie i że służą roślinom w krajach o bardzo silnym nasłonecznieniu jako ochronne świetlne filtry.

Pozostaje jeszcze do omówienia sprawa niewystępowania żółtego barwnika w moich hodowlach łagiewek żółtego irysa w Warszawie, w latach

przed 1939 r. Naturalnie przede wszystkim może tu zachodzić nieidentyczność gatunku. To, że pewne irysy Ogródu Botanicznego Uniwersytetu w Warszawie miały żółte kwiaty i że hodowcy nazwali je odmianą „Hiszpańską“, nie daje gwarancji, że one były tą samą odmianą, co hodowane w Johannesburgu, w Transwaalu, żółte irysy „Hiszpańskiej“ odmiany, sprowadzane z Holandii. Może tu zachodzić tylko prawdopodobieństwo tego samego gatunku, oparte raczej na tym, że i Ogród Botaniczny Warszawski też miał większość irysów z Holandii w tym czasie. O pochodzeniu „hiszpańskich“ irysów w Johannesburgu wiem od hodowców, według których są to mieszańce w różnych kombinacjach z *Iris Xyphium*. Jak wiadomo, istnieje oprócz tego gatunku cała sekcja „*Xyphia*“, irysów cebulkowatych (a nie kłęczastych jak nasze), o rozmieszczeniu w zachodniej części Śródziemnomorza (Engler u. Prantl 1930). Podobno, część tych „*Xyphia*“ krzyżowano z irysami płd.-afrykańskimi, a mieszańce nazwano „Irysami Hiszpańskimi“. Zupełnie jednak jest możliwe, że w hodowanych w Warszawie „hiszpańskich“ irysach, w warunkach łagodnego nasłonecznienia, oksyflawony i flawony w komórce generatywnej nie tworzą się, a powstają w tym samym gatunku hodowanym w warunkach nasłonecznienia Połudn.-Afryki jako ekran ochronny.

(Wpłynęło dn. 18.6.1958 r.)

Department of Botany
University of Witwatersrand
Johannesburg, U. S. Africa
oraz
Zakład Botaniki Ogólnej U. A. M.
w Poznaniu

SUMMARY

During his lecturership in 1946—1951 at Witwatersrand University, Johannesburg, Union of S.-Africa, the author found yellow pigment in vacuoles in pollen grain tubes of the yellow “spanish” *Iris* at both ends of generative cells.

Many reactions, recommended in papers by Guilliermond et Gautheret (1933a, b, 1946), Hurel-Py (1933), Klein (1923), Marini-Bettolo and Ballio (1946) for detection of oxyflavones and flavones were tried. None of them gave negative results. Many of the above reactions caused destruction of p. gr. tubes. All of them were inconclusive.

Only three reactions gave positive results. They were: 1) red. colour, so called “rouge framboise” of vacuoles in vivo with neutral-red., 2) pink colour of vacuoles with Janus green, 3) red, turning to orange-red, after treatment with SbCl_5 (after Marini).

Taking into consideration the lack of specific microscopic reactions in the literature for oxyflavones and flavones, the above mentioned results gave some reasonable grounds to take the yellow pigment in the vacuoles of generative cells for oxyflavones perhaps together with some flavones.

Many tests for the detection of tannins and phenolic substances were tried in the same vacuoles with negative results. The same yellow pigment in generative cells was found in 1951 in *Homeria pura*, some species of *Iridaceae*, indigenous for the Transvaal.

LITERATURA

- Engler und Prantl, 1930, Die natürliche Pflanzenfamilien (2 Edit., Vol. 15a: 504).
- Guilliermond A. et Gautheret R., 1933, Nouvelles remarques sur les caractères microchimiques des composées oxyflavoniques et les moyens de les distinguer de tanins, C. R. Soc. Biol. de France 112: 531.
- Guilliermond A. et Gautheret R., 1933, Caractères microchimiques des composées oxyflavoniques, leur localisation dans les vacuoles, Compt. R. d. l'Ac. Sci. 196: 369.
- Guilliermond A. et Gautheret R., 1946, Recherches sur la coloration vitale des cellules végétales, Rev. gén. de Bot. 53.
- Hurel-Py G., 1933, Sur un procédé d'obtenir la cristallisation des composées oxyflavoniques dans les vacuoles, Soc. Biol. d. France 112: 1191.
- Klein G., 1923, Der histochemische Nachweis der Flavone, Sitzungsberichte der Ak. d. Wiss. Wien. V. 131: 23.
- Kostriukova X. J., 1939, Observations in vivo on the formation of the male sex cells in *Lillium Martagon* L., Compt. Rend. de l'Acad. d. Sciences de l'URSS, 22 (7): 444.
- Marini-Bettolo G. B. and Ballio A., 1946, Some colour reactions of flavone compounds. Gas. Chim. Ital. 76: 410—418 (Referat w Chemical Abstracts 1941, October 20th, p. 6565).
- Ruhland W. und Wetzell K., 1924, Der Nachweis von Chloroplasten in den generativen Zellen von Pollenschläuchen. Ber. d. Deutsch. bot. Gesell. 42: 3—14.
- Shibata K., Nagai I., Kishida M., 1916, The occurrence and physiological significance of flavone derivatives in plants. The Journal of Biol. Chemistry 28 (1).

Wpływ kinetyny na syntezę alkaloidów u *Lupinus luteus* L.

The influence of kinetin on the synthesis of alkaloids in Lupinus luteus L.

W. MACIEJEWSKA-POTAPCZYKOWA i R. NOWACKI

WSTĘP

Zagadnienie korelacji pomiędzy przemianami białka a tworzeniem się alkaloidów budzi od dawna szczególne zainteresowanie, zwłaszcza w odniesieniu do łubinów pastewnych. Dążeniem bowiem hodowców jest wyselekcjonowanie takich odmian tej rośliny, które odznaczałyby się wysoką zawartością białek, przy jak najniższym procencie alkaloidów.

Wielu fizjologów uważa, że pomiędzy przemianami białkowymi a tworzeniem się alkaloidów zachodzi ścisły związek (T o m a s z e w s k i 1957), ale trudno jest uogólniać wnioski dotyczące zależności między zawartością alkaloidów u łubinów, gdyż zawartość tych składników zależna jest od gatunku, odmiany, stadium rozwojowego rośliny oraz od wpływów środowiska (S z a r a p o w cyt. przez B y s z e w s k i e g o 1957). Według P r i a n i s z n i k o w a oraz I w a n o w a (l. c.) zmiany w zawartości alkaloidów w łubinach są równoległe do zmian w zawartości białka. Lepsze zaopatrzenie roślin w azot może prowadzić według tych autorów do większej produkcji alkaloidów w łubinach.

G u i l l a u m e (cyt. B y s z e w s k i) twierdzi, że na ogół czynniki wpływające dodatnio na plony i zawartość białka zwiększają również zawartość alkaloidów.

Jednakże w świetle danych statystyki niemieckiej z roku 1939 (cyt. B y s z e w s k i) plon białka z jednostki powierzchni w łubinach pastewnych był wyższy niż w gorzkich.

Korelację między zawartością alkaloidów a zawartością białka w łubinach pastewnych badali w Polsce B y s z e w s k i, N a w r o c k i i G a b r i e l (dane nie opublikowane — cyt. przez B y s z e w s k i e g o), ale na podstawie uzyskanych danych nie udało się tym autorom wyciągnąć jakichś ogólniejszych wniosków.

Być może, że pewne światło na to zagadnienie mogłyby rzucić badania z zastosowaniem takich czynników, o których wiadomo, że są stymulatorami syntezy białek u roślin. Gdyby bowiem okazało się, że czynniki te wpływają jednocześnie (stymulując lub hamując) na syntezę alkaloidów, to badania takie mogłyby przyczynić się do rozstrzygnięcia zagadnienia, czy istnieje jakaś zależność między syntezą białek a syntezą alkaloidów.

Potężnymi stymulatorami syntezy związków azotu są niektóre substancje wzrostowe charakteru nukleinowego, w szczególności kinetyna.

Ostatnie badania naszego Zakładu nad mechanizmem działania kinetyny wykazały, że kinetyna oraz adenina (choć w mniejszym stopniu) są stymulatorami syntezy związków azotu w epikotylach grochu i w plechach wątrobowca *Riccia fluitans* (Maciejewska-Potapczyk i Keller 1958).

Badania te zostały rozszerzone przez Olszewską (1959), która stosując metody autoradiograficzne stwierdziła, że kinetyna stymuluje syntezę kwasów nukleinowych oraz białek w korzeniach cebuli.

Celem niniejszej pracy było zbadanie, czy kinetyna wywiera również wpływ na zawartość alkaloidów u izolowanych zarodków łubinu hodowanych *in vitro*.

Działanie kinetyny rozpatrywano w porównaniu z działaniem:

1. adeniny, ze względu na wyniki poprzednich doświadczeń (Maciejewska-Potapczyk, Keller), które wykazały, że adenina stymuluje syntezę związków azotu u niektórych roślin;

2. kwasu β -indoloocetowego (IAA); Hegnauer i Flück, a także Tsao i Youngken (cyt. przez Mothesa) próbowali zwiększyć zawartość alkaloidów w korzeniach *Atropa belladonna* przez spryskiwanie jej liści roztworami substancji wzrostowych typu auksyn, a mianowicie: kwasem 2,4-dwuchlorofenoksyocetowym; doświadczenia te nie dały pozytywnego wyniku;

3. mieszaniny kinetyny i IAA, która w poprzednich doświadczeniach najsilniej stymulowała syntezę związków azotu.

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Materiał do badań stanowiły zarodki wyizolowane z nasion łubinu.

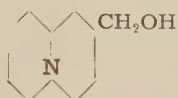
Jak to wykazały badania Tomaszewskiego (1957), cała zawartość alkaloidów w nasionach łubinu znajduje się w liścieniach, zarodki zaś **nie** posiadają ich zupełnie. Dopiero po wykiełkowaniu nasion alkaloidy przechodzą do rozwijającego się zarodka.

Brak alkaloidów w zarodkach łubinu pozwolił temu autorowi śledzić pojawienie się ich w późniejszym okresie rozwoju.

Dlatego też wydawało się nam celowe użycie podobnego materiału do badań nad wpływem kinetyny na syntezę alkaloidów w łubinie.

U poszczególnych gatunków łubinów występują różne alkaloidy, stanowiące jednak wspólną grupę dzięki podobieństwu w budowie chemicznej (Reifer 1954 a). Z szeregu tych alkaloidów najbardziej typowe są lupinina i sparteina dla łubinów słodkich — zawartość od 0,5—1,5% oraz lupanina i hydroksylupanina dla gorzkich — do 3% (Barbacki 1957, Nowotny 1929). Ze względu na to, że badania niniejsze przeprowadzono na łubinie żółtym, podajemy tylko bliższą charakterystykę sparteiny i lupininy. Oba te związki są pochodnymi pirydyny. Stechiometrycznie budowa ich wywodzi się od norlupininy.

Lupinina, tak jak inne alkaloidy, jest silną zasadą o następującej budowie:



Krystalizuje się ona w postaci rombów z eteru naftowego. Rozpuszcza się w wodzie (lepiej zimnej niż gorącej), alkoholu, eterze etylowym i benzenie.

Sparteina ma bardziej skomplikowaną budowę chemiczną niż lupinina. Stechiometrycznie przedstawia się ona następująco:



Sparteina jest bezbarwną cieczą, o charakterystycznym przykrym zapachu, trudno rozpuszczalną w wodzie. Z kwasami daje łatwo krystalizujące dwuwartościowe sole.

W badaniach naszych do oznaczeń zawartości alkaloidów w zarodkach łubinu posłużyliśmy się metodą kolorymetryczną opracowaną przez Reifera (1957, b). Metoda ta jest szybka i prosta, charakteryzuje się dużą czułością (pozwalającą na oznaczenie alkaloidów w roztworach wodnych o stężeniu do 0,0001%) oraz powtarzalnością wyników. Zaletą jej jest również to, że nie wymaga dużych ilości badanego materiału. Reifer zaleca ją specjalnie do oznaczania alkaloidów w łubinach słodkich.

Zasada tej metody polega na ilościowym wyekstrahowaniu alkaloidów z materiału roślinnego i kolorymetrycznym oznaczaniu ich ilości. Do kolorymetrycznego oznaczania wykorzystuje się stochiometryczną reakcję między oranżem metylowym a alkaloidami. W wyniku jej powstaje kompleksowy związek o żółtym zabarwieniu, który pod wpływem zakwaszo-

nego etanolu zmienia zabarwienie na różowe. Ilość związanego oranżu metylowego odpowiada ilości alkaloidów.

W pracy naszej oznaczaliśmy w badanym materiale sumę alkaloidów lupininy i sparteiny.

OPIS DOŚWIADCZEŃ

Hodowlę zarodków łubinu prowadzono metodą opisaną przez Tomaszewskiego (1957).

Nasiona łubinu żółtego płukano różnymi koncentracjami alkoholu etylowego: absolutnym 96% i 60%, a następnie wodą sterylizowaną. Po przepłukaniu moczo nasiona przez 20 minut w 0,2% sublimacie, po czym znów płukano je kilkakrotnie sterylizowaną wodą i po 12-godzinym moczeniu izolowano z nich zarodki w warunkach sterylnych, w szafce Hansena, w pomieszczeniu naświetlanym uprzednio lampą kwarcową. Wyizolowane zarodki umieszczono w probówkach z wysterylizowaną pożywką o następującym składzie:

KNO ₃	— 1,00 g	} na jeden litr wody
Ca (H ₂ PO) ₂	— 0,50 g	
K ₂ SO ₄	— 0,50 g	
MgSO ₄	— 0,25 g	
NaCl	— 0,25 g	
cytrynian żelaza 5% roztwór	— 5 kropli	
mikroelementy Hoaglanda	— 1 ml	

Źródłem węgla dla rozwijających się zarodków była sacharoza w ilości 40 gramów na 1 litr pożywki. Pożywkę zestalano agarem w ilości 10 gramów na 1 litr.

Jedna seria hodowli stanowiła kontrolę, do drugiej dodawano kinetynę do stężenia w pożywce 10⁻⁷, do trzeciej dodawano adeninę do stężenia w pożywce 10⁻⁷, do czwartej kwas β-indolooctowy do stężenia w pożywce 10⁻⁷, do piątej kinetynę i kwas β-indolooctowy do stężenia każdego ze składników 10⁻⁷.

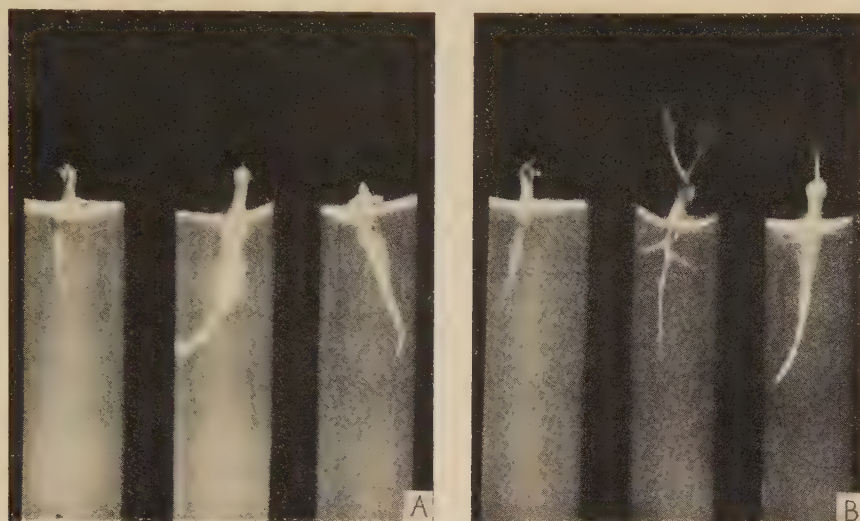
Probówki zatykano watą i umieszczano w pomieszczeniu o temperaturze około 22—23°C.

Należy zaznaczyć, że pomimo usiłowań przeprowadzenia doświadczenia jak najbardziej aseptycznie około 40% naszych hodowli ulegało zakażeniu, wobec czego dla otrzymania odpowiedniej ilości materiału do analiz trzeba było przeprowadzić bardzo dużo powtórzeń doświadczeń.

Do naszych prób wykonaliśmy około 1800 hodowli.

Już po kilku dniach (6—7) doświadczenia można było zauważyć szybszy rozwój zarodków hodowanych na podłożu zawierającym kine-

tynę. Zarodki te wykazywały w porównaniu z kontrolą szybszy wzrost łodyg i korzeni i szybsze powstawanie liści, co ilustrują załączone fotografie 7-dniowych hodowli:



Ryc. 1. Zarodki łubinu. A — kontrolne; B — stymulowane kinetyną
The embryos of lupin. A — controls; B — stimulated by kinetin

Dla uchwycenia momentu powstawania alkaloidów w zarodkach posługiwaliśmy się mikrochemiczną metodą ich wykrywania, opisaną przez Tomaszewskiego (1957).

Metoda ta polegała na zastosowaniu azotanu bizmutu w roztoku potasu, w środowisku kwasu azotowego, który to odczynnik daje z alkaloidami łubinu charakterystyczny pomarańczowy, bezpostaciowy osad.

Wykonywaliśmy przekroje podłużne zarodków, które zadawaliśmy wyżej opisanym odczynnikiem i obserwowaliśmy pomarańczowe zabarwienie elementów naczyniowych. Zabarwienie to u zarodków hodowanych na podłożu z kinetyną można było zaobserwować już w 4 dniu doświadczenia, podczas gdy u zarodków kontrolnych stawało się widoczne dopiero po 7—8 dniach hodowli.

Jeśli chodzi o hodowlę z zastosowaniem pozostałych substancji wzrostowych, to nie udało się nam zaobserwować różnic w szybkości pojawiania się alkaloidów w zarodkach.

Oznaczenia zawartości alkaloidów w badanych zarodkach oznaczaliśmy w czterech seriach.

Do pierwszych oznaczeń użyliśmy zarodków, które były odizolowane od liści dopiero w 4 dni po wykiełkowaniu. Ponieważ zarodki te wykazywały obecność znacznych ilości alkaloidów nawet w kontroli, przeto

do dalszych badań używaliśmy zarodków izolowanych z nasion po 12 godzinach moczenia w wodzie.

Zawartość alkaloidów w I serii doświadczeń oznaczaliśmy po 6 dniach, w następnych seriach po 14 dniach hodowli.

W celu przeprowadzenia oznaczeń zarodki wyjmowano z probówek, przepłukiwano je bieżącą wodą aż do usunięcia z nich resztek pożywki, a następnie suszono na powietrzu.

Tabela 1

Zawartość alkaloidów w zarodkach łubinu * po 6 dniach hodowli
The alkaloids content in embryos of lupin

Rodzaj doświadczenia Kind of experiment	Zawartość alkaloidów wyrażona w % w stosunku do powietrznie suchej masy The alkaloids content in % in relation to the air-dried mass	Przyrost zawartości alkaloidów w stosunku do kontroli II wyrażony w % The increase of alkaloids content in relation to the control in %
Kontrola I Controls I	0,35	
Kontrola II Controls II	1,09	
Kinetyna Kinetin	1,73	60
Adenina Adenine	1,50	38
IAA	1,34	22
IAA + kinetyna IAA + kinetin	0,71 1,84 **)	

Cznczanie ilości alkaloidów w badanym materiale przeprowadzano w następujący sposób:

Odważkę około 0,5 g wysuszonych zarodków rozcierano z dodatkiem 0,7 ml st. NH_3 przez 30 minut, w moździerzu porcelanowym. Dokładne rozcieranie było konieczne dla zniszczenia struktury komórkowej i uwolnienia alkaloidów z wodniczek. Amoniak alkalizował środowisko. Następnie dla odwodnienia materiału dodawano do roztartych tkanek łubino-

* Zarodki były izolowane z nasion po 4 dniach.

** Oznaczeń dla mieszaniny kinetyny i IAA nie udało się przeprowadzić ze względu na bardzo rozbieżne wyniki analiz.

Tabela 2

Zawartość alkaloidów w zarodkach łubinu (izolowanych z namoczonych nasion po 12 godzinach) po 14 dniach hodowli

The alkaloids content in embryos of lupin

Rodzaj doświadczenia Kind of experiment	Zawartość alkaloidów wyrażona w % w stosunku do powietrznie suchej masy The alkaloids content in % in relation to the air-dried mass	Przyrost zawartości alkaloidów wyrażony w % The increase of alkaloids content in relation to the control in %
--	---	--

Doświadczenie I — Experiment I

Kontrola Controls	0,11	
Kinetyna Kinetin	0,38	250
Adenina Adenine	0,22	100
IAA	0,13	30
Kinetyna + IAA Kinetin + IAA	0,17	55

Doświadczenie II — Experiment II

Kontrola Controls	0,086	
Kinetyna Kinetin	0,29	240
Adenina Adenine	0,15	75
IAA	0,17	100
Kinetyna + IAA Kinetin + IAA	0,23	170

Doświadczenie III — Experiment III

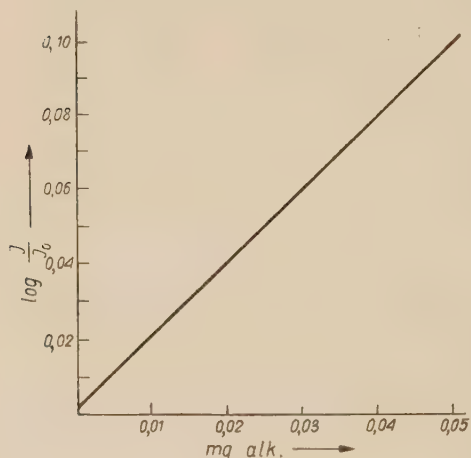
Kontrola Controls	0,13	
Kinetyna Kinetin	0,35	170
Adenina Adenine	0,25	40
IAA	0,19	45
Kinetyna + IAA Kinetin + IAA	0,25	40

wych około 1 g ziemi krzemkowej, prażonej uprzednio przez 3 godziny, w temperaturze 250°C. Miazgę łubinową wraz z ziemią krzemkową przenoszono ilościowo do 30 ml chloroformu. Używano chloroformu przedestylowanego z nadchlorku wapnia. Dla wyekstrahowania alkaloidów wytrząsano próbkę mechanicznie przez 30 minut. Roztwór chloroformowy, zawierający alkaloidy, oddzielano od pozostałości przez sączenie na nuczycy G_3 pod zmniejszonym ciśnieniem.

Dla przeprowadzenia alkaloidów w postać chlorowodorków, do wyciągu chloroformowego dodawano 2 ml 0,1 n HCl. Wolny chloroform oddestylowano na łaźni wodnej.

W celu oczyszczenia alkaloidów, chlorowodorki kilkakrotnie rozpuszczano w eterze naftowym i chloroformie. W pierwszym etapie oczyszczania rozpuszczano je w 15 ml eteru naftowego i przenoszono ilościowo do rozdzielacza. Z eteru naftowego alkaloidy przeprowadzano w postać chlorowodorków przez trzykrotną ekstrakcję 0,1 n HCl. Wodny roztwór chlorowodorków alkaloidów uzupełniano wodą do 50 ml. Następnie pobierano po 2 ml wodnego roztworu chlorowodorków alkaloidów i po zalkalizowaniu próbki 1 ml 5 n NaOH ekstrahowano je 4 porcjami chloroformu (po 10 i 5 ml). Wyciągi chloroformowe zebrane do rozdzielacza ponownie ekstrahowano 0,1 n HCl.

Z tak oczyszczonych alkaloidów znajdujących się znowu w postaci chlorowodorków, pobierano po 5 ml i po zalkalizowaniu 0,2 ml wodorotlenku sodowego ekstrahowano je 3 porcjami po 5 ml chloroformu. Ekstrakty chloroformowe uzupełniano do 20 ml i przenoszono do suchego rozdzielacza. Celem otrzymania barwnego kompleksowego związku do próbek dodawano po 0,3 ml oranżu metylowego i wytrząsano je przez 3 minuty. Po odstaniu i oddzieleniu się nie związanego oranżu metylowego od roztworu chloroformowego alkaloidów usuwano warstwę oranżu metylowego. Dla dokładniejszego oddzielenia nie związanego oranżu, mogącego jeszcze występować w roztworze, odwirowywano go od roztworu



Ryc. 2. Krzywa koncentracji / ekstynkcji dla sparteiny
Curve of the concentration/extinction for the sparteine

chloroformowego. Do kolorymetrowania pobierano po 5 ml żółtego roztworu chloroformowego i — po dodaniu 1 ml etanolu zakwaszonego st. HCl — wykonywano pomiar w fotokolorymetrze Hilger—Spekkera przy zielonym filtrze, porównując ze ślepą próbą zawierającą tylko odczynniki. Wykonywano po 2—3 próby dla każdej serii doświadczeń.

Dla oznaczeń kolorymetrycznych nie znanych ilości alkaloidów w zarodkach sporządzono krzywą zależności stężenia i ekstynkcji roztworów sparteiny (siarczan sparteiny— $\text{BH}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, CEFARM-Warszawa).

Krzywą wykonano na podstawie 18 odważek sparteiny dla fotokolorymetru Hilger-Spekkera przy zielonym filtrze.

Zakres wielkości odważek sparteiny dobrano według ekstynkcji wyciągów badanego materiału.

Wyniki oznaczeń stanowiących zawsze średnią 2 równoległych analiz zebrano w tabelach 1 i 2.

Wyniki analiz wykazują wysoki (prawie 3-krotny) wzrost zawartości alkaloidów kontroli II (zarodki po 6 dniach hodowli na pożywce) w stosunku do kontroli I (zarodki badane na zawartość alkaloidów bezpośrednio po wyizolowaniu z nasion).

Zarodki hodowane na pożywkach z dodatkiem substancji wzrostowych wykazują znaczny przyrost zawartości alkaloidów: najwyższy przy kinetynie, niższy przy adeninie, najniższy przy kwasie β -indoloocetowym.

Wyniki oznaczeń wskazują bardzo wysoki wzrost zawartości alkaloidów, szczególnie w hodowlach z dodatkiem kinetyny. Przyrost ten jest w dwu seriach doświadczeń przeszedł dwukrotnie, w trzeciej wynosi 170%.

Pozostałe substancje wzrostowe stymulują również bardzo silnie syntezę alkaloidów w zarodkach łubinu, choć dane nie zawsze są zgodne i dlatego trudne do interpretacji.

Obliczenia zawartości alkaloidów wykonano w ten sposób, że na podstawie ekstynkcji badanych próbek ustalano zawartość alkaloidów w 5 ml roztworu. Uwzględniając rozcieńczenie badanego roztworu, oznaczano całkowitą zawartość alkaloidów w próbce i odnoszono ją do odważki badanego materiału. Jako przykład podajemy obliczenie do tabeli 2 (dośw. 1) dla próbki z kinetyną. Ekstynkcja dla alkaloidów zawartych w 5 ml wyciągu wynosiła 0,02, co odpowiada według naszej krzywej 0,009 mg alkaloidów. Wobec tego w 1 ml roztworu znajduje się 0,009 mg: $5 = 0,0018$ mg alkaloidów.

Uwzględniając rozcieńczenie roztworu $25 \times 10 \times 4 = 1000$ (patrz opis metodyki na str. 88—90) wyliczano całkowitą zawartość alkaloidów

w próbce i odnoszono ją do powietrznie suchej masy. Odważka materiału wynosiła 0,4975 g. Zawartość alkaloidów w ‰ wynosi więc:

$$\begin{array}{r}
 0,0018 \text{ mg} \times 1000 = 1,8 \text{ mg} \\
 1,8 \text{ mg} - 0,4975 \text{ g} \\
 0,0018 \text{ g} - 0,4975 \text{ g} \\
 \quad \quad \quad x - 100 \text{ g} \\
 \hline
 x = \frac{0,0018 \times 100}{0,4975} = \frac{0,18}{0,4975} = 0,38‰
 \end{array}$$

OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

Zestawiając wyniki doświadczeń nad wpływem badanych substancji wzrostowych na syntezę alkaloidów w zarodkach łubinu, można powiedzieć, że wszystkie one są stymulatorami syntezy alkaloidów, ale najaktywniejszą spośród nich okazała się kinetyna, gdyż największy przyrost zawartości alkaloidów obserwujemy we wszystkich seriach doświadczeń w hodowlach z dodatkiem kinetyny.

Jeśli chodzi o działanie pozostałych substancji wzrostowych, to można tylko powiedzieć ogólnie, że stymulują one również syntezę alkaloidów, ale trudno jest porównywać ze sobą intensywność działania poszczególnych związków, ze względu na dużą rozpiętość wyników.

Tak np. przyrost zawartości alkaloidów waha się: przy adeninie w granicach 40—100‰, przy kwasie β -indolooctowym od 30—100‰, przy mieszaninie kinetyny i kwasu β -indolooctowego od 40 do 170‰.

Charakterystyczne jest, że przy użyciu do badań zarodków łubinu izolowanych z kielkujących nasion, dopiero po 4 dniach stwierdziliśmy znacznie wyższą zawartość alkaloidów, nawet w materiale kontrolnym, niż w zarodkach izolowanych z nasion moczonych w wodzie w ciągu 13 godzin.

Tak wysoka zawartość alkaloidów w 4-dniowych zarodkach, nie oddzielonych od liścieni, może być chyba tłumaczona szybkim przechodzeniem alkaloidów uruchamianych w wyniku procesów enzymatycznych z liścieni do kielków.

Dane nasze, dotyczące zawartości alkaloidów w zarodkach oddzielonych od liścieni po 4 dniach (kontrola I), zbliżone są do danych Z. Nowotny, która ustaliła zawartość alkaloidów w zarodkach łubinu słodkiego na 0,24‰.

Wczesne odizolowanie zarodków od nasion umożliwiło otrzymanie materiału pozbawionego zupełnie alkaloidów. Użycie takich zarodków do analiz daje możliwość uzyskania bardziej prawdziwego obrazu wpływu badanych substancji na syntezę alkaloidów.

Wyniki naszych doświadczeń wydają się potwierdzać koncepcję tych autorów (Guillaume, oraz Prianisznikow i Iwanow, cyt. przez Byszewskiego), którzy wiążą syntezę alkaloidów z syntezą białek.

Rezultaty bowiem poprzednich doświadczeń naszego Zakładu (Maciejewska-Potapczykowa i Keller 1958), prowadzonych na epikotylach grochu, wskazują wyraźnie, że kinetyna, adenina, kwas β -indoloocetowy, a także mieszanina kinetyny i kwasu β -indoloocetowego są stymulatorami syntezy związków azotu.

Dla potwierdzenia jednak hipotezy o związku między syntezą alkaloidów i białek, należałoby przeprowadzić badania, których celem byłoby ustalenie korelacji pomiędzy przyrostem białek i alkaloidów w tym samym materiale.

STRESZCZENIE

Punktem wyjścia niniejszej pracy były: z jednej strony poglądy o związku między syntezą białek i syntezą alkaloidów u łubinów, z drugiej zaś nasze badania nad rolą kinetyny jako stymulatora syntezy związków azotu u niektórych roślin.

Celem pracy było zbadanie wpływu kinetyny, adeniny, kwasu β -indoloocetowego oraz mieszaniny kinetyny i kwasu β -indoloocetowego na syntezę alkaloidów u zarodków *Lupinus luteus* hodowanych *in vitro*.

Zawartości alkaloidów w badanym materiale oznaczono metodą kolorymetryczną opracowaną przez Reifera.

Stwierdzono, że wszystkie wymienione substancje wzrostowe, a w szczególności kinetyna, stymulują syntezę alkaloidów u zarodków łubinu hodowanych *in vitro*.

Zawartość alkaloidów w zarodkach hodowanych na podłożach zawierających kinetynę była w większości doświadczeń przeszło dwukrotnie wyższą w stosunku do kontroli.

Przyrost zawartości alkaloidów w zarodkach, hodowanych na pożywkach z dodatkiem adeniny, IAA i mieszaniny kinetyny i IAA, wahał się w granicach 30—170%.

Zakład Biochemii
Uniwersytetu Łódzkiego

(Wpłynęło dn. 24.6.1958 r.)

SUMMARY

The purpose of the present paper was to test the role of kinetin, adenine, β -indoloacetic acid as well as of the mixture of kinetin and β -indoloacetic acid on the synthesis of alkaloids in *Lupinus luteus* embryos grown *in vitro*.

The alkaloids content was investigated using Reifer's colorimetric method.

It was found that all above mentioned growth promoting substances and especially kinetin stimulate alkaloids synthesis in lupin embryos grown in vitro.

In the majority of the experiments the amount of alkaloids in embryos cultivated on mediums with kinetin was more than twice bigger as in controls.

The increase in alkaloids content on mediums with adenine or IAA or the mixture of kinetine and IAA was from 30 to 170%.

LITERATURA

- Barbacki S., 1952, Łubin, Warszawa.
- Byszewski W., 1957, Hodowla roślin, aklimatyzacja i nasiennictwo 1 (3): 326—369.
- Maciejewska-Potapczykowa W., Keller Z., 1958, Acta Soc. Bot. Pol. 27 (2): 161—177.
- Mothes K., 1955, Annual Review of Plant Physiology 6: 393—425.
- Nowotny Z., 1929, Pamiętniki P. I. G. W.
- Olszewska M., 1959, Études autoradiographiques de l'influence de la kinétine sur l'incorporation de l'adénine dans les cellules du méristème racinaire d'*Allium cepa*, Exp. Cell. Res. 16: 192—202.
- Olszewska M., 1959, Études autoradiographiques de l'influence de la kinétine sur la synthèse des acides nucléiques et des protéines, Acta Soc. Bot. Pol. 28 (1).
- Reifer I., 1954, Acta Biochimica Polonica 1 (3—4).
- Reifer I., 1957, Acta Biochimica Polonica 4 (3): 165.
- Tomaszewski Z., 1957, Hodowla roślin, aklimatyzacja i nasiennictwo 1 (3): 375—385.
- Wierzchowski Z., 1952, Roczniki Nauk Rolniczych 61: 159—191.

Wpływ kinetyny na zawartość węglowodanów w epikotylach grochu

The influence of kinetin on the carbohydrates content in peas epicotyls

W. MACIEJEWSKA-POTAPCZYKOWA i H. ŁUKASIAK

WSTĘP

Skoog, Jabłoński i Skoog, Naylor, Sander i Skoog wykazali, że w wycinkach rdzenia łodygi tytoniu hodowanych *in vitro* na pożywce mineralnej zestalonej agarą, zawierającej kwas β -indolooctowy zachodzi intensywne zwiększanie się rozmiarów komórek, w których następuje jednocześnie szereg podziałów mitotycznych. Mitozom tym jednak nie towarzyszy cytokineza z zakładaniem się błon komórkowych, co prowadzi do pozostawiania dużych komórek wielojądrowych.

Jeżeli do środowiska dodać kinetyny, wówczas w rdzeniu łodygi tytoniu zaczyna przebiegać normalna cytokineza.

Z obserwacji tych wynika, że kinetyna jest hormonem podziałów komórkowych dla wzrostu typu meresis, a kwas β -indolooctowy głównie czynnikiem zwiększania się rozmiarów komórek przy wzroście typu auxesis (Terminy meresis i auxesis używane są przez Thimanna 1956).

Wobec panującego powszechnie poglądu, że działanie substancji wzrostowych polega przede wszystkim na aktywacji oddychania, stanowiącego źródło energii niezbędnej dla wzrostu (Bonner), Jensen poddał badaniom intensywność oddychania wycinków z różnych stref wzrostu korzenia *Vicia faba* i stwierdził, że strefa szybkich podziałów komórkowych wierzchołków wzrostu jest jednocześnie strefą niskiej aktywności oddechowej w porównaniu z komórkami czapeczki korzeniowej oraz ze strefą wydłużania się i dyferencjacji.

Pracując na materiale zwierzęcym Mazia i Prescott (1954) wykazali, że zdolność ameby do estryfikacji nieorganicznych fosforanów wyraźnie maleje podczas podziałów komórkowych, zaś Brachet stwier-

dził, że zahamowanie oddychania nawet w 90% pozostaje bez wpływu na podziały komórkowe jaj żaby.

Zmierzając do wyjaśnienia mechanizmu działania kinetyny od strony wpływu tego związku na aktywność procesów oddechowych, Glasziou porównywał intensywność oddychania (przez oznaczanie intensywności pobierania tlenu oraz oznaczanie ilości ufosforylowanych produktów pośrednich procesu oddychania) wycinków rdzenia łodygi tytoniu poddanych działaniu: 1. kinetyny, 2. kwasu β -indolooctowego.

Autor ten stwierdził, że kinetyna pobudza oddychanie tylko w okresie 5—8 godzin od początku doświadczenia. Po upływie tego czasu intensywność procesów oddechowych u wycinków stymulowanych kinetyną i stymulowanych kwasem β -indolooctowym jest bardzo podobna.

Z doświadczeń tych Glasziou (1957) wyprowadza wniosek, że wymagania energetyczne badanych tkanek są bardzo podobne zarówno dla podziałów komórkowych, jak i dla wzrostu komórek i związane są raczej z procesami syntezy w cytoplazmie niż z naturą zmian cytologicznych przebiegających w tkankach.

Działanie kinetyny pobudzające cytokinezę wiąże się ściśle zdaniem tego autora z metabolizmem błon komórkowych.

Według poglądu Thimanna i Chouarda (1956) zakładanie się i wzrost błony pierwotnej zachodzi dzięki aktywności metabolicznej cytoplazmy, która pozostaje z nią w kontakcie; energia potrzebna do tego procesu czerpana jest z wykorzystania tłuszczów lub cukrowców na drodze oddychania, a uruchamiana działaniem niektórych dehydrogenaz, fosforylazi i oksydazy cytochromowej.

Według Bonnera (1950) składniki błony komórkowej formują się w zależności od procesów zachodzących w protoplazmie. Sama błona komórkowa stanowi raczej element inertny, a jej skład jest odpowiednikiem całego metabolizmu komórki.

Być może, że zaobserwowane przez Glasziou na początku doświadczenia zwiększenie intensywności oddychania wycinków łodygi tytoniu, na które działano kinetyną, związane jest z pobudzaniem wydajności źródeł energii dla tworzenia nowych składników błony komórkowej, tzn. celulozy lub pektyn.

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu kinetyny na zawartość węglowodanów w etiolowanych epikotylach grochu.

W badanym materiale oznaczano 5 różnych grup węglowodanów: 1. jedno-, dwu- i trójcukrów, 2. dekstryn, śluzów i części substancji pektynowych, 3. skrobi, 4. hemiceluloz i pektyn, 5. celuloz.

Jeżeli istotnie kinetyna jest czynnikiem stymulującym metabolizm błon komórkowych, to powinny pod jej wpływem nastąpić przesunięcia w zawartości węglowodanów poszczególnych grup: kosztem węglowoda-

nów bardziej prostych, jedno- i dwu-cukrów, powinna zwiększyć się zawartość wielocukrów wchodzących w skład błon komórkowych, a więc przede wszystkim błonnika, hemiceluloz i substancji pektynowych.

Aktywność kinetyny w stymulowaniu procesów syntezy wielocukrów rozpatrywano w porównaniu z aktywnością 1. kwasu β -indolooctowego — ze względu na dane Glasziou, który stwierdza, że wymagania energetyczne rośliny przy podziałach komórkowych i przy wzroście komórek są podobne, ale kinetyna jest, w odróżnieniu od kwasu β -indolooctowego, czynnikiem niezbędnym dla normalnej cytokinezy z zawiązywaniem się błon komórkowych, 2. adeniny — z uwagi na szereg danych w literaturze o zasadach purynowych i pirymidynowych jako czynnikach wzrostowych roślin (Sabinin i Połozowa 1957), 3. mieszaniny kinetyny i kwasu β -indolooctowego (według danych Millera i Skooga (1955), Skinnera i Shive (1955) oraz de Roppa (1956) kinetyna jest szczególnie aktywna w obecności kwasu β -indolooctowego).

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Materiał do badań nad działaniem omawianych substancji wzrostowych stanowiły etiolowane epikotyle grochu, a więc części rośliny intensywnie rosnące i bardzo wrażliwe na działanie stymulatorów wzrostu, które w poprzednich naszych doświadczeniach (Maciejewska-Potapczyk, Keller 1958) silnie reagowały na działanie kinetyny zwiększeniem zawartości azotu ogólnego.

Do oznaczeń węglowodanów w badanym materiale posługiwano się opisaną przez Biełozierskiego metodą oznaczania 5 grup węglowodanów w jednej odważce.

Schemat tej metody oparty jest na różnych właściwościach, fizycznych i chemicznych, węglowodanów.

Pod względem fizjologicznym można węglowodany podzielić na: 1. węglowodany chwiejne, łatwo mobilizowane i łatwo przechodzące jedne w drugie, zależnie od warunków fizjologicznych, 2. węglowodany mało chwiejne, mobilizowane wtedy, gdy nie ma innych zapasów węglowodanowych, 3. węglowodany stałe, które w zwykłych warunkach nie są wykorzystywane.

1. Węglowodany chwiejne mogą występować w komórce w stanie rozpuszczalnym lub nierozpuszczalnym. Niektóre węglowodany rozpuszczalne dają się ekstrahować z materiału roślinnego alkoholem, inne zaś tylko wodą. Dzięki tym różnicom własności poszczególnych węglowodanów można je frakcjonować.

Na skutek działania na materiał roślinny 80—90% alkoholem, do roztworu przechodzą krystaliczne jedno-, dwu- i trójcukry (I grupa). W obrę-

bie tej grupy cukry można podzielić na podstawie ich własności chemicznych, a mianowicie podatności na kwaśną hydrolizę.

Dla uzyskania obrazu zawartości jedno- i dwucukrów różnego typu w danej frakcji oznaczamy zdolność redukującą cukrów tej frakcji przed hydrolizą, a następnie po kolejnych hydrolizach kwasem o coraz większych stężeniach.

Przy dalszym ekstrahowaniu materiału zimną wodą do roztworu przechodzą koloidalne wielocukry rozpuszczalne w wodzie: dekstryny, inulina i inne lewulozany, śluzy i część substancji pektynowych (II grupa). Dyferencjację w tej grupie można przeprowadzić na podstawie stopnia podatności na hydrolizę, zdolności tworzenia furfurołu i reagowania z jodem w środowisku alkalicznym.

Do węglowodanów chwiejnych nierozpuszczalnych należy skrobia, która może być wyciągnięta wodą po uprzedniej hydrolizie enzymatycznej (III grupa).

2. Do węglowodanów mało chwiejnych należą hemicelulozy (heksozany i pentozany) oraz substancje pektynowe. Grupa ta jest dość różnorodna i dlatego trudno ją rozdzielić na poszczególne składniki. Pewien podział w tej grupie można przeprowadzić na podstawie oznaczenia ogólnej własności redukcyjnej, oznaczenia pentoz i kwasów uronowych. Zazwyczaj węglowodany tego typu określa się sumarycznie, na podstawie własności redukujących po hydrolizie materiału 2% kwasem solnym (IV grupa).

3. Po wyciągnięciu i oznaczeniu wszystkich wymienionych węglowodanów w materiale roślinnym pozostają węglowodany stałe, tworzące szkielet rośliny (V grupa). Do nich należy przede wszystkim błonnik, a także w szczególnych przypadkach chityna. Tak więc wykorzystując różną rozpuszczalność cukrów i ich podatność na hydrolizę można oznaczyć stopniowo w jednym i tym samym materiale zawartość węglowodanów w poszczególnych frakcjach.

Do analiz zawartości cukrów w kolejnych wyciągach i hydrolizatach posługiwano się metodą Bertranda, zalecaną specjalnie przez Biełozierskiego w odniesieniu do analizy ilości węglowodanów w jednej odwarze materiału roślinnego.

OPIS DOŚWIADCZEŃ

Do doświadczeń użyto 2 odmian grochu: zwykłego grochu siewnego (*Pisum sativum*) oraz grochu o nasionach marszczonych, odmiany „Szlachetna Perła”.

Okazało się bowiem, że zwykły groch siewny zawiera stosunkowo mało cukrów, szczególnie grupy I, natomiast groch odmiany „Szlachetna Perła” posiada ich znacznie więcej. Dlatego też tylko nasze pierwsze orienta-

cyjne próby wykonane były na grochu zwykłym, a następnie, dla uniknięcia możliwych błędów w oznaczeniach bardzo drobnych ilości cukrów, przeszedłmy całkowicie na odmianę „Szlachetna Perła”.

Nasiona przeznaczone do kiełkowania sterylizowano w następujący sposób: około $1\frac{1}{2}$ kg grochu myto dokładnie wodą i szarym mydłem, następnie nasiona płukano wodą i zalewano na 15 sek. 10% roztworem sublimatu, po czym płukano je przez 3—4 godz. mocno chlorowaną, bieżącą wodą. Ten sposób sterylizacji dawał lepsze wyniki niż opisany przez Biełozierskiego, który zaleca zalewanie nasion najpierw alkoholem absolutnym, a następnie sublimatem.

Nasiona wysadzano sterylnie w akwariach, na gęsto obok siebie ułożonych rulonikach wilgotnej bibuły. Akwaria zakryte płytami szklanymi umieszczano w ciemności, w temperaturze pokojowej.

Po 5—6 dniach nasiona kiełkowały, a kiełki osiągały wysokość około 4 cm. Z górnej części epikotyli wycinano odcinki o długości jednego centymetra. W części tych wycinków oznaczano zawartość węglowodanów.

Resztę wycinków umieszczano (po 4—5 g) w szalkach Petriego, napełnionych pożywką Knopa z dodatkiem roztworu mikroelementów A—Z (wg Hoaglanda i Snydersa) oraz sacharozy w ilości 1 g na 100 ml pożywki.

Następnie do szalek dodawano:

1. kinetyny do stężenia w pożywce $10^{-70}\%$. (Używano kinetyny zsyntetyzowanej przez prof. Supniewskiego. Preparat rozpuszczano w 0,1 n HCl, a następnie roztwór zobojętniano do pH 7,
2. kwasu β -indoloocetowego (IAA) do stężenia w pożywce $10^{-70}\%$,
3. adeniny (w postaci siarczanu adeniny) do stężenia w pożywce $10^{-70}\%$,
4. kinetyny i kwasu β -indoloocetowego do stężenia każdego ze składników $10^{-70}\%$,
5. kontrola (bez dodatku substancji wzrostowych).

Ponieważ wycinki pływały po powierzchni roztworów, dostęp tlenu był zapewniony.

Zakryte szalki umieszczano w ciemności w temperaturze pokojowej.

Należy nadmienić, że hodowle ulegały bardzo często zakażeniu i, dla czystych kultur materiału, konieczne było stosowanie licznych powtórzeń doświadczenia.

Po 6—7 dniach materiał analizowano na zawartość węglowodanów. W tym celu epikotyle hodowane na pożywkach z dodatkiem badanych substancji wzrostowych osuszano bibułą, a następnie w części ich oznaczano suchą masę, a część utrwalano w alkoholu w następujący sposób: próbki umieszczano w erlenmajerkach o pojemności 50 ml, zalewano 82% etanolem i podgrzewano w łaźni wodnej pod chłodnicą zwrotną w temp.

78°C, przez 30 minut. Tak utrwalony materiał można było przechowywać dowolną ilość czasu.

Z utrwalonego materiału zlewano alkohol (w którym były rozpuszczone cukry proste) do kolby okrągłodennej, o pojemności 200 ml. Pozostały materiał w celu lepszej ekstrakcji rozdrabniano grubą, ostro ściętą bagietką. Rozdrobniony materiał zalewano świeżą porcją 82% alkoholu etylowego i ekstrahowano znów jak poprzednio. Czynność tę powtarzano czterokrotnie. Ostatni ekstrakt był już zupełnie bezbarwny, podczas gdy pierwszy miał kolor słomkowo-żółty. Cukry rozpuszczalne w alkoholu stanowiły pierwszą frakcję. Wyciąg alkoholowy zagęszczano w temp. 45° na łaźni wodnej w próżni (10—12 mm wysokości słupa rtęci). Aby zapobiec przerzucaniu materiału do chłodnicy, wprowadzono do wyciągu przez górny korek kapilarę, która zapewniała stały przepływ małego strumienia powietrza. Małe pęcherzyki powietrza przechodzące przez ekstrakt zapewniały równomierne jego wrzenie. Po odparowaniu alkoholu i wody pozostawał gęsty syrop, który zalewano niewielką ilością ciepłej (ok. 30°C) wody, silnie wytrząsano i odparowywano w tych samych warunkach. Uzyskany syrop rozpuszczano w 20 ml wody i zlewano ilościowo do kolbki miarowej na 50 ml, przepłukując 2—3-krotnie kolbę, w której był syrop, ciepłą (ok. 30°C) wodą. Ciepłą wodę stosowano ze względu na lepszą rozpuszczalność w niej cukrów. Celem wytrącenia zanieczyszczeń charakteru białkowego, do roztworu dodawano kilka kropel 10-procentowego roztworu octanu ołowiu. Zawartość kolbki uzupełniano do 50 ml, mieszano, a po odstaniu odsączano wytrącony osad. Z przesączu brano 25 ml, z dawano 10-procentowym roztworem siarczanu sodu aż do całkowitego wytrącenia nadmiaru octanu ołowiu. Osad odwirowywano, a klarowny roztwór znad osadu zlewano do kolby miarowej i uzupełniano do 50 ml. Z tak przygotowanego roztworu Biełozierski poleca pobieranie próbek do oznaczeń cukrów trzech podfrakcji należących do frakcji I:

- 1) cukrów wprost redukujących,
- 2) sacharozy,
- 3) maltozy i ew. innych.

Cukry wprost redukujące oznacza się bezpośrednio (bez hydrolizy). sacharozę po uprzedniej 5-minutowej hydrolizie 2% kwasem solnym. a maltozę po hydrolizie 1% kwasem solnym w ciągu 3 godzin.

Ponieważ w naszych doświadczeniach nie przeprowadzano analizy jakościowej na występowanie poszczególnych cukrowców w epikotylach grochu i nie wiedzieliśmy, czy w naszych hydrolizach występuje maltoza, której zdolność redukcyjną po hydrolizie podwaja się, czy też inne dwucukry, które redukują całkowicie dopiero po hydrolizie — przeto węglowodany I grupy oznaczaliśmy tylko sumarycznie po 3-godzinnej hydrolizie 1% kwasem solnym.

Po zakończeniu hydrolizy roztwory zobojętniano węglanem sodu do pH 7, wlewano płyn Fehlinga i podgrzewano aż do wrzenia, które utrzymywano przez 3 minuty. Płyn odstawiano aż do opadnięcia tlenku miedziawego, a następnie sączono przez lejek porcelanowy C-4. Osad przemywano ciepłą wodą. Tlenek miedziawy rozpuszczano w kwaśnym roztworze siarczanu żelazowego $[\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3]$, a następnie miareczkowano 0,1 n roztworem KMnO_4 .

Przy obliczaniu ilości cukrów, odpowiadającej ilości zredukowanej miedzi, posługiwano się tabelą opracowaną przez Biełozierskiego.

Pozostały po ekstrakcji alkoholowej materiał roślinny suszono w temp. 45°C do stanu powietrznie suchego. Z wysuszonych próbek ekstrahowano cukry rozpuszczalne w wodzie. Ekstrakcję prowadzono czterokrotnie używając ciepłej (ok. 35°C) wody. Wyciąg, który stanowił drugą frakcję węglowodanów, zagęszczano w temp. 100°C , zadawano 20% kwasem solnym w takiej ilości, aby stężenie jego w roztworze wynosiło 2%, i hydrolizowano na wrzącej łaźni wodnej przez 3 godziny. Hydrolizat zobojętniano na gorąco tlenkiem ołowiaowym (PbO), odsączano, a do przesączu wkraplano octan ołowiu, celem wytrącenia zanieczyszczeń białkowych. Osad odsączano, a z przesączu strącano nadmiar octanu ołowiu 10% siarczanem sodu. Osad odwirowywano, dekantowano, przemywano i oznaczano w nim cukry metodą Bertranda.

Pozostały po ekstrakcji wodnej materiał zadawano znów niewielką ilością wody, wstawiano do łaźni wodnej o temp. 60°C i prowadzono rozklejanie skrobi. Po 30 minutach do roztworu dodawano diastazę przygotowaną ze śliny (około 3 ml śliny rozcieńczone zimną wodą do ok. 50 ml przesączano przez szklany lejek). W części przesączu oznaczano cukry (ślepa próba). Materiał zadany diastazą wstawiano do termostatu o temp. 37°C . Po 24 godz. trawienia materiału diastazą badano płynem Lugala pod mikroskopem obecność skrobi w roztworze. Jeżeli skrobia już nie występowała, to pozostały materiał roślinny dekantowano, przemywano letnią wodą, zadawano 20% kwasem solnym do stężenia 2% i hydrolizowano na wrzącej łaźni wodnej przez 3 godz. Hydrolizat zobojętniano tak jak w przypadku drugiej frakcji i oznaczano cukry metodą Bertranda. Skrobia stanowiła trzecią frakcję.

W pozostałym materiale oznaczano cukry czwartej frakcji. Zadawano więc materiał 2% kwasem solnym i hydrolizowano na wrzącej łaźni wodnej przez 3 godz., odsączano, przesącz zobojętniano tlenkiem ołowiaowym, odsączano i z przesączu usuwano zanieczyszczenia białkowe octanem ołowiu, odsączano, z przesączu usuwano nadmiar octanu ołowiu siarczanem sodu. Powstały osad siarczanu ołowiu odwirowywano, klarowny roztwór znad osadu ostrożnie dekantowano i oznaczano w nim zawartość

cukrów. Na czwartą grupę węglowodanów składały się głównie hemice-lulozy.

W pozostałym materiale oznaczano celulozę, która stanowiła w naszych oznaczeniach piątą grupę. Materiał zadawano 20 ml 80% kwasu siarkowego i odstawiano na 2,5 godziny mieszając co pewien czas. Następnie dodawano piętnastokrotnie większą objętość wody i roztwór hydrolizowano na łaźni wodnej przez 5 godzin. Po zakończeniu hydrolizy hydrolizat zobojętniano węglanem sodu i oznaczano w nim cukry metodą Bertranda.

Hodowlę i oznaczenia prowadzono dla grochu zwykłego w jednej serii doświadczeń, dla grochu „Szlachetna Perła“ w dwu równoległych seriach. Oznaczone zawartości poszczególnych grup węglowodanów odnoszono do suchej masy epikotyli (oznaczanej drogą pośrednią, tzn. w części badanego materiału). Poszczególne oznaczenia stanowią średnie z dwu równoległych próbek. Wyniki doświadczeń zestawiono w tabelach.

Tabela 1

Zawartość węglowodanów 5 grup w epikotylach *Pisum sativum*
(w % w stosunku do suchej masy)

Content of carbohydrates of five groups in peas (*Pisum sativum*)
epicotyls (% of dry weight)

Rodzaj doświadczenia Kind of experiment	Zawartość węglowodanów 5 grup Content of carbohydrates of five groups				
	I	II	III	IV	V
Kontrola Controls	4,20	0,19	0,13	5,09	18,67
Kinetyna Kinetin	2,35	0,14	0,16	5,46	22,05

Wyniki doświadczeń wskazują na spadek zawartości węglowodanów grupy I (o ok. 45%) i grupy II (o ok. 25%) oraz na wzrost polisacharydów grupy III (o ok. 25%), grupy IV (o ok. 8%), grupy V (o ok. 18%) w epikotylach stymulowanych kinetyną.

Wyniki naszych analiz wykazują wyraźny spadek zawartości węglowodanów I grupy (o ok. 50%) w epikotylach stymulowanych kinetyną oraz mieszaniną kinetyny i IAA.

Spadek tej zawartości o ok. 30% obserwujemy także w epikotylach hodowanych na pożywce z dodatkiem adeniny.

W epikotylach zaś stymulowanych IAA stwierdzamy w obu seriach doświadczeń pewien nieznaczny (5—7%) wzrost zawartości węglowodanów grupy I. Być może, że kwas β -indoloocetowy, stymulując szybkość

Tabela 2

Zawartość węglowodanów 5 grup w epikotylach grochu „Szlachetna Perła”), (w % w stosunku do suchej masy)
 Content of carbohydrates of five groups in peas „Szlachetna Perła” epicotyls (% of dry weight)

Rodzaj doświadczenia Kind of experiment	Zawartość węglowodanów 5 grup Content of carbohydrates of five groups				
--	--	--	--	--	--

Doświadczenie I — Experiment I

	I	II	III	IV	V
Kontrola Controls	17,48	0,96	0,34	3,43	12,90
Kinetyna Kinetin	9,64	0,62	0,59	3,36	41,03
Adenina Adenine	12,14	0,58	1,41	4,78	14,04
IAA	18,49	0,68	0,39	6,29	14,12
Kinetyna + IAA Kinetin + IAA	8,95	0,48	0,59	3,10	30,32

Doświadczenie II — Experiment II

Kontrola Kontrols	18,19	0,84	0,42	4,49	14,90
Kinetyna Kinetin	9,0	0,60	0,58	3,25	30,30
Adenina Adenine	11,88	0,65	1,38	5,41	15,10
IAA	19,54	0,1	0,36	3,40	16,19
Kinetyna + IAA Kinetin + IAA	8,15	0,47	0,58	3,35	30,15

wsysania wody przez komórki, zwiększa jednocześnie szybkość wnikania sacharozy, rozpuszczonej w pożywce.

Jeśli chodzi o węglowodany II grupy, to i w tym wypadku obserwujemy spadek ich zawartości: największy, bo około 50%, w epikotylach stymulowanych mieszaniną kinetyny i IAA, mniejszy, ok. 30%, w epikotylach stymulowanych pozostałymi substancjami wzrostowymi.

W grupie III węglowodanów widzimy bardzo duży (3—4-krotny) przyrost zawartości skrobi w epikotylach hodowanych na pożywkach z dodatkiem adeniny oraz mniejszy w epikotylach stymulowanych kinetyną i mieszaniną kinetyny i kwasu β -indolooctowego. Nadmienić przy tym należy, że w tym wypadku istnieje rozbieżność w wynikach obu serii doświadczeń, gdyż w serii I przyrost ten wynosi zarówno dla kinetyny, jak i dla mieszaniny kinetyny i kwasu β -indolooctowego ok. 75%, zaś w serii II tylko ok. 40%. Charakterystyczna jest zbieżność wyników dla kinetyny oraz mieszaniny kinetyny + IAA w obu seriach doświadczeń.

Jeśli chodzi o zawartość węglowodanów grupy IV, obejmującej hemicelulozy i substancje pektynowe, to wyniki analiz są bardzo rozbieżne, nawet dla materiału kontrolnego i wobec tego trudne do interpretacji. Prawidłowe oznaczenie tej grupy wielocukrów przedstawia ogromne trudności metodyczne, które zostaną omówione niżej.

Przy rozpatrywaniu węglowodanów grupy V, obejmującej błonnik, uderzający jest przyrost przede wszystkim w epikotylach stymulowanych kinetyną oraz mieszaniną kinetyny i IAA. Przyrost ten jest około dwukrotny, a nawet w serii I dla kinetyny 3-krotny.

Pewną ilustrację przesunięć w zawartości poszczególnych grup węglowodanów oraz faktu, że kosztem cukrów prostych powstaje pod wpływem badanych substancji wzrostowych celuloza, stanowić może wyliczony z powyższych tabel stosunek węglowodanów grupy V do węglowodanów grupy I.

Tabela 3

Stosunek zawartości węglowodanów grupy V do węglowodanów grupy I w doświadczeniach I i II
Relation of content of carbohydrates of group V to carbohydrates of group I in the experiments I and II

Rodzaj doświadczenia Kind of experiment	Doświadczenie Experiment	
	I	II
Kontrola Controls	0,74	0,81
IAA	1,09	1,12
Adenina Adenine	1,15	1,27
Kinetyna + IAA Kinetin + IAA	3,39	3,70
Kinetyna Kinetin	4,25	3,37

Stosunek zawartości węglowodanów grupy V do węglowodanów grupy I kształtuje się najwyżej dla kinetyny w I serii doświadczeń, następnie dla mieszaniny kinetyny i IAA. Wartości tego stosunku dla adeniny i IAA kształtują się pośrednio.

Charakterystyczny jest duży (3—4-krotny) wzrost zawartości skrobi w epikotylach stymulowanych adeniną.

Fakt ten nasuwa przypuszczenie, że działanie adeniny polega w tym wypadku na stymulowaniu aktywności enzymów związanych z syntezą skrobi. Enzymem odgrywającym ogromną rolę w procesie syntezy skrobi jest fosforylaza. W obecności tego enzymu następuje synteza skrobi z estru Corich.

Wobec tego przebadano wpływ adeniny, kinetyny, IAA oraz mieszaniny kinetyny i IAA na aktywność fosforylazy w epikotylach grochu.

W tym celu jednogramowe odważki epikotyli, hodowanych jak w doświadczeniach poprzednich, homogenizowano przez rozcieranie ich w porcelanowych moździerzach, a następnie dodawano po 0,2 ml homogenizatów do 1 ml 1% roztworu estru Corich, zaszczerpionego 1 kroplą bardzo słabego roztworu kleiku skrobiowego (jednym z zasadniczych warunków zapoczątkowania procesu syntezy skrobi z estru Corich jest obecność śladów wielocukrowca, będącego jakby ośrodkiem, w którym rozpoczyna się proces syntezy, polegający na wydłużeniu istniejącego już łańcucha cząsteczek glukozy) i rozcieńczonego 3 ml wody.

Co 5 minut mieszano na białej porcelanowej płytce po kilka kropeł badanej mieszaniny z kilkoma kroplami bardzo rozcieńczonego roztworu jodu i obserwowano szybkość pojawiania się fioletowego zabarwienia, świadczącego o syntezie skrobi.

Porównywano czas pojawienia się tego zabarwienia w mieszaninach zadanych homogenizatami z epikotyli kontrolnych i poddanych działaniu badanych substancji wzrostowych. Wyniki doświadczenia (dane otrzymane dla trzech powtórzeń były bardzo zbieżne) podajemy w tabeli 4.

Przytoczone dane wskazują, że nasza próba ilościowego oznaczenia aktywności fosforylazy w epikotylach kontrolnych i poddanych działaniu badanych substancji wzrostowych posiada tylko charakter orientacyjny.

Wprawdzie synteza skrobi w środowiskach, do których dodano homogenizatu z epikotyli stymulowanych adeniną, była obserwowana najszybciej, gdyż już po 10 minutach, to jednak przy homogenizatach z epikotyli stymulowanych kinetyną oraz mieszaniną kinetyny z kwasem β -indolooctowym syntezę tę obserwowano również szybko, bo po 15 minutach.

Dane te nie pokrywają się z przyrostem zawartości skrobi w epikotylach stymulowanych kinetyną i kwasem β -indolooctowym, który to przyrost był znacznie mniejszy niż w epikotylach hodowanych na pożywce zawierającej adeninę.

Tabela 4

Rodzaj doświadczenia Kind of experiment	Pojawianie się zabarwienia w badanych mieszaninach po: Appearance of colouring in the examined mixtures after:										
	5'	10'	15'	20'	25'	30'	35'	40'	45'	50'	
Kontrola Controls	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+
Kinetyna Kinetin	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Adenina Adenine	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IAA	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	
Kinetyna + IAA Kinetin + IAA	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Pomimo jednak że próba nasza nie mogłaby stanowić podstawy dla porównania stopnia zwiększenia aktywności fosforylasy w epikotylach stymulowanych poszczególnymi substancjami wzrostowymi, to jednak wyniki jej wydają się wskazywać na to, że adenina, kinetyna oraz mieszanina kinetyny i kwasu β -indolooctowego wpływają na zwiększenie się aktywności fosforylasy w badanym materiale.

Ester Corich przygotowano według metody enzymatycznej, opisanej przez Biełozierskiego, a polegającej zasadniczo na otrzymaniu estru przez działanie na substrat zawierający skrobię rozpuszczalną oraz Na_2HPO_4 i KH_2PO_4 wyciągiem z ziemniaka jako źródłem fosforylasy.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYKUSJA

Reasumując wyniki doświadczeń nad wpływem badanych substancji wzrostowych na zawartość węglowodanów w epikotylach grochu można powiedzieć, że pod wpływem kinetyny oraz mieszaniny kinetyny i kwasu β -indolooctowego nastąpiły znaczne przesunięcia w zawartości węglowodanów poszczególnych grup: kosztem węglowodanów bardziej prostych — jedno- i dwucukrów zwiększyła się zawartość wielocukrów: skrobi oraz polisacharydów, wchodzących w skład błon komórkowych, a mianowicie błonnika.

Charakterystyczny jest również duży (przeszło 3-krotny) przyrost ilości skrobi w epikotylach poddanych działaniu adeniny.

Wyniki te nasuwają przypuszczenie, że badane substancje wzrostowe, a w szczególności kinetyna i adenina, działają jako stymulatory aktyw-

ności procesów enzymatycznych, związanych z syntezą wielocukrów, co zostało stwierdzone w odniesieniu do fosforylasy.

Wyniki jednak naszych doświadczeń, zmierzających do ustalenia, w jakiej mierze badane substancje wzrostowe wpływają na syntezę polisacharydów, wchodzących w skład błon komórkowych, posiadają tylko charakter orientacyjny.

Oznaczenia bowiem IV grupy węglowodanów, obejmującej hemicelulozy (heksozany i pentozany) oraz substancje pektynowe, są bardzo rozbieżne i trudne do interpretacji. Wiąże się to prawdopodobnie z dużymi trudnościami metodycznymi w oznaczaniu węglowodanów tej grupy.

IV grupa węglowodanów jest bardzo różnorodna i, przy oznaczaniu jej z jednej odważki materiału, należy liczyć się przede wszystkim z faktem, że część substancji pektynowych, rozpuszczalnych w wodzie, przechodzi w toku kolejnych ekstrakcji alkoholem i wodą do węglowodanów grupy II.

Poza tym przy przeprowadzaniu hydrolizy hemiceluloz 2% kwasem solnym na gorąco, w ciągu 3 godzin, mogą nie wszystkie hemicelulozy przejść w monozy. Dlatego też, szczególnie przy pracy z nieznanym materiałem, należałoby kontrolować, czy hydroliza jest całkowita, przeprowadzając próbę z kwasem o większym stężeniu (3,5—5%). Jednakże przy podwyższeniu stężenia kwasu hydroliza mogłaby również naruszyć błonnik (wg danych Biełozierskiego przy 5-godzinnej hydrolizie 3,6% kwasem solnym ok. 1,5% błonnika przechodzi do hemiceluloz).

Obliczanie ilości węglowodanów IV grupy daje zwykle wartości raczej rozbieżne, gdyż mogące występować w hydrolizacie obok heksoz: pentozy i kwas galakturonowy mogą stanowić źródło błędów.

Należy również nadmienić, że w obecności dużej ilości pektyn oznaczanie węglowodanów IV grupy jest bardzo niepewne (Biełozierski). Według danych B o n n e r a ilościowe oznaczanie hemiceluloz obok pektyn w tkankach jest niezmiernie trudne i wymaga oddzielenia substancji pektynowych, będących pochodnymi kwasu poligalakturonowego, występujących szczególnie obficie w pierwotnych błonach komórkowych.

Czynnienia pektyn przeprowadza się na podstawie ilości dwutlenku węgla, odszczepiającego się od kwasów uronowych pektyn przy ogrzewaniu z kwasem mineralnym, a pentoz (zwykle arabinozy i ksylozy) na podstawie ilości tworzącego się furfurołu.

Wobec niemożności dokładnego oznaczenia IV grupy węglowodanów uzyskane wyniki trudno jest zinterpretować.

Wiemy, że kinetyna, a także (choć w mniejszym stopniu) adenina, wzmacnia ilość podziałów komórkowych (D a s, D m o c h o w s k i, G u t m a n n, M i l l e r i S k o o g, O l s z e w s k a), co wiązałoby się oczywiście ze wzrostem ilości błon komórkowych w badanym materiale.

Wzrost więc frakcji celulozowej może być odpowiednikiem ilości błon komórkowych w epikotylach.

Gdybyśmy jednak mieli dokładne oznaczenia hemiceluloz i pektyn, to można by stwierdzić, czy stosunek tej frakcji do frakcji celulozowej kształtuje się tak samo we wszystkich rodzajach doświadczeń, czy też ulega on zachwianiu na korzyść np. frakcji celulozowej.

Na tej bowiem podstawie można by sądzić, czy działanie badanych substancji wzrostowych związane jest z zakładaniem się nowych błon komórkowych, czy też z odkładaniem się błonnika i coraz większą jego przewagą nad pozostałymi składnikami błony.

Rozstrzygnięcie tego zagadnienia wymagałoby jednak dalszych badań z zastosowaniem metodyki, umożliwiającej dokładnie oznaczenie IV frakcji węglowodanów.

STRESZCZENIE

Skoog i jego współpracownicy wykazali, że w wycinkach rdzenia łądy tytoniu hodowanych na pożywce mineralnej zestalonej agarą, zawierającej kwas β -indolooctowy zachodzi intensywne zwiększanie się rozmiarów komórek. Następuje przy tym wiele podziałów mitotycznych, którym jednak nie towarzyszy cytokineza, co prowadzi do powstawania komórek wielojądrowych.

Jeżeli do środowiska dodać kinetyny, zaczyna przebiegać normalna cytokineza z zakładaniem się błon komórkowych.

Glasziou interpretując mechanizm działania kinetyny wysuwa koncepcję, że związek ten jest stymulatorem metabolizmu błon komórkowych.

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu: 1. kinetyny, 2. adeniny, 3. kwasu β -indolooctowego, 4. mieszaniny kinetyny i kwasu β -indolooctowego na zawartość węglowodanów w etiolowanych epikotylach grochu.

W badanym materiale oznaczano 5 grup węglowodanów: 1. jedno-, dwu- i trójcukry, 2. dekstryny, śluzy i część substancji pektynowych, 3. skrobię, 4. hemicelulozy i pektyny, 5. celulozę.

Wyniki naszych analiz wydają się potwierdzać pogląd Glasziou o roli kinetyny jako stymulatora metabolizmu błon komórkowych, gdyż pod wpływem kinetyny i mieszaniny kinetyny i kwasu β -indolooctowego nastąpiły znaczne przesunięcia w zawartości węglowodanów poszczególnych grup. Kosztem węglowodanów bardziej prostych, jedno- i dwucukrów, zwiększyła się zawartość wielocukrów skrobi oraz polisacharydów, wchodzących w skład błon komórkowych, przede wszystkim zaś błonnika.

Charakterystyczny jest również duży (prawie 3-krotny) przyrost ilości skrobi w epikotylach poddanych działaniu adeniny.

Wyniki te nasuwają przypuszczenie, że badane substancje wzrostowe działają jako stymulatory aktywności procesów enzymatycznych związanych z syntezą wielocukrów.

Przebadano więc ich wpływ na aktywność fosforylasy. Okazało się, że aktywność tego enzymu wzrasta bardzo wybitnie szczególnie w epikotylach hodowanych na pożywce z dodatkiem adeniny.

(Wpłynęło dn. 24.6.1958 r.)

*Zakład Biochemii
Uniwersytetu Łódzkiego*

SUMMARY

Skoog and his co-workers have demonstrated that tobacco pith sections cultured on nutrient agar containing β -indoleacetic acid undergo considerable cell enlargement. Many mitotic divisions occur which are however unaccompanied by cytokinesis, and thus lead to the rise of multinucleate cells.

If kinetin is added to the medium, rapid cell division and cytokinesis with the formation of cell walls occur.

Glasziou interpreting the mechanism of the kinetins action gives the conception that this compound stimulates cell wall metabolism.

The theme of our work was the influence of: kinetin, adenine, β -indoleacetic acid and the mixture of kinetin and β -indoleacetic acid on the carbohydrates content in etiolated peas epicotyls.

We have analysed 5 groups of carbohydrates: 1. mono- di- and trisaccharides, 2. dextrans, mucilages and part of pectic substances, 3. starch, 4. hemicelluloses and pectic substances, 5. celluloses.

The results of our analyses seem to confirm Glasziou's opinion concerning the role of kinetin as a stimulant of the cell wall metabolism, because under the influence of kinetin and the mixture of kinetin and β -indoleacetic acid the great change-over in the carbohydrate levels of the individual groups ensued:

At the expense of the more simple carbohydrates mono- and disaccharides increase the content of polysaccharides — starch and polysaccharides entering into the cell walls, first of all of cellulose.

A very considerable increase (about 3 times) of the level of starch is very characteristic in the epicotyls stimulated by adenine.

From these results it can be surmised that the investigated growth substances stimulate the activity of enzymes taking part in the synthesis of polysaccharides, and therefore we have investigated their influence on the activity of phosphorylase. We asserted that the activity of that enzyme increases remarkably, especially in the epicotyls cultured on the nutrient containing adenine.

LITERATURA

- Biełozierski A., Proskuriakow N., 1954, Ćwiczenia z biochemii roślin (tłum. z rosyj.), 35—45, 49—51, Warszawa.
- Bonner J., 1950, *Plant Biochemistry*: 299—327, N. York.
- Brachet J., 1954, *Arch. Biol.* 65: 1.
- Das K., Patau K., Skoog F., 1956, *Physiologia Plantarum* 9: 640.
- Dmochowski A., Maciejewska-Potapczyk W., Sempłowska E., 1957, *Acta Soc. Bot. Pol.* 26: 361.
- Glasziou K. T., 1957, *Nature* 179: 1083.
- Guttman R., 1956, *Chromosoma* 8: 341.
- Jabłoński J., Skoog F., 1954, *Physiol. Plant.* 7: 16.
- Jensen W. A., 1955, *Exp. Cell. Res.* 8: 506.
- Maciejewska-Potapczyk W., Keller Z., 1958, *Acta Soc. Bot. Pol.* 27 (2): 161—177.
- Mazia D., Prescott D. M., 1954, *Science* 120.
- Miller C., Skoog F., Okumura F., 1955, *J. Amer. Chem. Soc.* 77: 2662.
- Miller C., Skoog F., Saltz M., Strong F., 1955, *J. Amer. Chem. Soc.* 77: 139.
- Naylor J., Sander G., Skoog F., 1954, *Physiologia Plantarum* 7: 25.
- Olszewska M. J., Maciejewska-Potapczyk W., Sempłowska E., 1957, *Acta Soc. Bot.* 26: 583.
- Olszewska M. J., 1958, *Bul. de la Soc. des Sciences et des Lettres de Łódź*, Cl. III, IX, 1, 1—4.
- Ropp R. S., 1956, *Plant Physiology* 31: 253.
- Sabinin D., Połozowa L., 1957, *Fizjologija Rastienji*, t. IV, wyp. 1: 38.
- Skinner Ch., Schive W., 1955, *J. Amer. Chem. Soc.* 77: 6692.
- Skoog F., Tsui C., 1948, *Amer. J. Botany* 35: 783.
- Thimann K., Chouard P., 1956, cyt. wg art. w książce J. A. Thomasa: *Les facteurs de la croissance cellulaire (activation et inhibition)* Paris, 77—156.

Nowa uproszczona metoda biotestu wygięciowego „Avena Curvature Test“ F. W. Went: „Coleoptile-Hypocotile Test“

*The new easy method F. W. Went's "Avena Curvature Test":
"Coleoptile-Hypocotile Test"*

K. WILCZYŃSKA

WSTĘP

Ogłoszony przez F. W. Went a przed 30 laty (Went, 1926, 1927, 1928 i uzupełniony 1935 r.) „Avena test“ — biotest wygięciowy na substancje wzrostowe, nazwane później (w 1931 roku) przez Kögla i Haagen Smita auksynami (Went, 1951, str. 72), udowodnił hormonalne podłoże procesów wzrostowych, sugerowane już przez Juliusza Sachsa w 1865 r. Test ten zapoczątkował szeroką skalę badań nad substancjami wzrostowymi, sam zaś przeszedł zaledwie kilka modyfikacji i pozostał testem wyjściowym jako „Standard Avena test“ (Linser & Kiermayer, 1957, str. 50). Metoda użyta przez Went a daje wyniki tym bardziej przekonujące, że łatwo dostrzegalne (ryc. 1, I). Kostka agarowa nasiąknięta dyfuzatem z wierzchołków coleoptile (pochewka liścieniowa) owsa, umieszczona jednostronnie na dekapitowanym prostym coleoptile i oparta o liścień (I liść) wysunięty z pochewki, po upływie około dwóch godzin powoduje wygięcia na stronę „pustą“, spowodowane intensywniejszym wzrostem na długość strony zadziałanej dyfuzatem z kostki.

Największą trudność testu stanowi bardzo ograniczony czas na wykonanie tego precyzyjnego doświadczenia, ponieważ, jak stwierdził w 1926 roku Dolk (Skog, 1937, str. 313), coleoptile pozbawione wierzchołków wytwarza w ciągu 2 godzin w swych górnych częściach nowe auksyny w takiej ilości, że powstaje tu „wierzchołek fizjologiczny“. Trudność ta została częściowo usunięta, gdy van der Weij w 1931 roku wprowadził powtórna dekapitację coleoptile, po upływie dwóch godzin od pierwszej (Skog, 1937, str. 312). Zabieg ten dawał więcej czasu na czynności

przygotowawcze i przez to umożliwiał użycie do doświadczenia większej ilości roślin testowych, lecz nie przedłużał czasu zadziałania substancjami wzrostowymi zawartymi w agarze ponad 2 godziny (do czasu powstania nowego wierzchołka fizjologicznego).

Dopiero modyfikacja F. Skooga (1937) „Deseeded Avena test method“ (ryc. 1, II), polegająca na usunięciu całego endospermu z pozostawieniem tylko dolnej części tarczki (*scutellum*), ograniczająca w znacznym stopniu dopływ z nasienia prekursorów auksyn, umożliwiła przedłużenie czasu zadziałania substancjami wzrostowymi do 5—7 godzin. Przedłużenie zadziałania wzmocniło wyniki testu i tym samym uczuliło go i pozwoliło na wykrywanie auksyn w stężeniach dziesięciokrotnie słabszych niż przy zastosowaniu metody standardowej.

W 2 lata później H. Funke wprowadził nową modyfikację testu standardowego (ryc. 1, III) „Coleoptilen Test“ (Söding, 1952). Z kielka owsianego pozostawiono zaledwie odcinek coleoptile 1,2 cm długości, który całkiem izolowano, przyklejając go żelatyną do szkiełka podstawowego, wysłanego wilgotną bibułą. Przerywano w ten sposób dopływ wstępujący wszelkich substancji w ciągu 24 godzin przed doświadczeniem i przez 18 do 20 godzin zadziałania substancjami wzrostowymi, zawartymi w kostce agarowej (przyklejonej żelatyną jednostronnie do dekapitowanego coleoptile).

Test ten zasadniczo nie różni się od znacznie prostszych testów „odcinkowych“ lub „cylindrycznych“ coleoptile owsa na wzrost prostoliniowy (Söding, 1952; Thimann, 1952; Linser & Kiermayer, 1957), stawia nawet sam biotest w gorszych warunkach, bo pozbawia go wszechstronnego stykania się z roztworem substancji wzrostowych, zasilonym w dodatku materiałem energetycznym, jak sacharoza lub glukoza. W ten sposób czułość jego nie może być wyższa od biotestów na wzrost prostoliniowy, które z kolei są mniej wrażliwe niż test wygięciowy „Deseeded Avena test“ (Nitsch I. P. & Nitsch C., 1956, str. 95, tabl. 1). W tym ostatnim coleoptile zachowuje łodyżkę podłiscieniową (*hypocotile*) oraz część tarczki (*scutellum*) i korzeni dostarczających szeregu czynników fizjologicznych, składających się na wzrost.

Z tablicy porównawczej wrażliwości różnych biotestów wygięciowych na auksyny w pracy współczesnej Nitschów (1956) wynika, że „Deseeded Avena test“ jest nadal najczulszym testem na substancje wzrostowe, jeżeli jednocześnie weźmie się pod uwagę jasność wyników. Technika przygotowawcza do tej metody wymaga jednak tylu precyzyjnych i czasochłonnych zabiegów, że zmusza do ograniczenia liczby powtórzeń lub zmniejszenia ilości roślin testowych. Nawet praca zbiorowa w tym przypadku nie daje odpowiedniego rozwiązania, bo rozdzielając pracę między kilku pracowników stwarza się większe wahania wartości wyni-

ków, zależnie od indywidualnej zręczności przy preparowaniu roślin testowych.

Opracowana nowa metoda, nazwana "Coleoptile-hypocotile test" (ryc. 1, IV), której opis zostanie podany w tym artykule, w znacznym stopniu zmniejsza trudności techniczne, zachowując wrażliwość na poziomie „Deseeded Avena test”. Ponadto podnosi ona stopień wygięć dzięki przedłużeniu czasu zadziałania substancjami wzrostowymi do 24 godzin oraz ujednastajnia wyniki przez objęcie całego dobowego cyklu wzrostu i dopełnienie doświadczeń porównawczymi seriami na wygięcia geotropiczne, wskazujące poziom endogennych auksyn w roślinach testowych. Zastosowany zaś sposób wprowadzania substancji wzrostowych do agaru przez dyfuzję ze zwilżonej nimi bibuły pozwala stosować bezpośrednio chromatogramy do nasiąkania agaru.

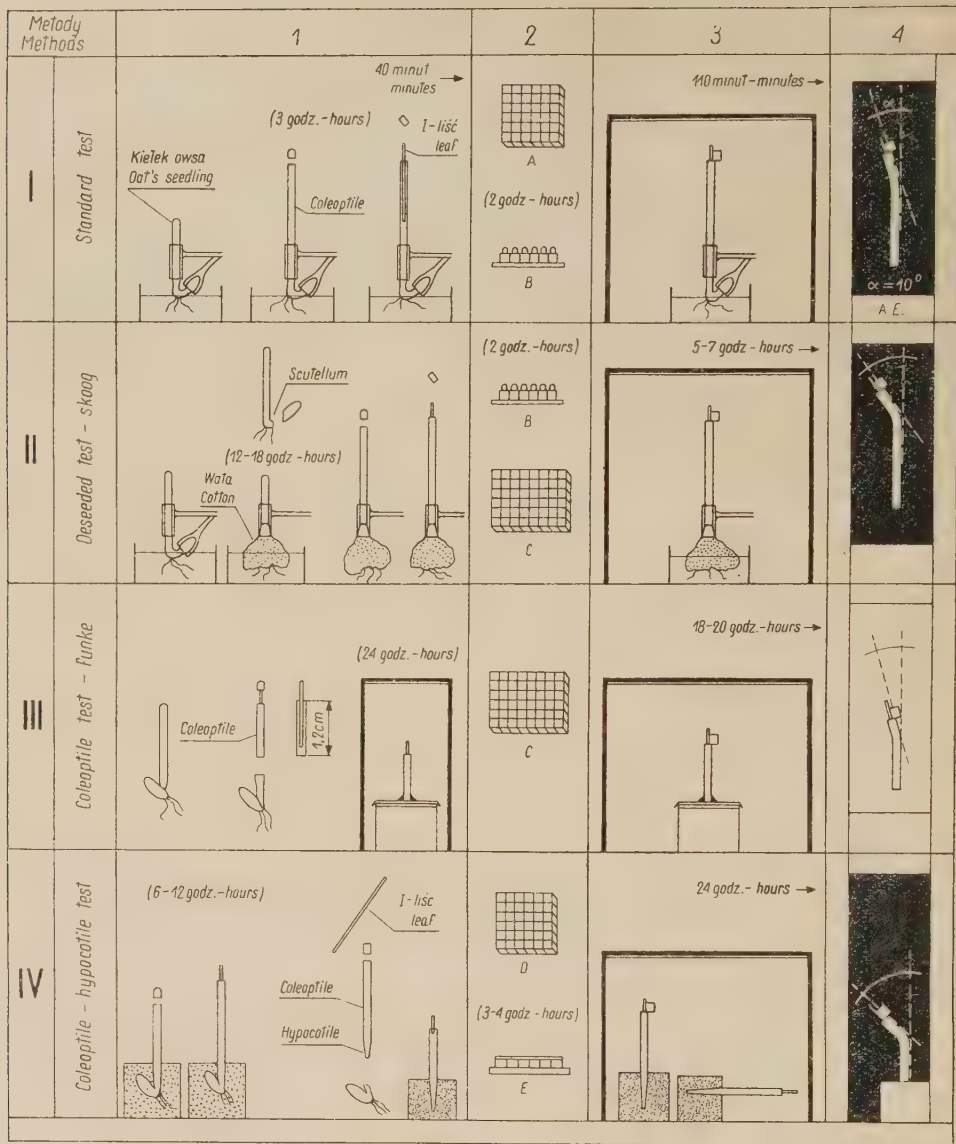
Ograniczyłam się do podania tablicy porównawczej poprzednio wzmiankowanych metod (ryc. 1), ponieważ szczegółowe opisy tych metod, poza autorskimi opisami, znajdują się we wszystkich podręcznikach metodycznych dotyczących substancji wzrostowych, a fotografie i schematy niektórych czynności przygotowawczych tego biotestu podaje L. J. A u d u s (1953, Fig. 3—9).

W czterech rzędach poziomych tablicy przedstawiono schematycznie poszczególne metody (ryc. 1, I—IV), a w czterech rzędach pionowych podano kolejne stadia przygotowawcze testu (ryc. 1, 1—4).

Nowa metoda: „Coleoptile — hypocotile test” (ryc. 1, IV).

Materiał. Do doświadczeń użyto nasiona owsa tej samej odmiany szwedzkiej Seigeshafer, co w metodzie standardowej (ze Sveriges Utsädesförening, Svalöf, Sweden). Nie łuszczone nasiona moczoło przez 3—4 godziny, przy świetle dziennym lub przy świetle elektrycznym białym. Nabrzękle nasiona układano gęsto na wilgotnych trocinach (z drzew liściastych) w płaskich naczyniach z masy plastycznej (wanienki fotograficzne) i przykrywano warstwą tychże trocin grubości około 1 cm. Naczynia ustawiano w ciemni, w termostacie w temp. 24—25°C, w atmosferze nasyconej parą wodną. Wszystkie dalsze czynności w ciągu doświadczenia wykonywano przy świetle czerwonym lub pomarańczowym. Po trzech dobach, gdy coleoptile miały około 1,5 cm wysokości, obcinano im wierzchołki dł. około 5 mm ostrymi nożycami i wstawiano z powrotem do termostatu na 8—12 godz. (zanim liścień nie wyrośnie na kilka mm nad coleoptile) (ryc. 2a i b).

Roztwory substancji wzrostowych. Do wypróbowania testu używano wodnych roztworów syntetycznego kwasu indolooctowego o różnym stężeniu, otrzymanych przez rozcieńczenie (przeważnie 4, 40 i 400-krotne) zasadniczego roztworu: 10 mg krystalicznego kwasu (3-indolyl-acetic acid, $C_6H_7NH \cdot CH_2 \cdot COOH = 175.18$, Horticultural quality,



Ryc. 1. Schematyczne przedstawienie kilku metod testu wygięciowego na auksyny „Avena curvature test“ F. W. Went (rzędy poziome: I—IV)
 Diagramatic representation of some methods of F. W. Went's "Avena curvature test" on auxin (horizontal rows: I—IV)

W każdej metodzie (z lewa na prawo) kolejne stadia testu: rzędy pionowe (1—4): 1 — preparowanie roślinki testowej; 2 — przygotowanie kostek agarowych: A — płytka z 1,5% agaru podzielona na kostki (około 10 mm³), B — dyfuzja auksyn z wierzchołków coleoptile do kostek agarowych na szkiełku podstawowym (widziane z boku), C — kostki agarowe z 3% agaru stopionego z równą ilością roztworu auksyn, D — płytka 2% agaru podzielona na kostki (około 11 mm³) i E —

B. D. H., England) w 100 ml gorącej przegotowanej wody o pH około 6 (z wodą destylowaną lub świeżo redestylowaną wyniki były znacznie słabsze). W większości doświadczeń do zasadniczego roztworu kwasu indolo-



Ryc. 2. Kiełki owsa wyhodowane w trocinach w ciemności: a — kiełek ok. 1,5 cm wysokości przed dekapitacją, b — kiełek w osiem godzin po dekapitacji z liścieniem wyrosniętym na kilka milimetrów ponad coleoptile
Oats seedlings cultivated in sawdust in darkness: a — coleoptile of the seedling about 1,5 cm high ready to be decapitated; b — the same 8 hours after decapitation with cotyledon grown some millimetres over coleoptile

octowego (10 mg/100 ml wody) dodawano 2 g glukozy, a rozcieńczano ten roztwór wodnym roztworem 2% glukozy (1)*.

Naturalne substancje wzrostowe otrzymywano ze świeżego materiału roślinnego, enzymatycznie inaktywowanego wysoką temperaturą (przy 100°C w sterylizatorze parowym przez 10 minut (2) przez wytlaczanie z niego soku. Roztworami kwasu indoloctowego lub naturalnymi sokami w określonej ilości zwilżano odcinki bibuły, którymi przykrywano odpowiedniej wielkości płytki agarowe pocięte na kostki. Posługiwano się również chromatogramami bibułowymi kwasu indoloctowego (otrzymanymi z roztworów tego kwasu lub z soku naturalnego roślinnego), zwilżonymi 2% glukozą lub wodą. Nasiąkanie płytek agarowych trwało 3—4 godz. w ciemni, w atmosferze wilgotnej, przy temp. 18—20°C. [Bezpośrednie zastosowanie chromatogramów bibułowych z substancji wzrostowych do nasiąkania kostek agarowych ma być tematem następnego doniesienia].

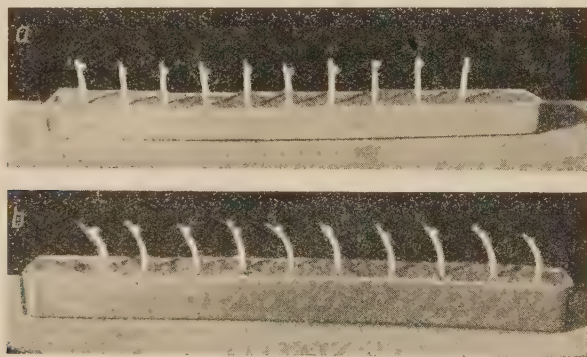
* Kolejne liczby w nawiasach oznaczają innowacje wprowadzone do doświadczenia, które będą uzasadnione w następnym rozdziale.

dyfuzja uksyn z bibuły nasiąkniętej ich roztworem do kostek agarowych na szkiełku podstawowym (widziane z boku); 3 — ustawianie doświadczenia 4 — utrwalanie wyników wygięć coleoptile

In each method: diagrams of successive stages of the test (from left to right): Columns 1 — preparation of test plant; 2 — preparation of agar blocks: A — 1,5% agar cut up into blocks of about 10 mm³, B — diffusion of auxin from coleoptile tips to agar blocks on glass slide (seen from side), C — agar blocks made from 3% agar melted with the equal volume of auxin solution, D — 2% agar cut up into blocks about 11 mm³ size, and E — diffusion of auxin from paper soaked with auxin solution to agar blocks on glass slide (seen from side); 3 — montage of experiment, and 4 — records of coleoptile curvature responses

Kostki agarowe. Z bakteriologicznego agaru (Agar bacteriological, Gurr's, London) sproszkowanego i wody wodociągowej, w stosunku 1 : 50, otrzymywano w sterylizatorze parowym 2% żel agarowy, który wylewano na szybkę szklaną w takiej ilości, żeby otrzymać po wystudzeniu warstwę agarową grubości około 2 mm. Płytkę agarową dzielono na odpowiedniej wielkości prostokąty ($2\text{ cm} \times 2\text{ cm}$ lub $2\text{ cm} \times 4\text{ cm}$), umieszczano je na osobnych szkiełkach podstawowych i krajano na kostki kwadratowe około 11 mm^3 objętości (przy pomocy zestawu równolegle umocowanych żyłek w odstępach 2,4 mm).

Przygotowywanie biotestu. Gdy dekapitowany kiełek (patrz Materiał, str. 113) osiągał około 2 cm wysokości, a liście wyrastał na kilka milimetrów ponad brzeg coleoptile (3), odrywano ten liście od nasady i wyciągano z pochewki, którą wówczas obcinano ostrą żyłką na 2—3 mm, a odwrócony liście (4) wsuwno z powrotem do pochewki na kilka mm głębokości. Wystający z coleoptile liście obcinano na długość około 5 mm, a całe coleoptile z częścią prostą hypocotile (łodyżki podliścieniowej) (5) około 5 mm długości odcinano od nasienia. Tak spreparowane pędy wysadzano rzędem do wilgotnych drobnych trocin (przesianych i dobrze ubitych) w podłużnych wąskich pudełkach z masy plastycznej (pudełka do



Ryc. 3. Serie roślinek testowych z kostkami agarowymi zawierającymi auksyny: a — zaraz po nałożeniu kostek agarowych; b — po 24 godzinach zadziałania

Bioessays with agar blocks containing auxin: a — at the beginning of experiment; b — 24 hours after auxin application

szczotek do zębów), przy samej ścianie, w odstępach około 1,5 cm, w ilości 10—12 sztuk w rzędzie (ryc. 3). Żeby nie uszkodzić hypocotile przy wsadzaniu do trocin i równomierniej rozmieścić roślinki, wsadzano je do

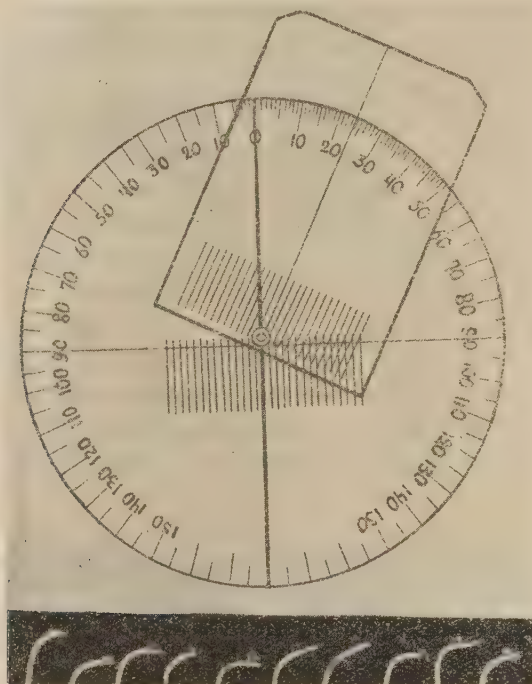
dolków zrobionych igłą preparacyjną. Przy wsadzaniu roślinek testowych ustawiano je tak, żeby dłuższa średnica poprzecznego przekroju łącząca dwie wiązki naczyniowe miała kierunek równoległy do długich ścianek pudełka. Pudełka z wysadzonymi w rząd roślinkami wstawiano do komory wilgotnej i przystępowano do nakładania kostek agarowych.

Nakładanie kostek agarowych rozpoczynano od kontrolnej serii (każda seria z 10—12 roślinek testowych) zaopatrując ją w kostki nasiąknięte wodą lub roztworem 2% glukozy (zależnie od tego czy glukoza wchodziła do roztworów badanych substancji wzrostowych). Następnie nakładano kostki agarowe nasiąknięte roztworami KIO, od najsłabszych do wyższych, na kolejne serie roślinek testowych, żeby uniknąć możliwości wpływu wyższych stężeń reszkowych, pozostających na narzędziach służących do przenoszenia kostek agarowych, na stężenia niższe. Po zdjęciu bibuły z agaru nakładano kostki agarowe (przy pomocy igły preparacyjnej lub małej łopatkii dentystycznej) jednostronnie na brzeg dekapitowanego coleoptile w kącie utworzonym z częścią liścienia, przykrywając przekrój wiązki naczyniowej (Linser & Kiermayer, 1957, str. 52, Abb. 19). Wilgotne kostki łatwo przylegały i utrzymywały się przez całe doświadczenie (ryc. 3 a i b).

Wprowadzono do każdego doświadczenia jedną serię „pustych” kiełków testowych (spreparowanych jak doświadczałne, lecz bez kostek agarowych) na wygięcia geotropiczne (6), które wskazywały poziom endogennych auksyn pozostałych w coleoptile lub powstających w ciągu trwania doświadczenia. Roślinki przeznaczone do tej serii wsadzano do trocin tak, żeby dłuższa średnica przecięcia coleoptile, łącząca dwie wiązki naczyniowe, była pionowa do długich ścianek pudełka. Naczynia z tak wsadzonymi roślinkami przechylano o 90°; w ten sposób stały one na jednej z podłużnych ścianek pudełka, a roślinki testowe znajdowały się w położeniu poziomym z wiązkami naczyniowymi po stronie dolnej i górnej, w położeniu analogicznym do płaszczyzny wygięć innych serii (ryc. 1, IV, 3). Wszystkie serie jednego doświadczenia ustawiano w płaskim naczyniu wysłanym wilgotną bibułą, przykrywano szklaną płytką ze zwilżoną bibułą i wstawiano do termostatu na 24 godz. (7), przy temp. 24—25°C.

Utrwalanie i mierzenie wyników. Po zakończeniu doświadczenia kładziono pudełka z roślinami bokiem na światłoczuły papier fotograficzny tak, żeby coleoptile znalazły się w położeniu równoległym do powierzchni papieru, i naświetlano je od góry przez parę sekund białym światłem elektrycznym. Przed odbijaniem cieni biotestu na wygięcia geotropiczne, obracano każdą roślinkę o 90° tak, żeby płaszczyzna wygięć była równoległa do papieru. Po wywołaniu i utrwaleniu cieni coleoptile wszystkich serii, mierzono wygięcia przy pomocy odpowiednio przystoso-

wanego kątomierza (ryc. 4). Jest to kątomierz z przejrzystej masy plastycznej, posiadający ruchomą płytkę umocowaną w środku. Płytkę jest podzielona podłużnie czerwonymi równoległymi kreskami, w odstępach



Ryc. 4. Kątomierz przystosowany do mierzenia wygięć na cieniach coleoptile odbitych na papierze fotograficznym (poniżej)

Goniometet adjusted to measure the curvatures of coleoptiles in degrees from their shadow-graphs (below)

1,5 mm (czarne kreski nie są widoczne na czarnym tle fotografii cieni), odpowiednio do przebiegu takichże kresek na nieruchomej części kątomierza.

UZASADNIENIE INNOWACJI WPROWADZONYCH DO DOŚWIADCZENIA

Nowa modyfikacja — „Coleoptile-hypocotile test” — powstawała stopniowo w ciągu doświadczeń metodą „Coleoptile test“ Funkego*). Po

* Metoda Funkego była stosowana w Pracowni Fizjologii Roślin Uniwersytetu Toruńskiego, gdzie na wiosnę 1956 roku rozpoczęłam pracę nad substancjami wzrutowymi. Od jesieni 1956 roku dalsze doświadczenia prowadzę w pracowni prywatnej (Toruń, Rybaki 55).

całkowitym opanowaniu tej metody i przeprowadzeniu szeregu doświadczeń okazało się, że wyniki były zbyt słabe w stosunku do czasochłonnych czynności przy ustawianiu doświadczenia. Szukając przyczyn małej efektywności testu przeanalizowano krytycznie każdy składowy element testu i wymaganych czynności, dążąc do uczulenia testu przy jednoczesnym uproszczeniu czynności przygotowawczych i dostosowaniu do posługiwania się bezpośrednio chromatogramami bibułowymi, z substancji wzrostowych.

Uzasadnienie innowacji:

1. Dodawano glukozę do wodnych roztworów kwasu indoloocetowego wychodząc z założenia, że skoro w doświadczeniach na wzrost prostoliniowy cylindrycznych odcinków coleoptile szereg autorów stwierdziło dodatni wpływ cukrów dodawanych do roztworów substancji wzrostowych (Schneider C. L., 1938 i inni), mogą one również w testach wygięciowych podnosić wartość wygięć bądź jako materiał energetyczny potrzebny do oddychania, bądź jako czynnik fizyczny, np. wpływający na lepsze zwilżanie powierzchni lub podnoszący szybkość przesuwania się i przenikania substancji wzrostowych. Doświadczenia, przeprowadzone w celu wykazania wpływu 2% glukozy w roztworach kwasu indoloocetowego jednej i tej samej koncentracji, dały następujące wyniki:

Roztwory	glukoza 2%	KIO + 2% glukoza	KIO
Średnie wygięcia coleoptile w stop- niach:	0	70	55

(Dane z 2 doświadczeń na 72 kielbkach w każdej serii,
z dn. 14–15.XI.1957 r. i 3–4.I.1958 r.).

Wyniki wskazują, że dodanie 2% glukozy do roztworu KIO podnosi stopień wygięć coleoptile. Pozostaje do oznaczenia wysokość optymalnych stężeń glukozy w roztworach KIO oraz wpływ innych cukrów jako substancji dodatkowych, bezpośrednio nieczynnych wzrostowo.

2. Inaktywowanie enzymów świeżego materiału roślinnego wysoką temperaturą stosował Kefford (1955), gotując go przez 5 minut w wodzie. Zamiast gotowania w wodzie stosowano inaktywację w parze wodnej przy temp. 100°C przez 10 minut. Miazga otrzymana przez roztarcie inaktywowanego materiału lub sok wyciśnięty z niej oraz chromatogramy bibułowe z soku (w obrębie Rf odpowiadającej KIO) miały właściwości auksyny. Ponieważ chromatogramy bibułowe otrzymane z tego soku były

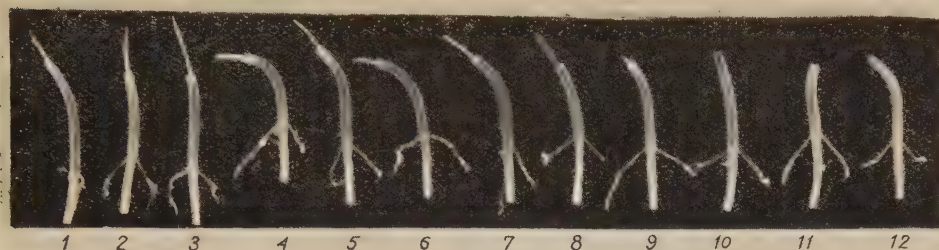
aktywne w strefie odpowiadającej wartości Rf kwasu indoloocetowego, można było wyciągnąć wniosek, że KIO dzięki inaktywowaniu enzymów w parze wodnej przy temp. 100° C nie ulega oksydacji, ponieważ nie traci specyficznych właściwości auksyny. Szczegóły chromatografii bibułowej do wykrycia KIO z naturalnych soków roślinnych oraz bezpośrednie zastosowanie chromatogramów do testu wygięciowego będą podane w osobnym doniesieniu.

3. Obcięcie wierzchołka coleoptile, koncentrującego substancje wzrostowe, zatrzymywało lub obniżało intensywność wydłużania się coleoptile aż do czasu powstania nowego wierzchołka fizjologicznego, podczas gdy pierwszy liść (liścien), rosnący nasadą, z intensywnością nie zmienioną, przerastał w tym okresie coleoptile. Na wysunięcie się liścienia o kilka milimetrów ponad coleoptile potrzeba było od 8 do 12 godzin czasu, przypuszczalnie zależało to od okresu dobowego rytmu wzrostu. Możliwe, że w okresie intensywnego wzrostu, gdy kielki mają około 1,5—2 cm, wierzchołek coleoptile (koncentrujący substancje wzrostowe) hamuje rozwój liścienia (I-go liścia) wyrastającego z hypocotile, czyli — jak można powiedzieć przez analogię — dominuje nad czynnościami hypocotile, jak pąk wierzchołkowy dominuje nad bocznymi pąkami w układzie pędu rozgałęzionego. Usuwając wierzchołek coleoptile (długości około 5 mm) znoszono jego dominację nad hypocotile, które stając się aktywne, pobudzało liść do intensywniejszego wzrostu i do prześcignięcia na wysokość dekapitowane coleoptile o kilka mm w ciągu 8—12 godzin.

4. Przed wsunięciem liścienia z powrotem do coleoptile, obracano go o 180° i wsuwano końcem wierzchołkowym ku dołowi. Przekonano się, że liścien, pozostawiony w pozycji naturalnej, nawet oderwany od hypocotile, wydłuża się rosnąc jeszcze przez pewien czas od nasady i wysuwa się z pochewki unosząc przylegającą do niego kostkę agarową ponad powierzchnię ścięcia coleoptile. Ponadto przez wyjęcie liścienia z pochewki i wsunięcie go z powrotem wierzchołkiem na kilka zaledwie mm, unikano możliwości „sprężynowania“ przez niego wygięcie coleoptile pod wpływem jednostronnie zastosowanych auksyn.

5. Pozostawiona przy roślince testowej, zasadzonej do wilgotnych trocin, część hypocotile już po 2 dobach wytwarza na granicy z coleoptile dwa dostrzegalne gołym okiem zaczątki korzonków przybyszowych (w miejscu przebiegu dwóch bocznych wiązek naczyniowych), które po tygodniu osiągają długość 5—10 mm (ryc. 5). Hypocotile wytwarza jednocześnie drugi liść (I-szy liść — liścien był usunięty), wyrastający ponad dekapitowane coleoptile. Sądząc z powyższych czynności organotwórczych, hypocotile pozostawione przy coleoptile posiada nie tylko zdolność przetwarzania zawartych w sobie materiałów, czerpiąc tylko wodę z podłoża na budowę nowych komórek, lecz jednocześnie i zdolność podtrzymywania

na pewnym poziomie niezbędnych do wzrostu czynności fizjologicznych, a przede wszystkim oddychania (Bü n n i n g, 1953, str. 80—89). Bezpośrednie połączenie coleoptile z wysoce fizjologicznie czynnym hypocotile wpływa znacznie na podniesienie wyników wygięć coleoptile w doświadczeniach. Porównując maksymalne wygięcia w doświadczeniach stawia-



Ryc. 5. Rośliny testowe po tygodniu od zakończenia doświadczenia metodą „Coleoptile-hypocotile test“. Każde hypocotile wytworzyło po 2 korzonki przybyszowe na granicy z coleoptile oraz drugi liść (z wyjątkiem rośliny 8, 10, 11 i 12), który usunął resztkę pierwszego liścia i wyrósł ponad coleoptile

The test plants in a week after the experiment with “Coleoptile-hypocotile test” method: every hypocotile formed two adventive roots in the limit zone with the coleoptile and the second leaf, which removed the remaining piece of primary leaf and emerged from the coleoptile (except. 8, 10, 11 i 12 test plants)

nych metodą „Coleoptile test“ i „Coleoptile-hypocotile test“ pod wpływem jednakowego stężenia KIO, możemy stwierdzić, że druga metoda jest przynajmniej 7-krotnie efektywniejsza niż pierwsza.

Zestawienie porównawcze wygięć maksymalnych w testach: „Coleoptile“ i „Coleoptile-hypocotile“ pod wpływem roztworu 0,2 mg % KIO (z 2% glukoza) przedstawia się następująco:

Metoda	Maksymalne wygięcia w stopniach	Średnia 6-ciu maksymalnych wygięć
„Coleoptile test“	21	18
„Coleoptile-hypocotile test“	150	130

6. Wprowadzono do wszystkich doświadczeń jedną serię na wygięcia geotropiczne dla oznaczenia poziomu endogennych auksyn, pozostałych w coleoptile po dekapitacjach. Poziom ich wykazuje duże wahania zależnie od warunków hodowli, pory roku i okresu rytmu dobowego i wpływa

na wrażliwość coleoptile na auksyny wprowadzane z zewnątrz. W ten sposób wartość wygięć otrzymanych w doświadczeniu można podawać jako stopień wrażliwości względnej w procentach od wygięć geotropicznych, co stwarza lepszą porównywalność wyników różnych doświadczeń (ryc. 6, wykresy I i II).

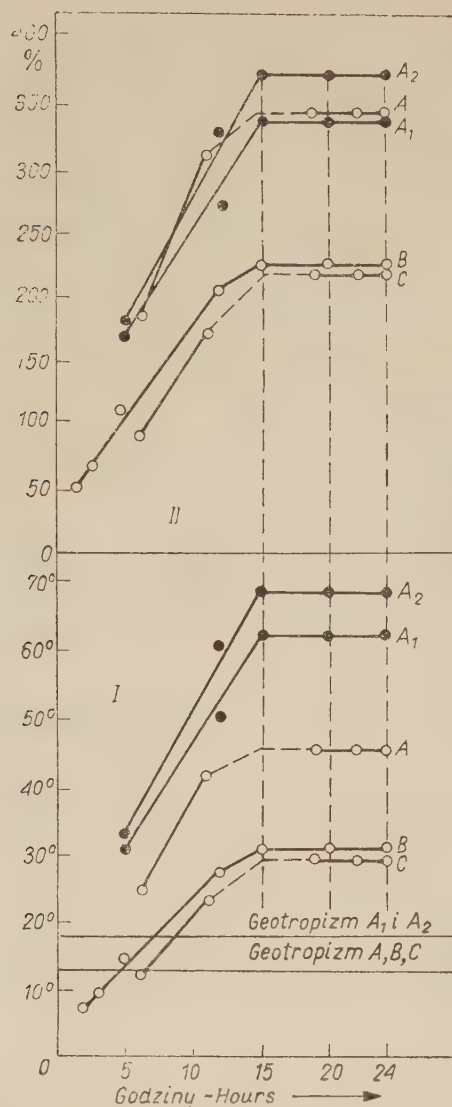
7. Przedłużenie czasu zadziałania do 24 godzin miało na celu objęcie doświadczeniem całego cyklu rytmu dobowego wzrostu, który, łącznie z innymi czynnościami fizjologicznymi, podlega rytmice „dziennej“ („Tagesrythmik“, Bü n n i n g, 1953, str. 80), a na poszczególnych odcinkach doby różni się intensywnością, związaną najściślej z oddychaniem. W poprzednich efektywnych metodach testu czas zadziałania nie przekraczał 7 godzin („Deseeded test“, S k o o g, 1937), powstawała teraz obawa, czy w nowej modyfikacji testu, przedłużającej zadziałanie do 24 godz., nie pojawią się wcześniej czynniki ograniczające wzrost zarówno endogenne, jak egzogenne, np.: fizjologiczne starzenie się („physiological aging“, S k o o g, 1937, str. 323) wykluczające dalszy wzrost lub wyczerpanie się auksyn, zawartych w kostce agarowej.

W celu wyjaśnienia powyższych wątpliwości przeprowadzono doświadczenia na oznaczenie: najdłuższego efektywnego czasu zadziałania oraz wpływu rozmiarów kostki agarowej na czas jej czynnego wpływu na wygięcia.

WPLYW CZASU ZADZIAŁANIA KWASEM INDOLOOCTOWYM (KIO) I ROZMIARÓW KOSTKI NA WYGIĘCIA COLEOPTILE W OKRESIE 24 GODZIN

W pierwszych doświadczeniach metodą „Coleoptile-hypocotile test“ przekonano się, że wygięcia coleoptile wzmagaly się pod wpływem kostki agarowej z substancjami wzrostowymi poza okres 5—7 godzin, wyznaczony dla metody „Deseeded test“, a osiągnawszy maksymalne wartości wygięć dla danej serii, nie zmieniały ich przez szereg godzin. Dlatego przedłużono doświadczenie do 24 godzin. W celu otrzymania danych liczbowych wykonano trzy kolejne doświadczenia, w których każda seria po 12 roślin testowych miała trzy powtórzenia: dwa z nich odbijano jako cienie na światłoczułym papierze 5—7 razy w pewnych odstępach czasu w ciągu 24 godzin, trzecie zaś służyło jako kontrolne dla stwierdzenia wpływu kilkurazowego krótkiego naświetlania i zabiegów związanych z odbijaniem cieni coleoptile. To trzecie powtórzenie fotografowano po 20 i 24 godzinach.

Do doświadczenia użyto kilku różnych, dostatecznie wysokich stężeń, 25 mg/l, 2,5 mg/l i 0,25 mg/l, żeby czynnikiem ograniczającym wygięcie nie było wyczerpanie się auksyn w kostce agarowej lub zbyt niski ich poziom. W tym też celu postawiono ponadto jedno doświadczenie o dwóch



Ryc. 6. Przebieg wygięć coleoptile w ciągu 24 godzin zadziałania kwasem indoloocetowym (KIO) oraz wpływ podwójnych kostek agarowych

Curvature responses of coleoptiles during the 24 hours application period of indoleacetic acid (IAA) and the effect of double agar blocks

Wykres I przedstawia krzywe wygięć w stopniach (wygięcia serii kontrolnych = 0). Wykres II: te same wygięcia w procentach od średniej wygięć geotropicznych (dla krzywych: A, B, C = 13 stopni, dla A₁ i A₂ = 18 stopni). Stężenia KIO — krzywe A, A₁ i A₂ = 2,5 mg/l. B = 0,25 mg/l i C = 25 mg/l (hamujące)

Diagram I represents curves of curvatures in degrees (curvature of control series = 0). Diagram II: the same in per cent of medial of geotropical curvatures (for curves: A, B, C = 13 degrees, A₁ and A₂ = 18 degrees). Concentrations of IAA — curves A, A₁ and A₂ = 2,5 mg/l, B = 0,25 mg/l and C = 25 mg/l (inhibitant)

równoległych seriach (w dwóch powtórzeniach) z kostkami agarowymi pojedynczymi i podwójnymi (jedna kostka na drugiej).

Wyniki — jako średnie dwóch powtórzeń — przedstawiono na wykresach (ryc. 6, wykresy I i II). Na wykresie I na osi odciętych podano czas w godzinach, na osi rzędnych — wygięcia ujemne, na stronę „pustą”, w stopniach. Widzimy, że wygięcia coleoptile wzrastają w ciągu 15 godzin zadziałania i nie zmieniają się w ciągu następnych dziewięciu godzin dla wszystkich stężeń i rozmiarów kostki. Krzywe A i A₁, przedstawiające średnie wyników wygięć jednego stężenia KIO z różnych doświadczeń, są od siebie oddalone z powodu różnej przypuszczalnie zawartości endogennych auksyn, na co wskazuje średnia wygięć geotropicznych dla odnośnego doświadczenia, przy krzywej A wynosi ona 13 stopni, przy krzywej A₁ — 18°. Gdy przeliczono wartości wygięć procentowo w stosunku do wygięć geotropicznych (ryc. 6, wykres II), to krzywe tego samego stężenia A i A₁ z różnych doświadczeń, poprzednio oddalone od siebie o 16 stopni, prawie się zlały. Nie zostało jeszcze wyjaśnione, jaki jest optymalny poziom endogennych auksyn dla otrzymania maksymalnych wygięć w różnych stężeniach KIO. Stwierdzono, że przy bardzo niskich wartościach geotropicznych wygięć wrażliwość na auksyny, wprowadzone z kostki agarowej, również jest niska.

Wpływ rozmiarów kostki agarowej na wygięcia przedstawiają krzywe A₁ i A₂: pojedyncze kostki agarowe — A₁ i podwójne kostki agarowe — A₂. Serie o podwójnych kostkach agarowych osiągnęły nieco wyższe wartości wygięć (w końcowym wyniku różnica wynosi 6 stopni), lecz również nie przedłużyły czasu efektywnego zadziałania. Wyniki te świadczą, że czynnikiem ograniczającym wygięcia do 15 godzin nie było wyczerpanie się lub zbyt małe stężenie auksyn w kostce, gdyż nawet kostki podwójne, które wywołały wygięcia silniejsze niż kostki pojedyncze, nie mogły aktywować strony zadziałanej do wzrostu po upływie 15 godzin od początku doświadczenia.

Sądząc z otrzymanych wygięć w seriach (trzecie powtórzenie) analogicznych do omawianych, fotografowanych tylko przy końcu doświadczenia po 20 i 24 godzinach, wpływ kilkakrotnego krótkiego naświetlania i zabiegów związanych z odbijaniem cieni coleoptile nie był istotny.

DYSKUSJA

Przedłużenie efektywnego czasu zadziałania w modyfikacji „Coleoptile-hypocotile test” do 15 godzin, podczas gdy w metodzie „Deseeded test” wynosiło 5—7 godzin, możliwe było przypuszczalnie z następujących powodów: 1. obniżenie możliwości regenerowania auksyn w aktywnych stężeniach po stronie „pustej” coleoptile przez całkowite odcięcie tarczki

i korzeni u biotestu, 2. użycie młodszych kielków do doświadczenia, których „fizjologiczne starzenie się” następowało później.

Korzenie są pewnego rodzaju, jak określa K. Mothes (1956), chemicznym warsztatem („Chemische Werkstatt besonderer Art”), gdyż syntetyzują szereg złożonych związków organicznych, w tym również przypuszczalnie tzw. kompleksy auksynowe (Auxin-Komplex, Mothes, 1956, str. 9). Możliwe, że pozostawienie w teście „deseeded” części tarczki z korzeniami powodowało powstawanie po stronie nie zadziałanej „pustej”, w ciągu 5—7 godzin doświadczenia, ilości auksyn dostatecznej nie tylko do wyrównania wygięć strony zadziałanej, lecz i powstawanie wygięć dodatnich na stronę kostki (w stężeniach słabych i kontrolnych, Skoog, 1937, str. 320). Według Skooga po stronie zadziałanej prekursorzy wchodzą do kostki agarowej i nie są natychmiast przemieniane w auksyny. W teście „coleoptile-hypocotile”, pozbawionym całkowicie korzeni, wygięcia dodatnie nie powstawały zarówno w seriach kontrolnych z „pustymi” kostkami agarowymi, jak i w seriach o stężeniach słabych. Świadczyłoby to, że kielek pozbawiony korzeni nie zawierał wcale prekursorów dopływających do coleoptile lub zawierał je w stężeniach tak minimalnych, że nie mogły one regenerować auksyn i przeciwdziałać wygięciom ujemnym powstającym pod wpływem auksyn z kostki.

W teście „deseeded” posługiwano się kielkami starszymi, gdyż nakładano kostki agarowe na kielki długości około 3—4 cm, w teście zaś „coleoptile-hypocotile” kielki miały przy nakładaniu kostek około 2—3 cm długości. W ten sposób w teście „deseeded” kielki mogły kończyć okres wyginania się pod wpływem egzogennych auksyn nie tylko na skutek wyrównywania się lub przewagi endogennych auksyn po stronie nie zadziałanej (powstających z prekursorów w ciągu doświadczenia), lecz również z powodu fizjologicznego starzenia się tkanki coleoptile głównie po stronie uboższej w auksyny (Skoog, 1937, str. 323). W teście „coleoptile-hypocotile” fizjologiczne starzenie się musiałoby również się rozpoczynać od strony nie zadziałanej — „pustej”, która nie otrzymując prekursorów auksyn nie produkuje endogennych auksyn, staje się sztywna i przeciwstawia się wygięciom strony zadziałanej.

Zdawałoby się, że używając do doświadczenia kielków bardzo młodych można przedłużyć czas efektywnego zadziałania znacznie poza 15 godzin, jednak zbyt młode kielki nie wykazują jeszcze dostatecznego fizjologicznego zróżnicowania wierzchołka coleoptile. Kielek wysokości poniżej 1,5 cm po dekapitacji tylko nieznacznie obniża szybkość swego wzrostu i rośnie równomiernie z liścieniem, co wskazuje na rozproszony stan auksyn, podczas gdy w starszych kielkach są one zlokalizowane głównie w wierzchołku coleoptile, którego obcięcie zatrzymuje wzrost na pewien czas całkowicie. Przypuszczalnie niedostatecznym skoncentrowaniem auk-

syn w wierchołku coleoptile można wytłumaczyć mniejszą wrażliwość dekapitowanych zbyt młodych kiełków na auksyny wprowadzane z zewnątrz, zanotowaną przez Skooga (1937, str. 317). Ograniczenie czasu wyginania się coleoptile do 15 godzin zadziałania w wielu doświadczeniach metodą „coleoptile-hypocotile test” ulega lekkim wahaniom w obie strony w poszczególnych doświadczeniach, zależnie również od okresu cyklu rytmu dobowego wzrostu, dlatego przedłużenie czasu zadziałania do 24 godzin daje wyniki łatwiej porównywalne.

Wyniki pozytywnego wpływu zdwojonych kostek agarowych na stopień wygięcia coleoptile nasuwają zadanie znalezienia optymalnych rozmiarów kostek w doświadczeniach trwających całą dobę.

STRESZCZENIE

Opisano nową uproszczoną metodę testu owsianego wygięciowego na auksyny — „Avena curvature test” W. F. Wenta pod nazwą „Coleoptile-hypocotile test”. Podano schematy porównawcze wyjściowego testu Wenta „Standard test” i jego trzech modyfikacji: „Deseeded test” — F. Skooga, „Coleoptile test” — H. Funkego i nowej metody „Coleoptile-hypocotile test” (ryc. 1).

Główne cechy nowej metody są następujące:

1. Jest łatwiejsza pod względem preparowania roślinek testowych i ustawiania całego doświadczenia i daje dłuższy okres czasu na odczytywanie i utrwalanie wyników.

2. Sposób wprowadzania auksyn do kostek agarowych z bibuły nasiąkniętej ich roztworem umożliwia posługiwanie się bezpośrednio bibułowymi chromatogramami z substancji wzrostowych do nasiąkania agaru.

3. Daje bardziej porównywalne wyniki z różnych doświadczeń dzięki: zastosowaniu 24-godzinnego testu obejmującego cały dobowy cykl rytmu wzrostowego i dzięki wprowadzeniu do każdego doświadczenia serii kontrolnej na wygięcia geotropiczne. Te ostatnie określają poziom endogennych auksyn w roślinkach testowych i pozwalają obliczać wygięcia w procentach od wygięć geotropicznych.

4. Jest pośrednią pomiędzy metodą “deseeded test” a metodą “coleoptile test” co do morfologicznych składników samej rośliny testowej, która składa się z dekapitowanego coleoptile (pochewki liścieniowej), pozabawionej liścienia (I-go liścia) i części hypocotile (łodyżki podliścieniowej).

5. Jest wrażliwsza na auksyny, ponieważ daje wygięcia przynajmniej siedmiokrotnie większe niż metoda „Coleoptile test” i nawet przekracza intensywnością wygięć metodę „Deseeded test” przez przedłużenie czasu zadziałania z 5—7 godzin do około 15 godzin efektywnych w całkowitym cyklu dobowego wzrostu. Obecność 2% glukozy w roztworach KIO podnosi intensywność wygięć.

Wyniki doświadczeń przeprowadzonych w celu oznaczenia czasu skutecznego wpływu kwasu indolooctowego (zawartego w kostkach agarowych) na wygięcia pochwki liściennej w ciągu 24-godzinnego testu wykazały okres czynny około 15 godzin i następne zatrzymanie się wygięć do końca doświadczenia. Z doświadczeń tych wyciągnięto wniosek, że przyczyną zatrzymania się wygięć jest osiągnięcie „fizjologicznej starości” głównie przez stronę „pustą” (przeciwległą kostce agarowej) coleoptile. Fizjologiczne starzenie się nie obejmuje hypocotile, które pozostaje aktywne znacznie dłużej, wytwarzając po parze korzonków przybyszowych na granicy z coleoptile i drugi liść, który przerasta (w 5—6 dni) dekapitowane coleoptile.

(Wpłynęło dn. 8.8.1958 r.)

SUMMARY

In this article the new method of F. W. Went's "Avena curvature test" for auxin has been described as "Coleoptile-hypocotile test". The comparative drawing schema of Went's "Avena test" as "Standard test" method and its three modifications: F. Skoog's "Deseeded test", H. Funke's "Coleoptile test", and the new "Coleoptile-hypocotile test" methods have been presented (Fig. 1).

The main features of the new method are as follows:

1. It is easier than the previous method of preparing the test plante as in the montage of whole experiments (Fig. 2—4) and gives a longer period of time to record the results.

2. The way of introducing auxin to agar blocks from paper soaked with its solution makes it possible to use directly the paper chromatograms of growth substances to introduce them in agar.

3. It gives more comparative results from different experiments by the application of the 24 hours test, which records the whole day cycle growth rhythm and by the investigation in every experiment of the comparative series for geotropical curvatures registering the level of the endogeneous auxin in the test plants, which influences in a considerable degree the sensibility of biotest to outside auxin (Fig. 6).

4. As to the morphological components of the test plant it is midway between the "Deseeded test" and the "Coleoptile test" methods, it is composed of the decapitated coleoptile (without the cotyledon — primary leaf) and of the part of hypocotile, while in the "deseeded test" there remains almost the whole decapitated seedling with the lower half of the scutellum (with some roots), and in the "coleoptile test" the test plant is limited to the upper part of the decapitated coleoptile 1,2 cm of length (with the primary leaf in it).

5. As to the sensibility to auxin applied unilaterally, it gives curvatures at least seven times greater than the "coleoptile test" method and even surpasses by the intensity of the curvatures the "deseeded test" method by means of extending the time of auxin action from 5—7 hours to about 15 hours. effective in the complete cycle of 24 hours growth experiment.

The presence of 2% glucose in the solutions of IAA increased the intensity of curvatures.

The results of experiments undertaken to determine the time of the effective activity of the indoleacetic acid (IAA) included in agar blocks on curvatures of coleoptiles showed its duration of about 15 hours and further stopping of curvatures till the end of the test (Fig. 6). In the same way behaved all series of various IAA concentrations with single and double blocks (put one on the other). This stopping of curvatures at the same time in about 15 hours of the test, independently of the concentrations of IAA or the size of agar blocks, and the stability of the achieved curvatures in the last hours of the experiments seems to be due to the "physiological aging" of the "empty" side of coleoptiles. This physiological period is connected with the stiffness of the tissues because of lack of auxin for several hours in the empty side, which probably balances the strength of the curvature of the opposite "induced" side. The physiological aging of the coleoptiles does not attain hypocotiles, they remain active several days longer producing each a pair of adventitious roots in the limiting zone with the coleoptile and the second leaf, which emerges in the decapitated test plant in five or six days (Fig. 5).

The direct application of paper chromatograms of auxin from natural saps will be discussed in a separate report.

LITERATURA

- Audus L. J., 1953, *Plant Growth Substances*, Leonard Hill Ltd. London.
- Bünning E., 1953, *Entwicklung und Bewegungsphysiologie der Pflanze*, 3. Aufl. Lehrbuch der Pflanzenphysiologie, Springer, Berlin.
- Kefford N. P., 1955, *Journ. Exper. Bot.* 6 (16): 129—151.
- Linser H., Kiermayer O., 1957, *Methoden zur Bestimmung pflanzlicher Wuchsstoffe*, Springer, Wien.
- Nitsch J. P. and Nitsch C., 1956, *Plant Physiol.* 31 (2): 94—111.
- Mothes K., 1956, *Wissenschaft. Ann.* 5 Jahrgang 1: 1—24.
- Skoog F., 1937, *Journ. General Physiol.* 20 (3): 311—334.
- Söding H., 1952, *Die Wuchsstofflehre*, Georg Thieme, Stuttgart.
- Thimann K. V., 1952, *The action of hormones in plants and invertebrates*, Academic Press, New York.
- Went F. W., 1926, *Proc. Koninkl. Nederland, Akad. Wetenschap.* 30: 10.
- Went F. W., 1927, *Wuchsstoff und Wachstum*, Utrecht.
- Went F. W., 1928, *Rec. trav. botan. néerl.* 25: 1—116.
- Went F. W., 1935, *Bot. Rev.* 1: 162.
- Went F. W., 1951, *Twenty Years of Plant Hormone Research*, edit. Skoog F. (Symposium), *Plant Growth substances*, Univ. Wisconsin Press, Madison.

Badania cytologiczno-morfologiczne nad *Plantago media* L. i innymi gatunkami rodzaju *Plantago*

*Cytological and morphological studies in Plantago media L. and other
species of the genus Plantago*

D. CZAPSKA

WSTĘP

Celem mojej pracy było zbadanie cytologiczne różnych biotypów gatunku *Plantago media* L. z terenu Polski. Jak podaje Hegi, gatunek ten jest szeroko rozprzestrzeniony w Europie i w Azji. Somatyczna liczba chromosomów *P. media* ustalona została w wyniku badań cytologicznych McCullagha (1934), Turessona (1938) i Sugiury (1939), wynosi ona $2n=24$. W obrębie rodzaju *Plantago* występuje kilka podstawowych liczb chromosomów $x=4, 5, 6, 9$. *P. media* ma liczbę podstawową 6, badane okazy były więc tetraploidami. W r. 1954 duński badacz Rahm wykrył w obrębie *P. media* rasę diploidalną ($2n=12$) występującą w pld.-zach. Europie. Nad *P. media* w Polsce nie było poprzednio w ogóle badań cytologicznych. Ponieważ w obrębie tego gatunku na naszych terenach występuje pewne zróżnicowanie morfologiczne, interesujące było zagadnienie, czy wiąże się ono z różnicami cytologicznymi.

W toku mej pracy ustaliłam również liczby chromosomów *Plantago maior* L. i *Plantago lanceolata* L. z kilku naturalnych stanowisk. Oprócz tego włączyłam do moich badań okazy *Plantago montana* Lam. pochodzące z naturalnych stanowisk w Tatrach. Żaden z tych trzech gatunków nie był poprzednio badany cytologicznie na okazach z terenu Polski. Należy zaznaczyć, że liczba chromosomów $2n=24$ ustalona przeze mnie dla *P. montana* jest różna od podawanej poprzednio przez Heitza (1927) i McCullagha (1934).

MATERIAŁ I METODY

Materiał roślinny użyty do badań pochodził wyłącznie z naturalnych stanowisk z terenu Polski. Zebrany został w miesiącach wiosennych i letnich w latach 1955 i 1956. Wykaz stanowisk podaję w tabelach 1, 5, 6.

Liczby chromosomów ustalałam na mitozach w merystemach stożków wzrostu korzeni. Okazy przeznaczone do badań przywożone były do pracowni. Rozwijające się młode korzonki utrwalalam w utrwalaczu Navashina skoncentrowanym lub rozcieńczonym do połowy wodą destylowaną. Następnie wysadzałam rośliny na pole doświadczalne Zakładu Anatomii i Cytologii Roślin dla przeprowadzenia obserwacji morfologicznych. Utrwalone korzonki po odwodnieniu zatapiałam w parafinie i krajałam na mikrotomie. Skrawki grubości 10μ barwiłam fioletem gencjanowym 1% według Newtona. Badania morfologiczne przeprowadziłam w okresie kwitnienia roślin. Średnicę ziarn pyłku mierzyłam podziałką okularową na preparatach glicerynowych.

BADANIA MORFOLOGICZNE

Badania morfologiczne przeprowadziłam na kwitnących roślinach w dwóch sezonach wegetacyjnych: w pierwszym w stanowiskach naturalnych i w następnym po przezimowaniu roślin na polu doświadczalnym. Część badanych okazów nie przetrwała zimy, dlatego obserwacje drugiego sezonu nie obejmują wszystkich stanowisk. W badaniach tych uwzględniłam następujące cechy:

1. Długość kwiatostanów.
2. Długość łodyg do podstaw kwiatostanów.
3. Długość liści.
4. Średnicę ziarn pyłku.

Wyniki pomiarów przedstawiają tabele 2, 3, 4.

Tabela 2 przedstawia długości kwiatostanów oraz wysokość łodyg do podstawy kwiatostanów. Liczby podane w tej tabeli są średnimi uzyskanymi z pomiarów wszystkich kwiatostanów i łodyg każdego z okazów w warunkach naturalnych i wyrównanych. Poszczególne biotypy różnią się bardzo znacznie pod względem długości kwiatostanów oraz wysokości łodyg (fig. 1). W warunkach naturalnych długość kwiatostanów wykazywała skalę zmienności od 1,5 do 13,5 cm, a wysokość łodyg od 6,5 do 63,5 cm. Na polu doświadczalnym odpowiednie wartości wynosiły: kwiatostany od 4,4 do 13,9 cm, łodygi od 16,8 do 45,7 cm. W stanowiskach naturalnych różnica między skrajnymi wielkościami w długości kwiatostanów wynosiła 12 cm, w wysokości łodyg 57 cm. W roku następnym te same rośliny hodowane w warunkach wyrównanych wykazywały zwię-

Tabela 1

Plantago media (2n = 24)

Wykaz stanowisk. List of habitats

Nr stanowiska Habitat No.	Stanowisko Place of origin	Szer. geogr. North. lat.
	Tatry:	49° 10'
15	Na zboczach Doliny Jaworzynki ok. 1300 m n.p.m. zebr. prof. Skalińska	
2	Pod Krokwią w trawie koło małej skoczni ok. 900 m n.p.m. zebr. prof. Skalińska	
5	Droga pod Regłami, koło dużej skoczni ok. 900 m n.p.m. zebr. prof. Skalińska	
1	Lasek w drodze do Doliny Białego ok. 900 m n.p.m. zebr. prof. Skalińska	
7	Łąka w okolicy Doliny Białego ok. 900 m n.p.m. zebr. mgr Sokołowska-Kulczycka	
3	Powyżej Drogi pod Regłami, przy wejściu do Dol. Strążyskiej ok. 900 m n.p.m. zebr. prof. Skalińska	
6	Przy drodze leśnej z Przystępu Miętusiego do Doliny Kościeliskiej ok. 1250 m n.p.m. zebr. prof. Skalińska	
23	Orawka k. Jablonki — na skarpie przy drodze polnej, zebr. mgr Piotrowicz	49° 30'
4	Zarszyn, Beskid Wschodni, na polanie w lesie mieszanym, zebr. mgr Rychlewski	49° 34'
21	Jordanów, na zboczu koło polnej drogi, zebr. mgr Małecka	49° 38'
11	Dobra k. Łimanowej, w lesie olszynowym na podmokłej łące, zebr. mgr Wilczyńska	49° 42'
22	Maków Podhalański, Kamienna Góra, zarośla, zebr. dr Pogan	49° 43'
10	Tarnawa Dolna, koło drogi polnej, zebr. mgr Turała	49° 47'
9	Wadowice, za miastem przy drodze polnej, zebr. mgr Trela	49° 53'
14	Wieliczka, przy drodze polnej, zebr. D. Czapska	49° 59'
8	Dolina Będkowska, na dnie doliny przy ścieżce pod skałkami, zebr. mgr Sokołowska-Kulczycka	50° 09'
12	Dolina Bolechowicka, przy ścieżce na dnie doliny, zebr. mgr Urbańska	50° 09'
13	Dolina Bolechowicka, na zboczach doliny, zebr. mgr Urbańska	50° 09'
19	Stalowa Wola, na wale nad Sanem, zebr. D. Czapska	50° 34'
16	Olsztyn k. Częstochowy, skałki wapienne, zebr. mgr Piotrowicz	50° 45'
17	Janowice, u podnóża Gór Świętokrzyskich na łące gliniastej pod drzewami, zebr. D. Czapska	50° 51'
18	Jędrzejowice k. Ostrowca Św. obok drogi polnej, zebr. D. Czapska	50° 55'
20	Pionki k. Radomia, brzeg lasu sosnowego, zebr. D. Czapska	51° 35'

Tabela 2
Plantago media

Stanowisko Place of origin	Średnia długość kwiatostanów Average length of the inflorescences		Średnia wysokość łodyg do podstaw kwiatostanów Average height of the scape	
	Stanowisko naturalne Natural habitat	Pole doświadcz. Experiment. field	Stanowisko naturalne Natural habitat	Pole doświadcz. Experiment. field
15 Tatry, zbocza Dol. Jaworzynki	1,5 cm	8,0 cm	6,5 cm	31,0 cm
16 Olsztyn	1,5 cm	4,4 cm	11,8 cm	16,8 cm
12 Dol. Bolechowska	1,7 cm	5,5 cm	8,0 cm	22,5 cm
1 Tatry, lasek koło Doliny Białego	2,2 cm	—	8,0 cm	—
8 Dol. Będkowska	3,5 cm	9,3 cm	24,5 cm	31,4 cm
13 Dol. Bolechowska	3,7 cm	6,5 cm	19,1 cm	30,2 cm
11 Dobra	3,8 cm	9,8 cm	22,2 cm	38,7 cm
21 Jordanów	4,2 cm	5,2 cm	24,0 cm	27,2 cm
10 Tarnawa Dolna	4,3 cm	8,2 cm	27,3 cm	33,3 cm
7 Tatry, łąka koło Doliny Białego	4,6 cm	9,7 cm	26,8 cm	33,6 cm
20 Pionki	5,0 cm	5,7 cm	26,5 cm	25,8 cm
19 Stalowa Wola	5,0 cm	4,8 cm	30,0 cm	26,5 cm
2 Tatry pod Krokwią	5,5 cm	—	27,5 cm	—
3 Tatry, Droga pod Regłami	5,5 cm	—	29,0 cm	—
14 Wieliczka	5,5 cm	8,1 cm	41,0 cm	37,3 cm
18 Jędrzejowice	7,5 cm	7,0 cm	35,0 cm	35,1 cm
9 Wadowice	9,0 cm	8,5 cm	51,0 cm	38,2 cm
4 Zarszyn	12,0 cm	—	57,0 cm	—
17 Janowice	13,5 cm	13,9 cm	63,5 cm	45,7 cm

zenie skali zmienności, lecz pewne różnice pomiędzy poszczególnymi biotypami zostały zachowane. U większych roślin (np. z Wadowic, z Janowic) nie zaobserwowałam zasadniczych różnic w wyglądzie roślin w warunkach naturalnych i na polu doświadczalnym, natomiast mniejsze rośliny (np. z Doliny Jaworzynki, Doliny Bolechowskiej) rozwijają się bujniej na polu doświadczalnym niż w naturalnym stanowisku.

Rańh n analizując różnice morfologiczne między diploidami a tetraploidami zwrócił uwagę na charakterystyczny stosunek długości kwiatostan + łodyga do długości kwiatostanu. W materiale badanym przez tego autora wynosi on przeciętnie 4,11 u tetraploidów, u diploidów zaś 2,6.

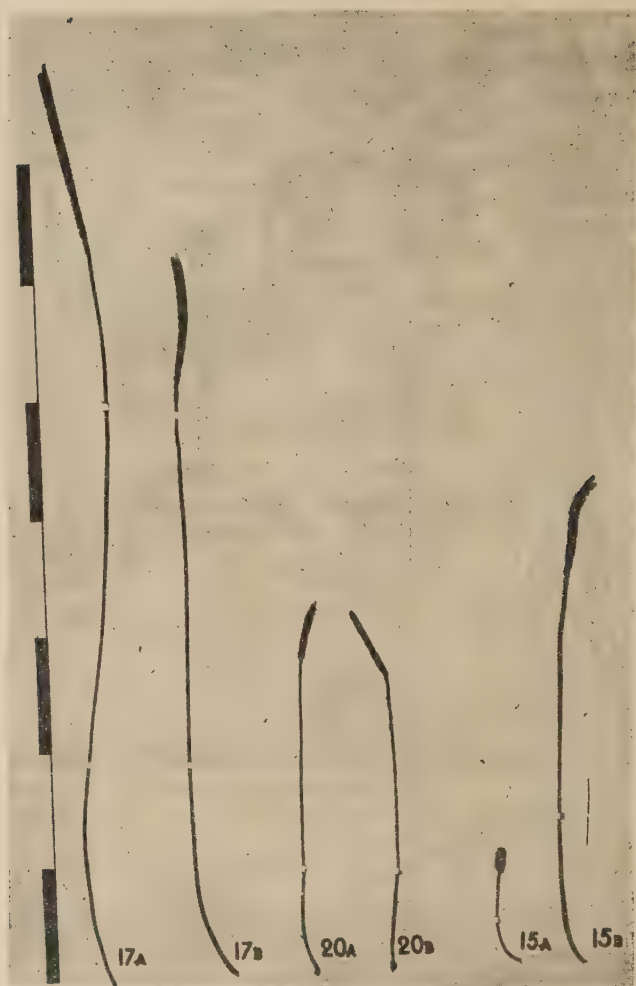


Fig. 1. *Plantago media*. Łodygi z kwiatostanami z naturalnych stanowisk (A) i z pola doświadczalnego (B). Biotypy 17 i 20 mają podobny wygląd kwiatostanów w stanowisku naturalnym i na polu doświadczalnym. Natomiast biotyp 15, po przeniesieniu z krańcowego stanowiska naturalnego na pole doświadczalne, wykształca znacznie dłuższy kwiatostan (Odstępy skali wynoszą 10 cm)

Plantago media. Scapes and spikes from natural habitats (A) and from the experimental field (B). The biotypes 17 and 20 maintain their features after transplanting, whereas biotype 15 which originates from an extreme habitat on limestone develops in the experimental field a much longer inflorescence (The intervals of the scale comport 10 cm)

W badanym przeze mnie materiale stosunek ten u najmniejszych roślin wynosił 5,3 — u największej 5,7. Pomimo znacznych różnic w wielkości i bujności badanych przeze mnie roślin stosunek ten jest zatem prawie jednakowy, charakterystyczny dla tetraploidów. Jak wykazały przeprowadzone badania cytologiczne, wszystkie zbadane rośliny należące do 23 biotypów są istotnie tetraploidami.

Tabela 3 przedstawia pomiary liści zgrupowane według długości. Liczby podane w tej tabeli są średnimi długościami kilku największych liści każdego okazu. Rozpiętość między wartościami skrajnymi jest tu również znaczna.

Tabela 3
Plantago media

Stanowisko Place of origin	Średnia długość liści Average length of the leaves	
	Stanowisko naturalne	Pole doświadczalne
	Natural habitat	Experimental field
15 Tatry, Dol. Jaworzynki	4,2 cm	9,7 cm
16 Olsztyn	4,4 cm	7,5 cm
23 Orawka	5,0 cm	5,7 cm
21 Jordanów	7,0 cm	7,3 cm
10 Tarnawa Dolna	7,1 cm	11,2 cm
12 Dolina Bolechowicka	7,2 cm	8,5 cm
19 Stalowa Wola	8,0 cm	7,8 cm
20 Pionki	8,0 cm	7,9 cm
8 Dolina Będkowska	8,6 cm	10,3 cm
22 Maków Podhalański	8,6 cm	8,5 cm
11 Dobra	8,7 cm	13,1 cm
18 Jędrzejowice	8,9 cm	8,6 cm
14 Wieliczka	9,4 cm	13,5 cm
7 Tatry, łąka koło doliny Białego	9,7 cm	13,3 cm
17 Janowice	14,0 cm	16,0 cm
9 Wadowice	17,6 cm	16,7 cm

W stanowiskach naturalnych średnia długość liści wahała się od 4,2 do 17,6 cm. W warunkach wyrównanych skala zmienności uległa nieznacznemu zwężeniu, przy czym rośliny, które w warunkach naturalnych miały małe liście, rozwinęły na polu doświadczalnym nieco większe rozety liściowe. Dla uchwycenia dalszych możliwych różnic pomiędzy badanymi biotypami wykonałam orientacyjne pomiary ziarn pyłku kilku okazów wyraźnie różniących się morfologicznie.

Wyniki zestawione w tabeli 4 wykazują, że średnie wartości wahały się od 21 do 26,3 μ . Różnice pomiędzy biotypami były niewielkie i zupełnie przypadkowe. Wartości najmniejsze i największe nie odpowiadały

T a b e l a 4
Plantago media

Stanowisko Place of origin	Średnica ziarn pyłku w mikronach Diameter of pollen grains in microns						M
	17,5 — 21,0	21,0 — 24,5	24,5 — 28,0	28,0 — 31,5	31,5 — 35,0		
10 Tarnawa Dol.	—	7	5	3	4	1	25,6
11 Dobra	—	3	6	9	2	—	26,3
12 Dol. Bolechow.	2	9	6	3	—	—	22,8
14 Wieliczka	6	9	4	1	—	—	21,0
16 Olsztyn	—	7	7	5	1	—	24,6
17 Janowice	6	9	4	1	—	—	21,0

najniższym i najwyższym badanym roślinom. Okaz z Janowic o największych kwiatostanach miał przeciętną średnicę ziarn pyłku równą 21 μ , natomiast jedna z najmniejszych roślin z Olsztyna — 24,6 μ , roślina o pośrednich kwiatostanach z Dobrej — 26,3 μ .

BADANIA CYTOLOGICZNE

Plantago media L. (fig. 2c, d, 7, 8).

Decaisne (wg McCullagha) dzieli rodzaj *Plantago* na szereg sekcji; *P. media* należy do sekcji *Lamrosantha*, której gatunki mają liczbę podstawową $x=6$. W toku mej pracy przeprowadziłam badania cytologiczne na okazach z 23 stanowisk. U wszystkich tych roślin somatyczna liczba chromosomów wynosi 24, zatem opisane wyżej zróżnicowanie morfologiczne *P. media* nie ma podłoża w różnicach cytologicznych. Zarówno największe, jak najmniejsze rośliny posiadały tetraploidalną liczbę chromosomów. Wyniki te potwierdzają dla materiału z Polski liczbę podaną poprzednio przez McCullagha (1934).

Morfologia chromosomów w płytkach metafazowych zgodna jest z opisem podanym przez McCullagha. Występują tu chromosomy następujących typów: z centromerem terminalnym, subterminalnym, submedialnym i medialnym. W pewnych płytkach jedna para chromosomów z centromerem terminalnym miała wyraźnie widoczne trabanty, których średnica była mniejsza niż średnica ramion chromosomów (fig. 2a). Chromosomy z trabantami były czasem zgięte, ale miejsce zgięcia nie odpowiada tu centromerowi.



Fig. 2. Somatic metaphase plates. In brackets numbers of habitats

Root-tip metaphases. Numbers of habitats in brackets
 a — *Plantago maior*, $2n = 12$ (2 ma); b — *Plantago lanceolata*, $2n = 12$ (3 lan); c, d — *Plantago media*, $2n = 24$ (15, 4).
 (2600 ×)

Tabela 5
Plantago maior L. ($2n = 12$)
 Wykaz stanowisk. List of habitats

Nr No	Stanowisko Place of origin	Szer. geogr. North. lat.
1 ma.	Beskid Mały, Leskowiec, na szczycie koło schroniska, zebr. mgr Turala	49° 55'
2 ma.	Kraków—Borek Fałęcki, piaszczysta łąka, zebr. D. Czapska	50° 00'
3 ma.	Zabrze, łąka podmiejska, zebr. D. Czapska	50° 17'
4 ma.	Pionki, na dnie błotnistego rowu, zebr. D. Czapska	51° 30'
5 ma.	Szczecin, przy drodze za miastem, zebr. D. Czapska	53° 27'

Plantago maior L. (fig. 2a, 5).

Wg Decaisne'a *P. maior* należy do sekcji *Polyneuron*, która ma liczbę podstawową $x=6$. Badane przeze mnie rośliny pochodziły z pięciu rozmaitych odległych stanowisk.

Wszystkie te okazy są diploidami ($2n=12$); jest to liczba podawana najczęściej dla tego gatunku. Po utrwaleniu wiosną 1956 r. rośliny wysadzone były na pole doświadczalne. W końcu lata w warunkach wyrównanych materiał przedstawiał się jednolicie; nie dało się w nim stwierdzić zróżnicowania morfologicznego.

Plantago lanceolata L. (fig. 2b, 6).

Wg Decaisne'a *P. lanceolata* należy do sekcji *Arnoglossum*, z liczbą podstawową 6. Zbadałam okazy z trzech stanowisk. Wszystkie te okazy są diploidami ($2n=12$). Należy zaznaczyć, że w obrębie tego gatunku obserwowane było poprzednio pewne zróżnicowanie cytologiczne.

T a b e l a 6
Plantago lanceolata ($2n=12$)
Wykaz stanowisk. List of habitats

Nr No	Stanowisko Place of origin	Szer. geogr. North. lat.
1 lan.	Kraków—Borek Fałęcki, piaszczysta łąka, zebr. D. Czapska	50° 00'
2 lan.	Taciszów (Śląsk Opolski) podmokła łąka, zebr. D. Czapska	50° 90'
3 lan.	Dąbki — wydma nad Bałtykiem, zebr. mgr Piotrowicz	54° 50'

Plantago montana Lam. (*P. atrata* Hoppe) fig. 3, 9).

Gatunek ten należy wg Decaisne'a do sekcji *Oreades*, w której również występuje liczba podstawowa 6. Pierwszy raz liczbę somatyczną chromosomów *P. montana* ustalił Heitz (1927), który podał dla tego gatunku $2n=12$. Również McCullagh opisuje *P. montana* jako gatunek diploidalny. Obydwaj autorzy nie podają stanowisk, nie wiadomo więc skąd pochodziły badane przez nich okazy. Materiał zbadany w toku niniejszej pracy pochodził z dwóch stanowisk tatrzańskich — z masywu Czerwonych Wierchów spod szczytu Krzesanicy (ok. 2120 m) oraz spod szczytu Ciemniaka (ok. 2089 m). Z pierwszego stanowiska otrzymałam materiał w postaci nasion od dr Radwańskiej-Paryskiej z Alpinarium Naukowej Stacji Tatrzańskiej P.A.N. w Zakopanem, z drugiego zaś — żywe okazy zebrane zostały przez mgra Szczepanka. Liczba chromosomów *P. montana* z Tatr okazała się wyższa od podanej poprzed-

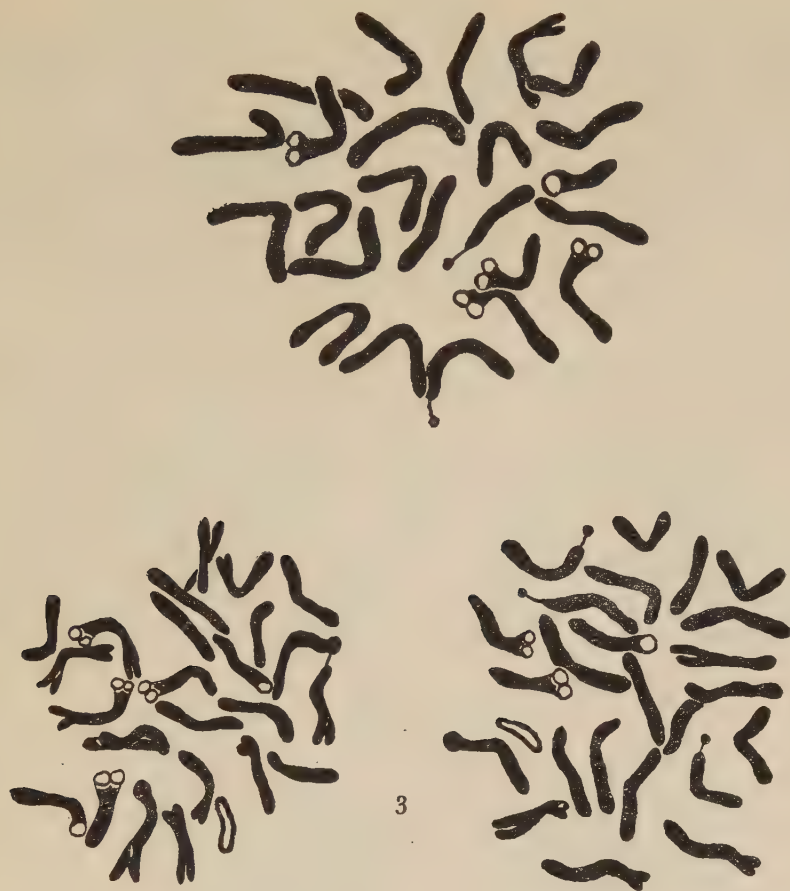


Fig. 3. *Plantago montana*. Somatyczne płytki metafazowe: u góry — $2n = 24$ (3000 $\times$); poniżej — dwie płytki z dodatkowym chromosomem (2600 $\times$)

Root-tip metaphases: top — $2n = 24$ (3000 $\times$); bottom — two plates with one accessory chromosome (2600 $\times$)

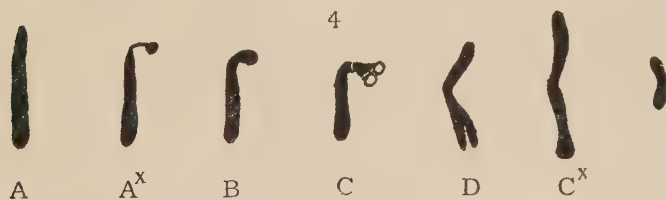


Fig. 4. *Plantago montana*. Typy chromosomów; na prawo mały dodatkowy chromosom

Types of chromosomes; on the right the small accessory chromosome

nio, rośliny bowiem były tetraploidami ($2n = 24$, fig. 3 a), a spośród osobników wyhodowanych z nasion jeden miał ponadto chromosom dodatkowy (fig. 4 b, c). Ogólny pokrój roślin, kształt i uwłosienie liści zgadzały się z cechami podanymi przez systematyków.

P. montana należy do rzadkich roślin tatrzańskich. Występuje ona w górach Europy. Najniższe stanowiska podawane z Alp (wg Hegiego) pochodzą z wysokości 1100 m n.p.m., ale przeważnie występuje wyżej — od 1500 do 2400 m, a nawet do 2685 m. Jest to gatunek wapieniolubny, na podłożu o niskim pH nie występuje zupełnie. Wobec znalezienia w Tatrach nowego, nie opisanego dotąd typu kariologicznego, bardzo ważną rzeczą było zdefiniowanie szczegółów budowy cytologicznej tego odmiennego typu. Wg McCullagha kariotyp diploidalnej *P. montana* przedstawia się następująco:

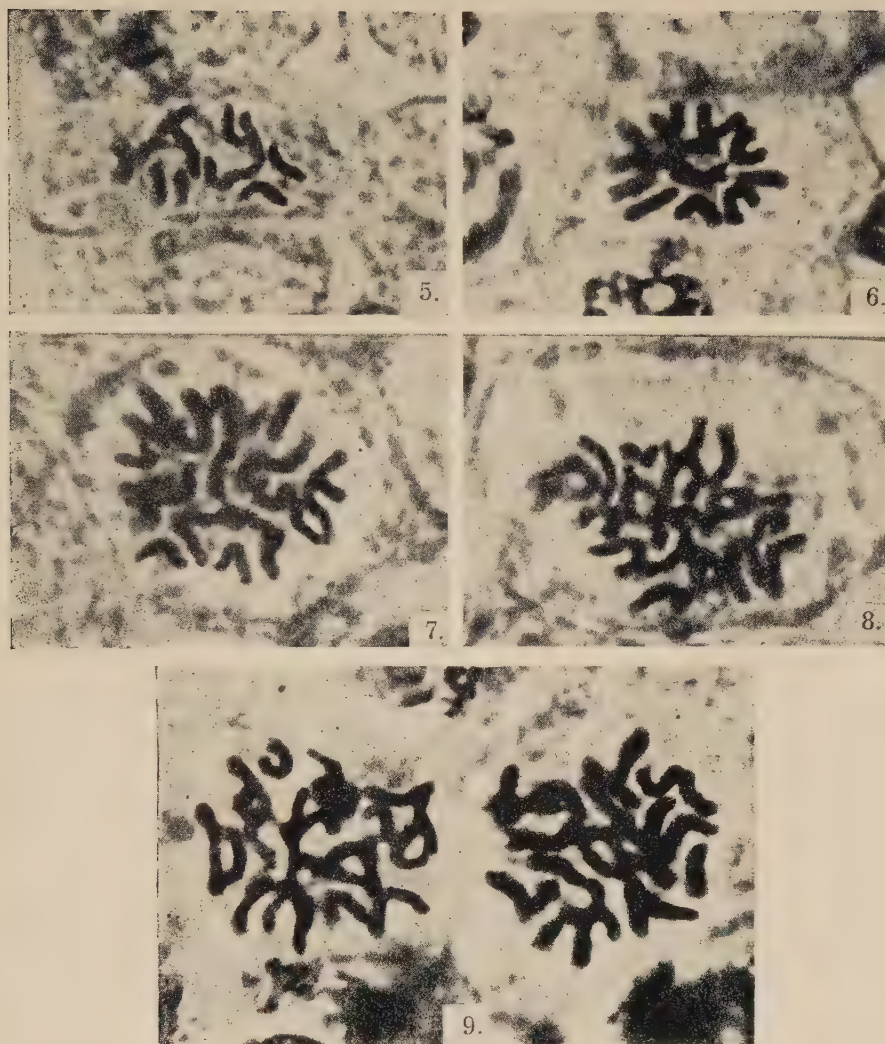
- Para chromosomów z centromerem terminalnym i z trabantami (A^x),
- Para chromosomów z centromerem terminalnym bez trabantów (A),
- Para chromosomów z centromerem subterminalnym (B),
- Para chromosomów z centromerem submedialnym (C),
- Para chromosomów z centromerem medialnym (D),
- Para chromosomów z wtórnym przewężeniem (C^x).

Jest to kariotyp bardzo zróżnicowany, gdyż występują w nim wszystkie typy chromosomów charakterystyczne dla rodzaju *Plantago*. Tetraploidalna *P. montana* powinna posiadać ten kariotyp podwojony. W obrębie mojego materiału zidentyfikowanie wszystkich typów chromosomów w obrębie poszczególnych płytek metafazowych nastręczało pewne trudności, zwłaszcza wobec podwyższonej liczby chromosomów. W analizie szeregu płytek metafazowych specjalną uwagę zwróciłam na chromosomy z przewężeniem wtórnym, które są ważne dla zidentyfikowania kariotypu *P. montana*. Na podstawie moich badań zdołałam stwierdzić, że wszystkie typy chromosomów opisane przez McCullagha dla diploidalnej *P. montana* występują również u badanego tetraploida (fig. 4). Dalszą osobliwością kariologiczną jest występowanie chromosomu dodatkowego u jednej z roślin. Chromosom ten jest mniej więcej o połowę krótszy od pozostałych chromosomów kompleksu i ma nieco mniejszą grubość. Obecność jego dała się stwierdzić u tej rośliny we wszystkich płytkach, które nadawały się do dokładniejszego zanalizowania.

DYSKUSJA

Zróżnicowanie morfologiczne w obrębie gatunku *Plantago media* L. zostało wykryte przez Rahna (1954). Stwierdził on, że oprócz znanych poprzednio tetraploidów ($2n = 24$) szeroko rozprzestrzenionych w Europie

TABLICA I — TABLE I



(J. Rychlewski phot.)

Mikrofotografie somatycznych płytek metafazowych
Microphotos of root-tip metaphases (2500 ×)

5. *Plantago maior* ($2n = 12$). 6. *Plantago lanceolata* ($2n = 12$). 7, 8. *Plantago media* ($2n = 24$). 9. *Plantago montana* ($2n = 25$), dwie płytki z dodatkowym chromosomem (por. fig. 3 na lewo). Two plates with accessory chromosomes (see fig. 3 bottom left).

Zachodniej, na południo-zachodzie Europy występuje na małym obszarze typ diploidalny ($2n = 12$).

Na terenie Polski okazy *P. media* wykazują w naturalnych stanowiskach znaczne różnice morfologiczne. W świetle wyników Ra h n a wysunęło się zagadnienie, jakie podłoże mają te różnice. Wykonana w toku niniejszej pracy analiza okazów należących do 23 populacji obejmowała badania cytologiczne oraz obserwacje morfologiczne, prowadzone w ciągu dwóch sezonów wegetacyjnych: w naturalnych stanowiskach i na polu doświadczalnym. Badania cytologiczne doprowadziły do stwierdzenia, że wszystkie populacje miały jednakową liczbę chromosomów: $2n = 24$. Obserwowane w naturalnych stanowiskach wyraźne różnice wysokości roślin i długości ich kwiatostanów zostały w pewnym stopniu zachowane również w wyrównanych warunkach pola doświadczalnego. Wskutek wyeliminowania zmienności modyfikacyjnej nastąpiło wprawdzie w następnym sezonie wegetacyjnym pewne zwięźlenie skali zmienności, jednakże większość badanych biotypów zachowała swe charakterystyczne cechy pokrojowe (fig. 1). Pozwala to przypuszczać, że różnice pomiędzy nimi mają podłoże genowe. Podobny typ zróżnicowania śródgatunkowego został wykryty przez Turessona (1930) u licznych gatunków o szerokim zasięgu geograficznym. W latach 1941—1947 Clausen, Keck i Hiesey szczegółowo zanalizowali tzw. rasy klimatyczne gatunków z rodzaju *Achillea*, *Potentilla* i innych. Przypuszczalne zróżnicowanie genetyczne występujące w badanym przeze mnie materiale *P. media* daje się powiązać z pewnymi charakterystycznymi pod względem ekologicznym stanowiskami naturalnymi poszczególnych biotypów: najmniejsze formy pochodziły wyłącznie z terenów wapiennych, najbujniejsze zaś rosły na łąkach w stanowiskach częściowo zacienionych.

Jak wykazały poprzednie badania, gatunek *Plantago maior* L. reprezentowany jest na ogół przez diploidy. Badane przeze mnie okazy są również diploidami. Jedynie var. *asiatica* opisana przez Ikeno (1929) jest tetraploidem ($2n = 24$) (cyt. wg Darlingtona i Wylie 1955). W obrębie tego gatunku istnieje pewne zróżnicowanie ekologiczne; w zależności od podłoża występują różne edafotypy (Turrill 1940). O ile można stwierdzić na podstawie dotychczasowych badań, nie wiąże się to ze zróżnicowaniem cytologicznym.

U *Plantago lanceolata* L., która najczęściej występuje jako typ diploidalny, McCullagh wykrył pewne zróżnicowanie poliploidalne. Var. *d'Urvilleana* jest tetraploidem ($2n = 24$). Natomiast pewne okazy pochodzące z Monachium okazały się wysokimi poliploidami o liczbie chromosomów $2n = 96$. Były to jednak rzadkie wyjątki, na ogół zaś gatunek reprezentowany jest przez diploidy, podobnie jak badane przeze mnie okazy.

Plantago montana L a m. opisywana była poprzednio jako gatunek diploidalny o liczbie somatycznej chromosomów 12 (Heitz 1927, McCullagh 1934). Okazy z Tatr zbadane cytologicznie w toku niniejszej pracy są tetraploidami $2n = 24$, a nadto jeden z nich posiada jeden chromosom dodatkowy, somatyczna liczba chromosomów wynosi tu zatem 25. Dla stwierdzenia, czy w Tatrach występuje wyłącznie typ tetraploidalny, czy też da się na tym terenie znaleźć również typ diploidalny, należałoby zbadać okazy z większej ilości stanowisk. Następnym zagadnieniem, jakie się tu wysuwa, jest występowanie chromosomu dodatkowego. Chromosomy dodatkowe były również obserwowane u pewnych innych gatunków *Plantago*, mianowicie u *Plantago serraria* i *Plantago coronopus* (Böcher, Larsen i Rahn 1955). U *Plantago serraria* podobne są one do chromosomów B u żyta (Müntzing 1949) i są heterochromatynowe. W ostatnich latach wykryto też chromosomy dodatkowe u różnych innych gatunków np. *Agrostis rupestris* (Björkman 1951), *Avena versicolor* (Skalińska 1956). U *Plantago serraria* i *Plantago coronopus* uwielokrotnienie kompleksu chromosomów oraz występowanie chromosomów dodatkowych ma bardzo słaby wpływ na morfologię roślin. Po dokładnym zbadaniu większej ilości okazów będzie można stwierdzić, czy podobne zjawiska wywołują zróżnicowanie morfologiczne w obrębie gatunku *Plantago montana*.

STRESZCZENIE

Zróżnicowanie morfologiczne w obrębie gatunku *Plantago media* L. dotyczy długości kwiatostanów, wysokości roślin i wielkości liści. W toku pracy zbadane zostały pod względem cytologicznym okazy z 23 populacji wykazujących znaczne różnice morfologiczne. Wszystkie rośliny okazały się tetraploidami ($2n = 24$), zróżnicowanie morfologiczne zatem nie wiąże się z różnicami cytologicznymi. Typów diploidalnych, które według Rahn a (1954) występują na południo-zachodzie Europy, w materiale polskim nie znaleziono.

Po przesadzeniu roślin w wyrównane warunki pola doświadczalnego większość biotypów zachowała swe charakterystyczne cechy, pomimo że nastąpiło pewne zwięźenie skali zmienności. Pozwala to przypuszczać, że pomiędzy poszczególnymi biotypami istnieją różnice genowe.

Badania cytologiczne nad *Plantago maior* L. i *Plantago lanceolata* L. potwierdziły podawane poprzednio liczby chromosomów dla obu tych diploidalnych gatunków ($2n = 12$).

Natomiast zbadanie pochodzących z Tatr okazów *Plantago montana* L a m. doprowadziło do stwierdzenia, że są to tetraploidy $2n = 24$, a u jednej z roślin występuje jeden chromosom dodatkowy, jej somatyczna liczba chromosomów wynosi zatem 25. Należy podkreślić, że Heitz

(1927) i Mc Cullagh (1934) podali poprzednio dla tego gatunku liczbę chromosomów diploidalną ($2n = 12$).

Praca niniejsza została wykonana w Zakładzie Anatomii i Cytologii Roślin Uniwersytetu Jagiellońskiego. Pani prof. dr. M. Skalińskiej, Kierownikowi Zakładu, pragnę złożyć serdeczne podziękowania za pokierowanie tokiem mojej pracy oraz cenne rady i wskazówki. Dziękuję również wszystkim, którzy pomogli mi zebrać materiały roślinne do moich badań.

SUMMARY

The present paper gives the chromosome number of *Plantago media* L. as well a study of the morphological differentiation occurring within this species. The material originated exclusively from natural habitats in Poland (Table 1).

In 1954 Rahn has reported the occurrence of a karyological differentiation in *P. media* regarded previously as a tetraploid species only. In addition to the widely distributed tetraploid type he found the diploid type occurring in a limited area in south-western Europe. In Poland *P. media* occurs in a variety of habitats and its biotypes show considerable morphological differences. It should be noted that hitherto the Polish material of *P. media* has not been studied cytologically. In view of the results of Rahn it seemed interesting to investigate the causes of the observed morphological diversity. In the course of the present work plants from 23 separate habitats were studied with regard to their chromosome number and morphology. All biotypes proved to be tetraploid ($2n = 24$, Fig. 2 c, d, Fig. 7, 8). The morphological observations concerned the height of the scapes and the length of the inflorescences and of the leaves (Tables 2, 3). They were carried out on flowering plants during two successive years: in natural habitats and after transplanting into the experimental field. In the second year the smallest plants from extreme habitats manifested some increase in the size, on the whole however, the morphological differences between the various biotypes were maintained (Fig. 1). This permits to assume that they are due to a genic differentiation similar to that previously described for a number of species. It should be added that in nature the extreme forms occur in habitats with well marked ecological differences.

In addition to the above study the numbers of chromosomes of three further species (viz.: *P. maior* L., *P. lanceolata* L. and *P. montana* Lam.) have been established on materials from natural habitats in Poland. The chromosome numbers of the two former species ($2n = 12$) agree with those established previously (Fig. 2 a, b, Figs. 5, 6). On the other hand the chromosome number of *P. montana* represented in our material by specimens from two habitats in the Western Tatra (2120 m and 2089 m o.s.l.) is higher than that reported by Heitz (1927) and by McCullagh (1934). According to these authors *P. montana* is a diploid species whereas the plants from the Tatra Mts are tetraploid ($2n = 24$); one of these plants has one accessory chromosome (Fig. 3, 4, 9). In view of this result further cytological studies on this rare species are required.

The present study has been carried out in the Institute of Plant Anatomy and Cytology of the University of Kraków. I desire to express my sincere gratitude to Prof. Dr M. Skalińska, Head of the Institute for guidance as well as for valuable advice and suggestions throughout the course of my work.

LITERATURA

- Björkman S. O., 1951, Chromosome studies in *Agrostis*, *Hereditas* 37: 465—468.
- Böcher T. W., Larsen K., Rahn K., 1953, Experimental and cytological studies on plant species I, *Hereditas* 39: 289—304.
- Böcher T. W., Larsen K., Rahn K., 1955, Experimental and cytological studies on plant species III, *Hereditas* 41: 423—453.
- Clausen J., Keck D. D. and W. M. Hiesey, 1941, Regional differentiation in plant species, *Amer. Nat.* 75: 231—250.
- Clausen J., Keck D. D. and Hiesey W. M., 1947, Heredity of geographically and ecologically isolated races, *Amer. Nat.* 81: 114—133.
- Darlington C. D. a. Wylie A. P., 1955, Chromosome atlas of flowering plants, London.
- Hegi G., *Illustrierte Flora von Mittel-Europa*, IV Band, München.
- Heitz E., 1927, Über multiple und aberrante Chromosomenzahlen. *Abhandlungen des Naturwissenschaftlichen Vereins zu Hamburg*, Band 21: 48—58.
- Hiesey W. M., Clausen J. and Keck D. D., 1942, Relation between climate and intraspecific variation in plants, *Amer. Nat.* 76: 5—22.
- McCullagh D., 1934, Chromosomes and chromosome morphology in *Plantaginaceae* I, *Genetica* 16: 1—44.
- Müntzing A., 1949, Accessory chromosomes in *Secale* and *Poa*, *Hereditas Suppl.*: 402—411.
- Rahn K., 1954, Experimental and cytological studies in *Plantago media*, *Botan. Tidskr.* 51: 300—307.
- Skalińska M., 1951, Chromosome number and accessories in *Avena versicolor* Vill. *Acta Soc. Bot. Pol.* 25: 713—718.
- Sugiura T., 1939, *Cytologia* 10 (cyt. wg Rahn 1954).
- Szafer, Kulczyński, Pawłowski, 1953, *Rośliny Polskie*, Państwowe Wydawnictwo Naukowe.
- Turesson G., 1930, The selective effect of climate upon plant species, *Hereditas* 14: 99—152.
- Turesson G., 1938, Chromosome stability in Linnean species, *Landbrookshögsk. annaler* 5: 405—414.
- Turrill W. B., 1940, Experimental and synthetic plant taxonomy. *The New Systematics* — Oxford Univ. Press. 54—58.

Chloroplasty w skórcie liści roślin dwuliściennych

*Sur l'existence des chloroplastes dans l'épiderme des feuilles
des Dicotylédones*

E. MIKULSKA

WSTĘP

Nie jest dotychczas całkowicie wyjaśnione, jaki typ plastydów znajduje się w skórcie liści roślin dwuliściennych lądowych. Utał się na ogół pogląd, który znalazł wyraz w literaturze podręcznikowej (Aleksandrow 1954, Eames i Mc Daniels 1947, Guttenberg 1952, Haberlandt 1909, Razdorski 1949, Strasburger 1923), że chloroplasty występują w skórcie liści paprotników, roślin wodnych i roślin stanowisk bardzo cienistych; uważa się natomiast, że skórka roślin dwuliściennych lądowych zawiera zasadniczo leukoplasty, a tylko u niektórych roślin są chloroplasty z niewielką ilością chlorofilu i z nieznaczną ilością skrobi (Aleksandrow 1954, Haberlandt 1909, Razdorski 1949, Strasburger 1923). Jedynie Esau (1953) podaje — bez dalszych komentarzy — że w skórcie liści roślin lądowych naczyniowych znajdują się „no-well-differentiated chloroplasts“.

W dawniejszej literaturze istnieje szereg prac (Stöhr 1879, Schimper 1885 oraz — według Linsbauera 1930 — De Bary 1877, Solereder 1908), które zajmują się chloroplastami w skórcie górnej i dolnej liści. Stöhr (1879) dał poważny i obszerny materiał dowodzący występowania chloroplastów w skórcie liści roślin dwuliściennych lądowych; w tej samej jednak pracy wysunął szereg naiwnych poglądów dotyczących powstawania chloroplastów i skrobi; mogło to stać się przyczyną, że praca ta nie jest uwzględniana w literaturze, wskutek czego zapomniane zostały cenne obserwacje tego autora.

Ostatnio w dostępnej mi literaturze ukazały się dwie prace zajmujące się plastydami w skórcie. Alscher i Lawin (1953) w skórcie *Spinacia oleracea* L. znaleźli fluoryzujące „pigmented granules” jasnozielone, śred-

nicy $1,1\mu$ i zielonożółte o średnicy $1,2\mu$. Autorzy traktują te utwory jako niedojrzałe lub degenerujące chloroplasty. Nie powołując się na dawniejszą literaturę, uważają swoje obserwacje za nowy aspekt sprawy występowania chloroplastów w skórcie. Weber, Thaler i Kenda (1955) stwierdzili w dolnej skórcie *Cleome* obecność chloroplastów, które wykazują słabą fluorescencję oraz opóźnioną reakcję z AgNO_3 . Zdaniem autorów, chloroplasty te nie są wprawdzie zdolne do tworzenia skrobi drogą fotosyntezy, natomiast kondensują ją energicznie z cukrów dopływających; dla tego rodzaju chloroplastów autorzy proponują nazwę „active Intermediärplastiden“.

Możliwość wykrycia chlorofilu w mikroskopie fluorescencyjnym, dzięki jego własnej fluorescencji, a także na podstawie reakcji z AgNO_3 (metody te dotąd były tylko sporadycznie stosowane w badaniach plastydów znajdujących się w skórcie liści), pozwala obecnie na bardziej obiektywną ocenę różnych kategorii plastydów.

MATERIAL I METODY

Zbadano skórkę liści 187 gatunków roślin dwuliściennych należących do 87 rodzin. Rośliny jednoliścienne zostaną omówione osobno. Z nagolazkowych uwzględniono *Ginkgo biloba*, *Thuja* i *Podocarpus* — te dwa ostatnie ze względu na kserofityczną budowę liści. Były to rośliny w większości wypadków dziko rosnące w Polsce, zebrane ze stanowisk naturalnych. Wśród nich znalazł się szereg kserofitów oraz rośliny występujące na nasłonecznionych wydmach. Okazy flory obcej uzyskane były z Ogrodu Botanicznego Uniwersytetu Warszawskiego. Badaniami zostały objęte rośliny zielne jednoroczne i wieloletnie, w obrębie tych ostatnich zarówno drzewa i krzewinki zrzucające liście na zimę, jak i zimozielone.

Ze względu na duże trudności, jakie związane są ze zdejmowaniem skórki z górnej strony liści, badania jej ograniczono do nielicznych roślin, z reguły zaś przeprowadzano obserwacje na skórcie dolnej. Brano zawsze pod uwagę komórki żywe, wykazujące ruch cytoplazmy. Do dowodów używane były wyłącznie liście dojrzałe, będące w pełni rozwoju.

Cbecność chlorofilu w plastydach stwierdzano stale w mikroskopie fluorescencyjnym. Ponadto stosowano typową dla chloroplastów reakcję Molischa (2% roztwór AgNO_3) i odczynnik Girouda (10 cz. AgNO_3 , 1 cz. kwasu octowego lodow., 100 cz. wody, $\text{pH} = 4$). Dla wykrycia skrobi w plastydach stosowano J w KJ, dla wykrycia kryształów białkowych stosowano reakcję z bromofenolem wg Mazia, Brewera i Alferta (1953).

Zdolność plastydów do tworzenia skrobi na świetle, a także do kondensowania jej z cukrów dopływających, badano na materiale pozbawionym skrobi przez przetrzymywanie roślin w ciemności. Zaciemnianie przeprowadzano w dwojaki sposób, a mianowicie: ulistnione łodygi umieszczano w naczyniu z wodą i wstawiano do ciemnego pomieszczenia, bądź też całe rośliny rosnące w ogrodzie okrywano nie przepuszczającymi światła osłonami. Mimo iż rośliny zielne jednoroczne nie wykazywały zwykle skrobi w plastydach skórki i mezofilu już po upływie 24 godzin przebywania w ciemności, dla uzyskania zupełnie pewnych rezultatów zaciemniano je z reguły przez 48 godzin. Proces zanikania skrobi w liściach roślin zimozielonych (*Vinca minor*, *Buxus sempervirens*, *Hedera helix*) trwał znacznie dłużej, bo od 72 do 96 godzin, a niekiedy nawet i dłużej. Osłanianie roślin rosnących w ogrodzie dawało lepsze i szybsze rezultaty niż zaciemnianie odciętych, ulistnionych pędów. Z liści pozbawionych skrobi zdejmowano dolną skórkę, po czym jedne kawałki skórki wielkości 5—10 mm² umieszczano w probówkach z wodą na słońcu, inne — o tych samych wymiarach — w probówkach z 2% roztworem glukozy, w ciemności. Aby stwierdzić ewentualne różnice w szybkości tworzenia się skrobi w plastydach skórki znajdującej się na liściu i w plastydach skórki izolowanej, postępowano podobnie, z tym że w wodzie na świetle lub w roztworze cukru w ciemności umieszczano teraz fragmenty ulistnionych łodyg uprzednio pozbawionych skrobi i skórkę zdjętą z ich liści. Co pół godziny lub częściej sprawdzano przy pomocy JwKJ pojawianie się skrobi w plastydach skórki i mezofilu.

Wypada zaznaczyć, że rośliny zimozielone (*Buxus sempervirens*, *Vinca minor*, *Hedera helix*) nie nadają się do doświadczeń nad aktywnością fotosyntetyczną plastydów skórki. Zanikanie skrobi jest bardzo powolne, niekiedy trwa cały tydzień. Plastydy po długim zaciemnieniu stają się tak delikatne, że zdejmowanie skórki powoduje ich uszkodzenie (rozpadają się). Zaledwie jeden raz udało się w tych warunkach otrzymać skórkę z komórkami żywymi i z nieuszkodzonymi plastydami.

Posługiwano się mikroskopem fluoroscencyjnym firmy Zeiss oraz mikroskopem „Lumipan“ Zeissa. Mikrofotografie wykonano przy pomocy urządzenia „Mikrophot“ firmy Rathenow.

BADANIA WŁASNE

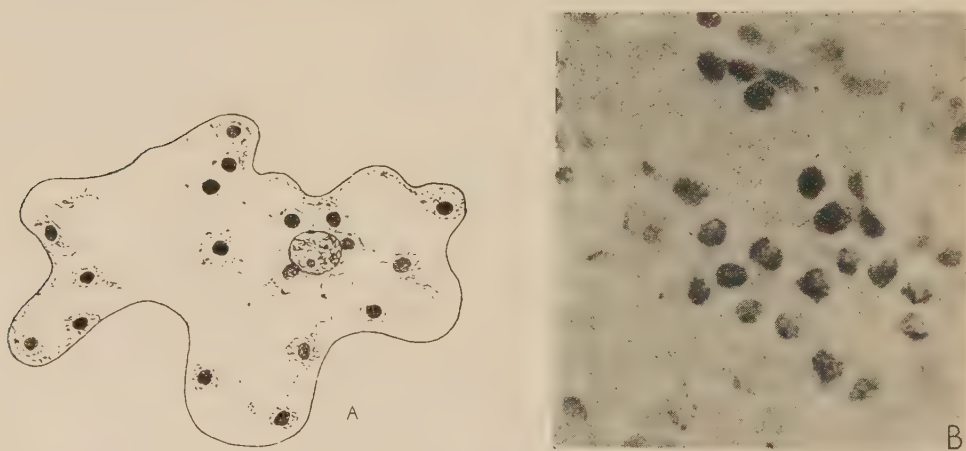
Szczegółowe rezultaty obserwacji i doświadczeń nad plastydami skórki liści przedstawione są na załączonej tabeli.

Wielkość plastydów w dolnej skórcie w omawianym materiale wahała się w dość szerokich granicach — a mianowicie od 0,9 μ do 6,33 μ . Najczęściej zdarzały się plastydy średniej wielkości: od 2,1 μ do 4,5 μ . Wy-

stępowały one u 86 gatunków badanych roślin (46,0%). Duże plastydy (od 5,4 do 6,3 μ) znaleziono u 53 gatunków (28,4%). Plastydy małe (0,9 do 1,8 μ) występowały u 48 gatunków (25,6%). Wielkość plastydów nie była cechą charakterystyczną danej rodziny, chociaż u niektórych rodzin, jak np. u *Compositae*, spotykano tylko duże plastydy.

Podobnie różnorodna była ilość plastydów znajdujących się w komórkach skórki. Najczęściej liczba plastydów wahała się od 8 do 20. Najmniejsza obserwowana ilość plastydów w komórkach wynosiła 2—5 (stwierdzono to szczególnie u roślin drzewiastych, np. u *Morus alba*), natomiast zaś plastydów w komórce znaleziono u 2 gatunków *Linum* (*L. perenne* L. i *L. extraaxillare* L.), gdzie maksymalna ich liczba wynosiła 53. W obrębie tej samej rodziny ilość plastydów wahała się zwykle w tych samych granicach. Nie można było ustalić żadnej zależności pomiędzy ilością plastydów w komórce a ich wielkością.

Intensywność zabarwienia plastydów była niejednakowa. W większości wypadków plastydy były barwy wyraźnie zielonej. Zupełnie wyjątkowo zdarzały się plastydy bardzo jasnozielone z odcieniem niebieskawym: z reguły były to plastydy bardzo drobne. W wypadkach, kiedy



Ryc. 1. *Viola tricolor*. Chloroplasty dolnej skórki z homogennym osadem srebra

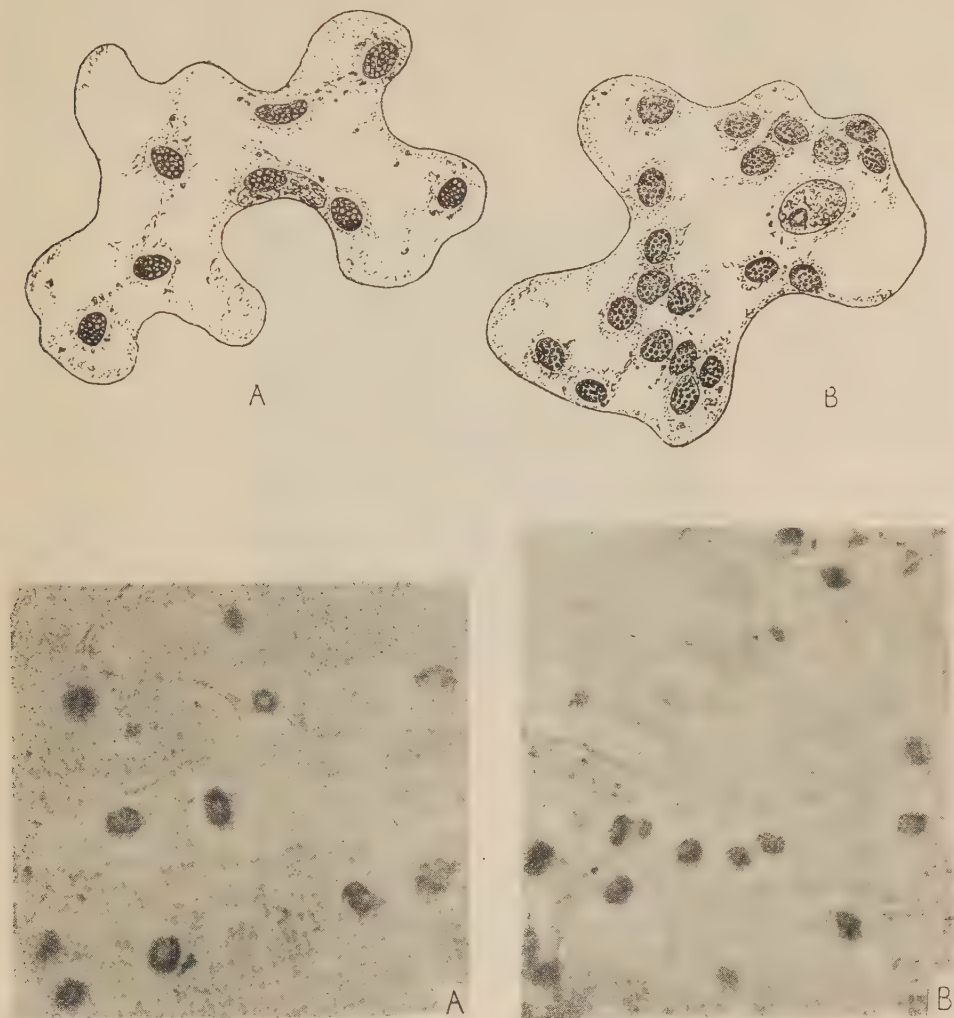
Le dépôt homogène d'argent au niveau des chloroplastes d'épiderme inférieur

w plastydach były kryształy białka lub skrobia, prawie całkowicie przesłaniające stromę, sprawę występowania w nich chlorofilu rozstrzygał dopiero mikroskop fluorescencyjny.

Badania w mikroskopie flubrescencyjnym dowiodły, że plastydy skórki przeważającej ilości badanych roślin zawierały chlorofil. Zaledwie 2,6%

gatunków nie wykazywało fluorescencji. Była ona wyraźna nawet w wypadku plastydów obficie wypełnionych skrobią oraz w plastydach bardzo drobnych, to znaczy w tych wypadkach, kiedy barwa zielona plastydów była słabo widoczna, a nawet niewidoczna w mikroskopie zwykłym.

Reakcja z AgNO_3 była pozytywna dla 167 gatunków (89,2%). Pośród roślin posiadających plastidy fluoryzujące zaledwie 15 gatunków (8,1%)

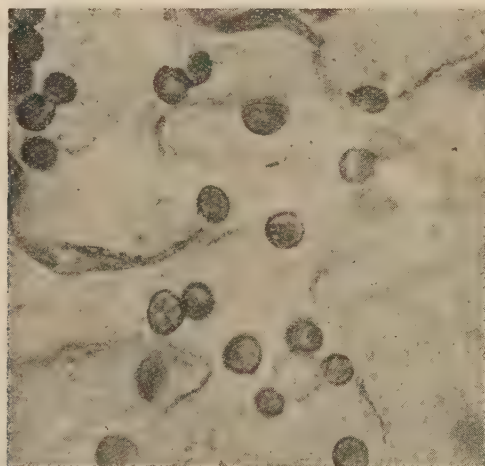


Ryc. 2. A — chloroplasty dolnej skórki *Lactuca sativa* z widocznym osadem srebra w stromie, B — chloroplasty *Gentiana asclepiadea* z osadem srebra w granach

Le dépôt d'argent dans les chloroplastes d'épiderme inférieur A — dans le stroma (*Lactuca sativa*); B — dans les granas (*Gentiana asclepiadea*)

nie redukowało AgNO_3 . Tam gdzie plastydy nie wykazywały fluorescencji — reakcja z AgNO_3 wypadła ujemnie.

Co się tyczy szybkości osadzania się srebra w plastydach komórek skórki, to w 61,0% zbadanych gatunków następowała ona jednocześnie z redukcją w chloroplastach komórek szparkowych, w 28,5% roślin zachodziła wolniej niż w tych ostatnich, zaś w 10,5% — szybciej. Tam gdzie reakcja przebiegała szybko, lub gdzie plastydy były drobne o granach niewidocznych, srebro osadzało się jednolicie (ryc. 1). W dużych plastydach srebro osadzało się bądź w miejscach odpowiadających granom, bądź też grana dawały reakcję ujemną, a jedynie stroma wykazywała czarne zabarwienie (ryc. 2). U nielicznych roślin obserwowano osady srebra w formie ciemnych pierścieni na obwodzie plastydów (ryc. 3). Bardzo



Ryc. 3. *Bellis perennis*. Chloroplasty dolnej skórki z osadem srebra w formie pierścienia na obwodzie plastydów

Les chloroplastes dans l'épiderme inférieure d'une feuille avec le dépôt d'argent en forme d'anneau à la périphérie des plastés

rzadko srebro strącało się w postaci tak grubych ziaren, że o umiejscowieniu osadu trudno było zadecydować.

Ogromna większość badanych roślin wytwarzała skrobię w plastydach skórki, przy czym ilość, wielkość i sposób ułożenia ziaren skrobi były różne. U roślin wieloletnich zimozielonych skrobia występowała w postaci bardzo dużych ziaren wypełniających plastyd całkowicie (ryc. 4). Plastydy takie były bardzo nietrwałe i przy najlżejszym nacisku, spowodowanym np. przez nakrycie preparatu szkiełkiem przykrywkowym, rozpadały się uwalniając ziarna skrobi. Ziarna te pokryte były delikatną zieloną otoczką plastydalną, wykazującą czerwoną fluorescencję. Otoczkę wokół ziaren

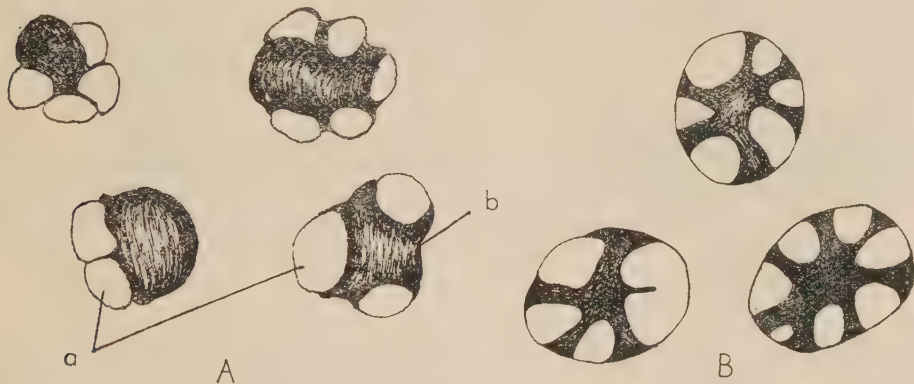
skrobi pochodzącą z rozpadających się plastydów opisał Weier (1938), a także znalazłam ją już wcześniej w mezofilu *Buxus sempervirens* (1957). Występowanie wspomnianej otoczki zdaje się wskazywać na trwałe i ścisłe zespolenie plastydu z ziarnem skrobi.

Można było stwierdzić trojakiego rodzaju umiejscowienie skrobi w plastydzie. Duże ziarna skrobi mogły się tworzyć w peryferycznych

Ryc. 4. *Vinca minor*. Chloroplasty dolnej skórki liścia wypełnione ziarnami skrobi
Les chloroplastes de l'épiderme remplis de grains d'amidon



częściach plastydu; rozrastając się rozrywały one brzeg stromy, wskutek czego zewnętrzne części ziaren skrobi wystawały poza obręb plastydu, nie wykazując w tych miejscach śladu otoczki pochodzenia plastydowego; właściwa masa plastydu skupiona była w jego środkowej części. Rycina 5 (na przykładzie *Helleborus niger* i *Mercurialis perennis*) przedstawia ten

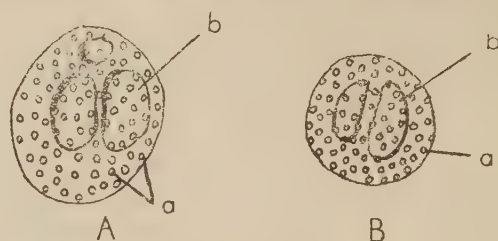


Ryc. 5. A — *Helleborus niger*, B — *Mercurialis perennis*. Chloroplasty dolnej skórki: a — ziarna skrobi; b — stroma z osadem srebra

Les chloroplastes dans l'épiderme inférieure: a — grains d'amidon; b — le dépôt d'argent dans le stroma

sposób ułożenia skrobi w plastydzie. Inne umiejscowienie skrobi pokazane jest na ryc. 6. Występowały tutaj duże, ale nieliczne ziarna skrobi. Tworzyły się one inaczej niż u poprzedniej grupy roślin, tzn. głęboko wewnątrz plastydu i nie dochodziły do jego obwodu. Inne jeszcze plastydy posiadały bardzo liczne i bardzo drobne ziarna skrobi. W plasty-

dach tych oglądanych z góry ziarna skrobi były ułożone w sposób przypominający grana, do których były również podobne wielkością, jednak kształt ich — w przeciwieństwie do gran — był bardziej owalny. W pla-



Ryc. 6. A. *Galinsoga parviflora*, B — *Bellis perennis*. Chloroplasty dolnej skórki: widoczne grana (a) i ziarna skrobi (b) tkwiące głęboko w stromie

Les chloroplastes de l'épiderme inférieur;
a — granas, b — les grains d'amidon enfoncés profondément dans le stroma

stydach oglądanych z profilu ziarna skrobi ułożone były w dosyć regularne szeregi (ryc. 7).

Możliwość obserwacji gran jest uwarunkowana przede wszystkim ich wielkością, nie bez wpływu jest jednak ilość a także układ ziaren skrobi. Stąd więc grana mogą być niewidoczne, jakkolwiek w plastydzie wystę-



Ryc. 7. *Bryonia alba*. Chloroplasty dolnej skórki z drobnymi i licznymi ziarnami skrobi (a)

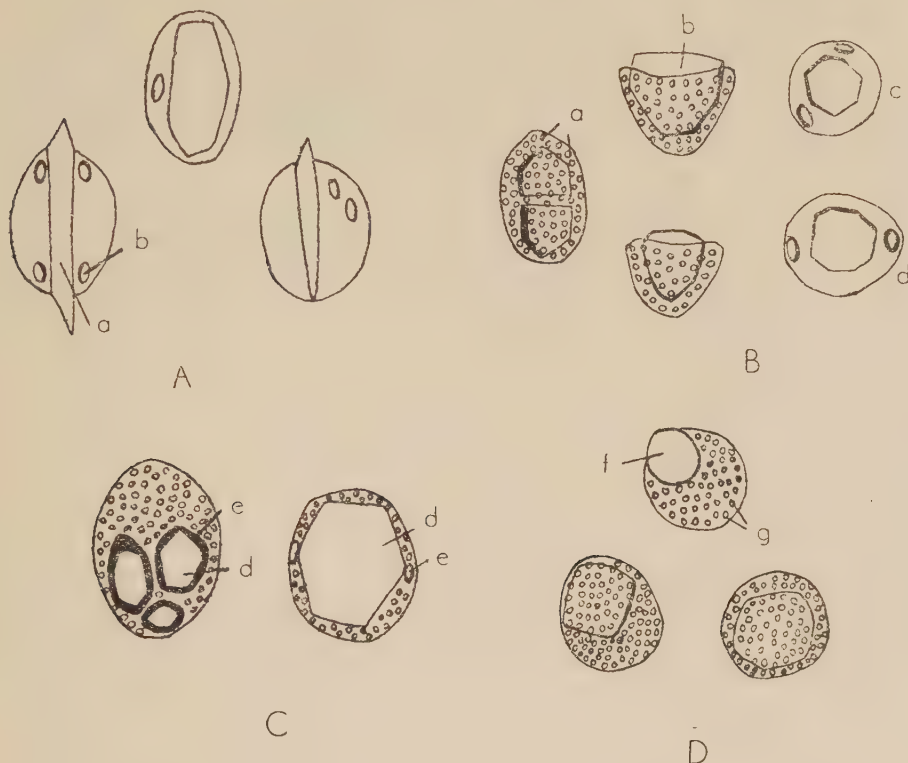
Les chloroplastes de l'épiderme inférieur contenant plusieurs grains d'amidon (a) de petite taille

pują. Zawsze po usunięciu skrobi z plastydów (przez zaciemnienie rośliny) udawało się stwierdzić w odsłoniętej w ten sposób stromie obecność gran. Z reguły grana były niewidoczne lub bardzo niewyraźne w małych plastydach ($0,9-1,2\mu$). Niekiedy grana były także maskowane przez występujące w stromie plastydu kryształki białkowe, np. w plastydach skórki *Morus alba* lub *Symphytum officinale*.

W plastydach skórki niektórych roślin spotykano kryształki białka. Występowały one bądź pojedynczo — wtedy były stosunkowo duże — bądź też jako grupa mniejszych kryształków (ryc. 8). W niektórych plastydach skórki *Anchusa officinalis* kryształki białkowe otoczone były warstwą skrobi, wyraźnie barwiącą się na fioletowo w jodzie w jodku po-

tasu, w innych zaś plastydach u tej samej rośliny pojedyncze kryształki białkowe tkwiły bezpośrednio w stromie, a obok nich znajdowały się drobne ziarna skrobi (ryc. 8). Ten ostatni obraz zdarzał się także u innych roślin, których plastidy zawierały kryształki białkowe.

Zwykle ten sam typ plastydów właściwy był wszystkim badanym przedstawicielom danej rodziny. Np. u *Compositae* (zbadanych 15 gatun-



Ryc. 8. A — *Symphytum officinale*; B — *Ranunculus repens*; C — *Anchusa officinalis*; D — *Asarum europaeum*

A — chloroplasty dolnej skórki z kryształami białkowymi (a) i ziarnami skrobi (b) po działaniu J w KJ; B — chloroplasty z widocznymi granami (a) i kryształami białka (b) oraz chloroplasty (c, d) poddane działaniu J w KJ, widoczne ziarna skrobi obok kryształów białkowych; C — chloroplasty z kryształami białkowymi, niektóre kryształki białka (d) otoczone warstwą skrobi (e); D — chloroplasty z widocznymi granami (g) i kryształami białka (f)

A — les chloroplastes de l'épiderme inférieure renfermant des cristalloïdes protéiques (a) et des grains d'amidon (b) après l'action du IKI; B — les chloroplastes contenant des cristalloïdes protéiques (b) avec des granas bien visibles (a) et les chloroplastes traités par le IKI (c, d), on voit des grains d'amidon à côté des cristalloïdes protéiques; C — les chloroplastes renfermant les cristalloïdes protéiques (d), certains d'entre eux sont entourés d'une couche d'amidon (e); D — les chloroplastes avec des granas bien visibles (g) et avec des cristalloïdes protéiques

Lp.	Gatunek — Espèce	Rodzina Famille	Charakterystyka plastydów dolnej skórki liści Les plastides de l'épiderme inférieur des feuilles										Kryształy białkowe Cristalloïdes protéiques	Uwagi
			Ilość	Wielkość	Barwa	Coulour ¹⁾	Fluorescencja ²⁾	Redukcja AgNO ₃	Réduction du AgNO ₃	Grana	Ziarna skrobi Grains d'amidon			
1	<i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertn.	<i>Betulaceae</i>	5—8	małe	++	++	+	+	H	prawie niewidoczne	—	kryształy białkowe	Zgodne z obserwacjami Stöhra	
2	<i>Carpinus betulus</i> L.	"	8—13	średnie	++	++	+	—	—	widoczne	kilka małych ziaren			
3	<i>Corylus avellana</i> L.	"	4—8	małe	++	++	+	+	H	niewidoczne	brak			
4	<i>Myrica cerifera</i>	<i>Myricaceae</i>	13—16	małe	++	++	+	+	H	niewidoczne	brak			
5	<i>Populus nigra</i> L.	<i>Salicaceae</i>	6—8	małe	++	++	+	+	H	niewidoczne	brak			
6	<i>Morus alba</i> L.	<i>Moraceae</i>	2—5	duże	++	++	+	+	H	niewidoczne	brak			
7	<i>Cannabis sativa</i> L.	<i>Cannabaceae</i>	6—8	średnie	++	++	+	+	H	niewidoczne	liczne duże ziarna	kryształy białkowe	Zgodne z obserwacjami Stöhra	
8	<i>Urtica dioica</i> L.	<i>Urticaceae</i>	4—8	duże	++	++	+	+	H	widoczne	liczne drobne ziarna			
9	<i>Rumex acetosa</i> L.	<i>Polygonaceae</i>	12—16	małe	++	++	+	—	—	widoczne	brak			
10	<i>Rumex acetosella</i> L.	"	13—18	średnie	++	++	+	—	—	b. słabo widoczne	brak			
11	<i>Rumex alpinus</i> L.	"	18—28	małe	++	++	+	+	H	widoczne	brak			
12	<i>Polygonum aviculare</i> L.	"	8—13	średnie	++	++	+	+	H	widoczne	b. nieliczne małe ziarna			
13	<i>Chenopodium album</i> L.	<i>Chenopodiaceae</i>	8—12	średnie	++	++	+	+	H	widoczne	nieliczne duże ziarna	"		
14	<i>Beta vulgaris</i> L.	"	8—13	średnie	++	++	+	+	H	widoczne	brak			

15	<i>Spinacia oleracea</i> L.	"	6—10	średnie	+	+	+ H	widoczne słabo	brak	
16	<i>Amaranthus caudatus</i> L.	Amarantaceae	7—14	średnie	+	+	+ H	niewidoczne	b. liczne duże ziarna	
17	<i>Peireskia aculeata</i> Mill.	Cactaceae	8—12	średnie	++	+	+ + H	widoczne słabo	brak	kryształy białkowe
18	<i>Epiphyllum truncatum</i> Haw.	"	8—12	małe	+	+	+ H	widoczne słabo	brak	
19	<i>Portulaca oleracea</i> L.	Portulacaceae	20—25	średnie	++	+	+ + H	widoczne	kilka dużych	
20	<i>Saponaria officinalis</i> L.	Caryophyllaceae	17—20	duże	+	+	+ + G	b. słabo widoczne	wielicne drobne	
21	<i>Gypsophila paniculata</i> Fisch.	"	20—26	b. małe	++	+	+ + H	niewidoczne	nie liczne drobne	
22	<i>Agrostemma githago</i> L.	"	8—23	średnie	++	+	+ + H	widoczne	liczne drobne ziarna	
23	<i>Mercurialis perennis</i> L.	Euphorbiaceae	8—12	duże	++	+	+ + + H	widoczne	liczne duże ziarna	
24	<i>Euphorbia cyparissias</i> L.	"	8—14	b. małe	++	+	+ H	niewidoczne	b. nie liczne małe ziarna	
25	<i>Euphorbia peplus</i> L.	"	6—10	średnie	++	+	+ H	widoczne wyraźnie	b. nie liczne małe ziarna	
26	<i>Buxus sempervirens</i> L.	Buxaceae	12—16	małe	+	+	+ + H	niewidoczne	liczne duże ziarna	
27	<i>Platanus acerifolia</i> Willd.	Platanaceae	4—8	małe	++	+	+ + H	niewidoczne	b. nie liczne małe ziarna	
28	<i>Magnolia</i> sp.	Magnoliaceae	6—8	średnie	++	+	+ H	niewidoczne	kilka ziaren	kryształy białkowe
29	<i>Asarum europaeum</i> L.	Aristolochiaceae	12—16	duże	++	+	+ G	widoczne wyraźnie	mało lub brak	kryształy białkowe

Zgodne z obserwacjami Stöhr

Zgodne z obserwacjami Metznera P.

Lp.	Gatunek — Espèce	Rodzina Famille	Charakterystyka plastydów dolnej skórki liści Les plastides de l'épiderme inférieur des feuilles										Kryształy białkowe Cristalloïdes protéiques	Uwagi
			Ilość Nombre	Wielkość Dimension	Barwa Couleur ¹⁾	Fluorescencja ²⁾	Redukcja AgNO ₃	Redukcja du AgNO ₃	Grana	Ziarna skrobi Grains d'amidon				
30	<i>Aristolochia sipho</i> L.	Aristolochiaceae	4—8	duże	++	+	+	+	G	niewidoczne	liczne ziarna		Zgodne z obser- wacjami Stöhra	
31	<i>Berberis vulgaris</i> L.	Berberidaceae	6—13	małe	++	+	—	—	—	niewidoczne b. małe i b. nieliczne ziarna				
32	<i>Delphinium Ajacis</i> L.	Ranunculaceae	23—31	duże	++	+	+	+	H	widoczne	brak	kryształy białkowe	Niezgodne z obserwacjami Stöhra	
33	<i>Paeonia officinalis</i> L.	"	9—15	małe	—	—	—	—	—	niewidoczne	2—3 duże ziarna			
34	<i>Caltha palustris</i> L.	"	10—14	średnie	++	+	+	+	H	widoczne	mało lub brak			
35	<i>Trollius europaeus</i> L.	"	12—20	średnie	—	—	—	—	—	niewidoczne	duże ziarna w części ob- wodowej			
36	<i>Helleborus niger</i> L.	"	8—12	duże	+	+	+	+	H	niewidoczne	liczne duże ziarna		duże kryształy białkowe kryształy białkowe	
37	<i>Helleborus corsicus</i> L.	"	12—18	b. duże	—	—	—	—	—	niewidoczne	brak			
38	<i>Aquilegia vulgaris</i> L.	"	10—14	średnie	+	+	+	+	H	niewidoczne	brak			
39	<i>Aconitum napellus</i> L.	"	12—18	średnie	++	+	—	—	—	widoczne	brak			
40	<i>Clematis vitalba</i> L.	"	7—16	duże	++	+	+	+	S	widoczne wyraźnie	nieliczne ziarna			

41	<i>Anemone nana</i> L.	"	10—13	średnie	++	+	++H	niewidoczne	b. mało liczne ziarna	
42	<i>Ranunculus repens</i> L.	"	8—17	średnie	++	+	+H	widoczne	wielkich plastach 1—2 ziaren	kryształy białkowe
43	<i>Ranunculus lingua</i> L.	"	25—36	małe	++	+	-H	widoczne wyraźnie	b. mało	
44	<i>Isatis tinctoria</i> L.	Cruciferae	15—20	b. mało	+	+	+H	widoczne słabo	brak	
45	<i>Hesperis matronalis</i> L.	"	14—18	duże	++	+	+ - S	widoczne	b. mało	
46	<i>Armoracia lapathifolia</i> Gibb.	"	6—14	małe	+	+	+ - H	widoczne b. słabo	nieliczne małe ziarna	
47	<i>Rorippa silvestris</i> (L.) Bess.	"	6—14	średnie	++	+	+ + H	widoczne słabo	liczne drob- ne ziarna	
48	<i>Berteroa incana</i> (L.) DC	"	7—16	średnie	++	+	+ + H	widoczne słabo	liczne drob- ne ziarna	
49	<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Med.	"	8—14	małe	++	+	+ + H	widoczne	brak	
50	<i>Reseda lutea</i> L.	Resedaceae	24—33	małe	+	+	+ + osad ziarnisty	niewidoczne	liczne drob- ne ziarna	
51	<i>Helianthemum canum</i> (L.) Baumg.	Cistaceae	10—13	średnie	++	+	++H	niewidoczne 2—4 małych ziaren		
52	<i>Helianthemum alpestre</i> (Jacq.) DC	"	10—13	średnie	++	+	+ + H	niewidoczne 2—4 małych ziaren		
53	<i>Drosera rotundifolia</i> L.	Droseraceae	22—34	duże	++	+	+ + - H	widoczne dobrze	1—5 b. du- żych ziaren	
54	<i>Viola silvestris</i> Rschb.	Violaceae	10—18	średnie	++	+	+ + H	widoczne	brak	

Zgodne z obser-
wacjami Stöhra

Zgodne z obser-
wacjami Stöhra

Lp.	Gatunek — Espèce	Rodzina Famille	Charakterystyka plastydów dolnej skórki liści Les plastides de l'épiderme inférieur des feuilles							Kryształy białkowe Cristalloïdes protéiques	Uwagi
			Ilość Nombre	Wielkość Dimension	Barwa Couleur ¹⁾	Fluorescencja ²⁾ Fluorescence ²⁾	Redukcja AgNO ₃ Réduction du AgNO ₃	Grana Granas	Ziarna skrobi Grains d'amidon		
55	<i>Viola odorata</i> L.	Violaceae	9—15	średnie	+++	+	+ H	widoczne	kilka drob- nych ziaren		Zgodne z obser- wacjami Stöhra
56	<i>Viola tricolor</i> Wittr. L.	"	16—22	b. małe	+	+	+ H	widoczne słabo	brak		Zgodne z obser- wacjami Stöhra
57	<i>Viola rupestris</i> Schm.	"	10—16	średnie	++	+	+ H	widoczne	brak		Zgodne z obser- wacjami Stöhra
58	<i>Hypericum perforatum</i> L.	Guttiferae	8—12	średnie	++	+	+ H	widoczne	brak		Zgodne z obser- wacjami Stöhra
59	<i>Ribes vulgare</i> Lam.	Saxifragaceae	7—11	średnie	++	+	+ H	widoczne słabo	b. mało		Zgodne z obser- wacjami Stöhra
60	<i>Parnassia palustris</i> L.	"	10—13	duże	++	+	+ S	widoczne	b. mało		
61	<i>Philadelphus coronarius</i> Auct.	"	8—10	duże	+++	+	—	widoczne dobrze	nieliczne drobne ziar- na		
62	<i>Bergenia bifolia</i> Moench.	"	13—16	małe	++	+	+ + H	widoczne	brak		
63	<i>Sanguisorba officinalis</i> L.	Rosaceae	8—12	średnie	++	+	+ + H	niewidoczne	liczne ziar- na		
64	<i>Geum urbanum</i> L.	"	8—12	średnie	++	+	+ H	niewidoczne	liczne ziar- na		
65	<i>Agrimonia eupatoria</i> L.	"	9—19	średnie	++	+	+ H	niewidoczne	b. mało		Zgodne z obser- wacjami Stöhra
66	<i>Sempervivum soboliferum</i> Sims.	Crassulaceae	24—26	b. małe	+	+	+ H	niewidoczne	brak		
67	<i>Sedum maximum</i> Sut.	"	20—26	b. małe	+	+	+ H	niewidoczne	brak		
68	<i>Bryophyllum tubiflorum</i>	"	18—24	małe	+	+	+ H	w. wyraźnie	1—4 ziaren		

69	<i>Ononis spinosa</i> L.	Papilionaceae	8—12	średnie	+	+	+ + H	niewidoczne b. mało
70	<i>Ononis repens</i> L.	"	8—12	średnie	+	+	+ + H	niewidoczne liczne duże ziarna
71	<i>Genista tinctoria</i> L.	"	8—18	małe	+	+	+ + H	niewidoczne liczne małe ziarna
72	<i>Medicago lupulina</i> L.	"	20—22	małe	+	+	+ + S	widoczne małe nieliczne ziarna
73	<i>Lathyrus montanus</i> Bernh.	"	18—22	b. małe	+	+	+ + osad srebra ziarnisty	niewidoczne małe b. nieliczne ziarna
74	<i>Lathyrus odoratus</i> L.	"	8—16	średnie	+	+	+ + H	niewidoczne liczne ziarna
75	<i>Astragalus arenarius</i> L.	"	8—12	średnie	+	+	+ + H	niewidoczne b. mało
76	<i>Trifolium montanum</i> L.	"	8—16	duże	+	+	+ + + S	niewidoczne liczne duże ziarna
77	<i>Trifolium incarnatum</i> L.	"	8—12	duże	+	+	+ + G	widoczne liczne duże ziarna
78	<i>Lupinus polyphyllus</i> L.	"	8—18	średnie	+	+	+ H	widoczne b. mało
79	<i>Vicia faba</i> L.	"	8—16	średnie	+	+	+ + H	widoczne nieliczne ziarna
80	<i>Daphne mezereum</i> L.	Thymeleaceae	20—22	średnie	+	+	+ + H	widoczne nieliczne ziarna
81	<i>Eleagnus multiflora</i>	Eleagnaceae	4—6	średnie	+	+	+ G	widoczne brak
82	<i>Lythrum salicaria</i> L.	Lythraceae	4—8	małe	+	+	+ + H	widoczne brak
83	<i>Epilobium hirsutum</i> L.	Oenotheraceae	8—12	średnie	+	+	+ + H	niewidoczne nieliczne b. małe ziarna
84	<i>Oenothera biennis</i> L.	"	10—12	średnie	+	+	+ + H	widoczne brak
85	<i>Circea luteoliana</i> L.	"	6—10	średnie	+	+	+ + H	niewidoczne liczne ziarna
86	<i>Althea officinalis</i> L.	Malvaceae	8—13	duże	+	+	+ + osad ziarnisty	liczne dość duże ziarna

Niezdane
z obserwacjami
Constantina

Lp.	Gatunek	Espèce	Rodzina Famille	Charakterystyka plastydów dolnej skórki liści Les plastides de l'épiderme inférieur des feuilles								Kryształy białkowe Cristalloïdes protéiques	Uwagi	
				Ilość Nombre	Wielkość Dimension	Barwa Couleur ¹⁾	Fluorescencja ²⁾ Fluorescence ²⁾	Redukcja AgNO ₃	Réduction du AgNO ₃	Grana Granas	Ziarna skrobi Grains d'amidon			
87	<i>Malva neglecta</i>	Wallr.	Malvaceae	8—12	duże	++	+	+	+	osad srebra ziarnisty	niewidoczne	4—8 dużych ziaren		
88	<i>Tilia parvifolia</i>	Ehrh.	Tiliaceae	7—9	duże	++	+	+	+	H	widoczne słabo	2—4 ziaren		
89	<i>Linum perenne</i>	L.	Linaceae	20—53	b. małe	+	+	+	+	+	H	b. mało		
90	<i>Linum extraaxillare</i>	Kit.	"	20—45	b. małe	+	+	+	+	+	H	b. małe po- jedyncze ziarna		
91	<i>Oxalis stricta</i>	L.	Oxalidaceae	18—26	duże	++	+	+	+		widoczne wyraźnie	liczne ziar- na w głębi stromy		
92	<i>Oxalis corniculata</i>	L.	"	18—24	duże	++	+	+	+	—	widoczne wyraźnie	liczne ziar- na w głębi stromy		
93	<i>Oxalis acetosella</i>	L.	"	20—25	duże	++	+	+	+	—	widoczne wyraźnie	liczne ziar- na w głębi stromy		
94	<i>Geranium sanguineum</i>	L.	Geraniaceae	8—16	średnie	++	+	+	+	+	H	widoczne słabo	brak	
95	<i>Pelargonium zonale</i>	Ait.	"	13—18	średnie	++	+	+	+	—	niewidoczne	2—4 dużych ziaren		Zgodne z ob- serwacjami Stöbra i Metz- nera P.

96	<i>Pelargonium grandiflorum</i> Willd.	Geraniaceae	15-25	średnie	+	+	—	niewidoczne pojedyncze duże ziarna
97	<i>Pelargonium peltatum</i> Ait.	"	14-16	średnie	+	+	—	widoczne słabo
98	<i>Pelargonium odoratissimum</i> Ait.	"	6-10	średnie	+	+	—	niewidoczne pojedyncze duże ziarna
99	<i>Tropaeolum majus</i>	Tropaeolaceae	18-20	średnie	+	+	+ H	widoczne słabo
100	<i>Zygophyllum fobago</i> L.	Zygophyllaceae	4-8	średnie	+	+	+ osad srebra	widoczne słabo
101	<i>Ruta graveolens</i> L.	Rutaceae	8-12	małe	+	+	+ H	niewidoczne brak
102	<i>Ailanthus glandulosus</i> Desf.	Simarubaceae	5-13	średnie	+	+	+ H	niewidoczne drobne ziarna
103	<i>Cotinus coggia</i> Mill.	Anacardiaceae	5-8	małe	+	+	+ H	widoczne słabo
104	<i>Acer platanoides</i> K.	Aceraceae	4-7	średnie	+	+	+ H	widoczne słabo
105	<i>Aesculus hippocastanum</i> L.	Hippocastanaceae	13-20	b. duże	+	+	+ S	widoczne wyraźnie
106	<i>Impatiens parviflora</i> L.	Balsaminaceae	18-24	b. duże	+	+	+ osad srebra	widoczne wyraźnie
107	<i>Ebonymus europaea</i> L.	Celastraceae	6-8	średnie	+	+	+ H	niewidoczne 1-3 małych ziaren
108	<i>Ebonymus japonica</i> Thunb.	"	8-12	małe	+	+	+ H	niewidoczne b. mało
109	<i>Staphylea colchica</i> L.	Staphyleaceae	13-16	średnie	+	+	+ osad srebra	widoczne wyraźnie
							ziarnisty	

Zgodne z obserwacjami Stöhra
Zgodne z obserwacjami Metznera P.

Charakterystyka plastydów dolnej skórki liści

Lp.	Gatunek — Espèce	Rodzina Famille	Les plastides de l'épiderme inférieur des feuilles						Kryształy białkowe Cristalloïdes protéiques	Uwagi	
			Ilość Nombre	Wielkość Dimension	Barwa Couleur ¹⁾	Fluorescencja Fluorescence ²⁾	Redukcja AgNO ₃	Reduction du AgNO ₃			Grana
110	<i>Rhamnus cathartica</i> L.	Rhamnaceae	4—6	duże	++	+	++	++	widoczne słabo	kilka ma- łych ziaren	Zgodne z ob- serwacjami Metznera P.
111	<i>Cornus mas</i> L.	Cornaceae	8—12	małe	++	+	++	++	niewidoczne	brak	Zgodne z ob- serwacjami Metznera P.
112	<i>Hedera helix</i> L.	Araliaceae	4	średnie	++	+	++	++	osad srebra ziarnisty	b. liczne duże ziarna	Niezgodne z ob- serwacjami Stöhra
113	<i>Levisticum officinale</i> Koch.	Umbelliferae	10—13	średnie	++	+	++	++	widoczne wyraźnie	kilka ziaren w głębi stro- my	
114	<i>Armeria plantaginea</i>	Plumbaginaceae	18—23	małe	++	+	++	++	++	niewidoczne	
115	<i>Primula officinalis</i> (L.) Hill.	Primulaceae	16—20	duże	++	+	++	++	++	niewidoczne	liczne drob- ne ziarna
116	<i>Primula auricula</i> L.	"	25—32	małe	++	+	++	++	++	niewidoczne	liczne drob- ne ziarna
117	<i>Cyclamen europaeum</i> L.	"	8—10	małe	++	+	++	++	++	widoczne słabo	brak
118	<i>Lysimachia thyrsoflora</i> L.	"	18—22	średnie	++	+	++	++	++	widoczne słabo	brak
119	<i>Lysimachia nummularia</i> L.	"	16—20	średnie	++	+	++	++	++	widoczne słabo	brak

120	<i>Vaccinium uliginosum</i> L.	<i>Ericaceae</i>	12—20	małe	++	+	+H	niewidoczne	brak	
121	<i>Arctostaphylos uva ursi</i> L.	"	9—18	małe	++	+	+H	niewidoczne	brak	
122	<i>Calystegia sepium</i> (L.) R. Br.	<i>Convolvulaceae</i>	4—8	średnie	++	+	+H	widoczne wyraźnie	b, mało	
123	<i>Convolvulus arvensis</i> L.	"	10—16	małe	+	+	+H	widoczne słabo	brak	
124	<i>Polemonium coeruleum</i> L.	<i>Polemoniaceae</i>	10—13	średnie	++	+	+H	niewidoczne	liczne b. małe ziarna	
125	<i>Phacelia congesta</i> Hook.	<i>Hydrophyllaceae</i>	12—14	duże	++	+	+H	widoczne	b. liczne i b. drobne ziarna	
126	<i>Pulmonaria obscura</i> Dum.	<i>Boraginaceae</i>	2—8	duże	++	+	+H	niewidoczne	1—2 ziaren	kryształy białkowe
127	<i>Anchusa officinalis</i> L.	"	4—8	duże	+	+	+H	widoczne słabo	1—2 ziaren	kryształy białkowe
128	<i>Symphytum officinale</i> L.	"	4—10	duże	+	+	+H	widoczne	1—2 ziaren czasami brak	kryształy białkowe
129	<i>Solanum dulcamara</i> L.	<i>Solanaceae</i>	16—18	duże	++	+	+H	niewidoczne	nieliczne ziarna	
130	<i>Solanum lycopersicum</i> L.	"	18—20	średnie	+	+	+H	niewidoczne	liczne duże ziarna	
131	<i>Solanum capsicum</i>	"	10—16	średnie	++	+	+H	niewidoczne	nieliczne duże ziarna	
132	<i>Hyoscyamus niger</i> L.	"	16—18	średnie	+	+	+H	niewidoczne	duże liczne ziarna	
133	<i>Datura stramonium</i> L.	"	8—13	średnie	+	+	+H	niewidoczne	nieliczne b. duże ziarna	
134	<i>Atropa belladonna</i> L.	"	12—22	średnie	++	+	+H	niewidoczne	kilka dużych ziaren	
135	<i>Gratiola officinalis</i> L.	<i>Scrophulariaceae</i>	8—13	duże	++	+	+H	niewidoczne	nieliczne ziarna	kryształy białkowe

Zgodne z obserwacjami Metznera P.

Lp.	Gatunek — Espèce	Rodzina Famille	Charakterystyka plastydów dolnej skórki liści Les plastides de l'épiderme inférieur des feuilles							Kryształy białkowe Cristalloïdes protéïques	Uwagi
			Ilość Nombre	Wielkość Dimension	Barwa Couleur ¹⁾	Fluorescencja Fluorescence ²⁾	Redukcja AgNO ₃ Réduction ³⁾	Grana Granas	Ziarna skrobi Grains d'amidon		
136	<i>Digitalis grandiflora</i> L.	Scrophularia- ceae	16—18	średnie	+	+	—	niewidoczne	kilka ma- łych ziaren	kryształy białkowe	
137	<i>Veronica officinalis</i> L.	"	16—18	duże	++	+	+ + S	niewidoczne	liczne duże ziarna		
138	<i>Veronica spicata</i> L.	"	16—18	średnie	+	+	+ + S	niewidoczne	kilka małych ziaren		
139	<i>Antirrhinum maius</i> L.	"	10—13	małe	+	+	+ + H	niewidoczne	brak		
140	<i>Verbena officinalis</i> L.	Verbenaceae	8—10	średnie	+	+	+ + H	niewidoczne	brak		
141	<i>Ajuga reptans</i> L.	Labiatae	18—20	średnie	+	+	+ H	widoczne	nieliczne	kryształy białkowe	
142	<i>Betonica officinalis</i> L.	"	18—20	średnie	+	+	+ H	słabo niewidoczne	małe ziarna liczne małe ziarna		
143	<i>Melissa officinalis</i> L.	"	16—19	małe	+	+	+ H	niewidoczne	nieliczne		
144	<i>Origanum vulgare</i> L.	"	7—9	średnie	++	+	+ + H	widoczne	małe ziar a brak		
145	<i>Thymus serpyllum</i> L. em. Fr.	"	13—18	małe	+	+	+ + H	słabo widoczne	brak		
146	<i>Tymus ovatus</i> Mill.	"	4—8	średnie	+	+	+ + H	słabo niewidoczne	brak	kryształy białkowe	
147	<i>Plantago lanceolata</i> L.	Plantaginaceae	10—12	małe	—	—	—	niewidoczne	kilka ma- łych ziaren		

148	<i>Plantago ramosa</i> L.	Plantaginaceae	8—14	średnie	—	—	niewidoczne dość drobne ziarna	Zgodne z obserwacjami Metznera P.
149	<i>Gentiana asclepiadea</i> L.	Gentianaceae	12—20	b. duże	+++	+	+++ widoczne wyraźnie	
150	<i>Gentiana pneumonanthe</i> L.	"	22—30	duże	+++	+	+++ widoczne słabo	
151	<i>Vinca minor</i> L.	Apocynaceae	12—16	średnie	++	+	++ widoczne liczne duże ziarna	Zgodne z obserwacjami Stöhra
152	<i>Nerium oleander</i> L.	"	6—10	średnie	+	+	+H niewidoczne mało	
153	<i>Vincetoxicum officinale</i> Much.	Asclepiadaceae	18—20	średnie	++	+	++S widoczne słabo	
154	<i>Asclepias syriaca</i> L.	"	5—8	średnie	++	+	++H niewidoczne liczne, duże ziarna	
155	<i>Fraxinus excelsior</i> L.	Oleaceae	4—6	średnie	++	+	+H widoczne słabo	
156	<i>Syringa vulgaris</i> L.	"	7—10	małe	++	+	+H widoczne słabo	
157	<i>Galium molugo</i> L.	Rubiaceae	20—22	duże	++	+	+++ widoczne słabo	
158	<i>Galium verum</i> L.	"	16—20	duże	++	+	+++ widoczne słabo	
159	<i>Sambucus nigra</i> L.	Caprifoliaceae	14—20	duże	++	+	+++ widoczne	Zgodne z obserwacjami Stöhra i Metznera P.
160	<i>Viburnum lantana</i> L.	"	7—14	średnie	+++	+	+++ widoczne	Nie zgodne z obserwacjami Stöhra
161	<i>Lonicera caprifolium</i> L.	"	8—16	średnie	+++	+	+++ widoczne	

Lp.	Gatunek — Espèce	Rodzina Famille	Charakterystyka plastydów dolnej skórki liści Les plastides de l'épiderme inférieur des feuilles							Kryształy białkowe Cristalloïdes protéiques	Uwagi
			Ileść Nombre	Wielkość Dimension	Barwa Couleur ¹⁾	Fluorescencja ²⁾	Redukcja AgNO ₃ Réduction du AgNO ₃	Gras Gras	Ziarna skrobi Grains d'amidon		
162	<i>Adora moschatellina</i> L.	Adoraceae	39—55	duże	++	+	+ H	widoczne	brak		
163	<i>Valeriana officinalis</i> L.	Valerianaceae	9—16	duże	++	+	+ H	wyraźnie widoczne	kilka du- żych ziaren		
164	<i>Scabiosa lucida</i> Vill.	Dipsacaceae	10—18	średnie	++	+	+ H	wyraźnie widoczne	1—2 dużych ziaren		
165	<i>Cucurbita pepo</i> L.	Cucurbitaceae	6—10	duże	++	+	+ A	niewidoczne	b. liczne i duże ziarna		
166	<i>Bryonia alba</i> L.	"	8—12	duże	++	+	+ + H	widoczne	b. liczne i b. drobne ziarna		
167	<i>Campanula ranunculoides</i> L.	Campanulaceae	15—20	duże	++	+	+ S	widoczne słabo	3—6 dużych ziaren		
168	<i>Jasione humilis</i> L.	"	23—26	małe	++	+	+ H	widoczne	brak		
169	<i>Lobelia erinus</i> L.	Lobeliaceae	13—20	średnie	++	+	+ H	widoczne	brak		
170	<i>Cirsium oleraceum</i> Scop.	Compositae	18—20	duże	++	+	+ + H	widoczne	małe, liczne ziarna		
171	<i>Tanacetum vulgare</i> L.	"	15—20	b. duże	++	+	+ G	widoczne słabo	mało		
172	<i>Hieracium pilosella</i> L.	"	15—20	duże	+	+	H	widoczne b. słabo	pojedyncze ziarna		

173	<i>Calendula officinalis</i> L.	Compositae	7—14	średnie	++	— + H	widoczne słabo	pojedyncze ziarna	Zgodne z obserwacjami Stöhra
174	<i>Galinsoga parviflora</i> Cav.	"	12—16	duże	+++	+ + G i S	widoczne dobrze	1—3 dużych ziaren	Zgodne z obserwacjami Metznera P.
175	<i>Scorzonera crenatum</i> Bak.	"	10—18	średnie	++	+ + H	widoczne słabo	mało	Zgodne z obserwacjami Stöhra i Metznera P.
176	<i>Taraxacum officinale</i> Wigg.	"	8—16	średnie	++	+ H	widoczne słabo	mało	
177	<i>Solidago virga-aurea</i> L.	"	6—12	duże	++	+ + H	widoczne słabo	mało	
178	<i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn.	"	7—14	duże	++	+ A	widoczne wyraźnie	1—3 ziaren	
179	<i>Bellis perennis</i> L.	"	15—18	duże	++	+ + A	widoczne wyraźnie	1—3 dużych ziaren	Niezgodne z obserwacjami Stöhra
180	<i>Zinnia elegans</i> Jacq.	"	8—12	duże	++	—	widoczne	mało	kryształy białkowe
181	<i>Lactuca sativa</i> L.	"	10—18	duże	++	+ + SiA	widoczne słabo	—	
182	<i>Aster ericoides</i> L.	"	7—14	średnie	++	+ + A	widoczne wyraźnie	1—3 dużych ziaren	
183	<i>Erysimum diffusum</i> Ehr.	"	9—14	małe	+	+ + + H	niewidoczne	b. mało	
184	<i>Artemisia scoparia</i> W. K.	"	13—22	duże	++	+ + G	widoczne	brak	
185	<i>Ginkgo biloba</i> L.	Ginkgoaceae	8—12	średnie	++	+ H	niewidoczne	liczne, duże ziarna	
186	<i>Thuja orientalis</i> L.	Cupressaceae	6—10	małe	+	+ + H	niewidoczne	2—4 dużych ziaren	
187	<i>Podocarpus elatus</i>	Abietaceae	13—18	małe	+	+ + H	niewidoczne	1 duże ziarno	
								wypełniające całe plastyd	

OBJAŚNIENIA TABELI — EXPLICATION DU TABLEAU

1. Barwa plastydów — Couleur des plastes:

- bezbarwne (incolores);
- + słabo zielone (verte faible);
- ++ zielone (verte);
- +++ intensywnie zielone (verte intense).

2. Fluorescencja — Fluorescence:

- brak (manque de fluorescence);
- + występowanie (fluorescence constatée).

3. Reakcja z AgNO_3 — Réaction avec AgNO_3 :

- negatywna (négative);
- + wolniejsza niż w chloroplastach komórek szparkowych (réduction dans les cellules épidermiques succède à celle des stomates);
- ++ jednoczesna z redukcją w chloroplastach komórek szparkowych (réduction constatée en même temps dans les cellules épidermiques et dans les stomates);
- +++ szybsza niż w chloroplastach komórek szparkowych (réduction dans les cellules épidermiques devance celle dans les stomates).

Osad srebra — Précipitation d'argent:

- H homogenny (homogène);
- S w stromie (dans le stroma);
- G w granach (dans les granas);
- A w formie pierścienia na obwodzie plastydu (en forme d'anneau à la périphérie des plastes).

ków) i *Papilionaceae* (zbadanych 11 gatunków) plastydy zawsze wykazywały fluorescencję i redukowały AgNO_3 .

Wyjątkowo pod tym względem przedstawiała się rodzina *Ranunculaceae*, u której na 12 zbadanych gatunków tylko 3 (*Trollius europaeus*, *Paeonia officinalis* i *Helleborus corsicus*) zawierały plastydy nie wykazujące fluorescencji oraz nie redukujące AgNO_3 . Różnice zaznaczały się tutaj nawet w obrębie rodzaju; np. w plastydach u *Helleborus niger* stwierdzono fluorescencję i redukcję AgNO_3 , natomiast plastydy *Helleborus corsicus* nie wykazywały tych własności.

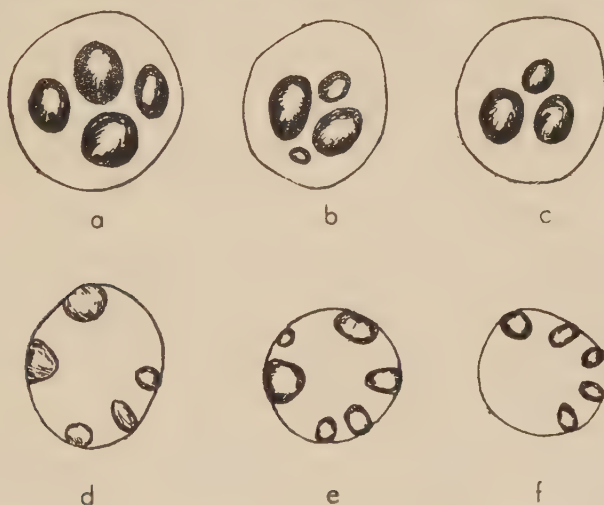
Należy podkreślić, że w dolnej i górnej skórcie liścia znajdują się zawsze plastydy tego samego typu. Fakt ten ustalono na podstawie porównywania plastydów dolnej i górnej skórki u 30 gatunków (*Rumex acetosa*, *R. alpinus*, *Polygonum aviculare*, *Chenopodium album*, *Saponaria*

officinalis, *Mercurialis perennis*, *Hesperis matronalis*, *Armoratia lapathifolia*, *Viola tricolor*, *Lathyrus odoratus*, *Trifolium montanum*, *Vicia faba*, *Oxalis stricta*, *Oxalis corniculata*, *Oxalis acetosella*, *Impatiens parviflora*, *Primula auricula*, *Calystegia sepium*, *Pulmonaria obscura*, *Atropa belladonna*, *Veronica offic.*, *Gentiana asclepiadea*, *Valeriana offic.*, *Cirsium oleraceum*, *Calendula offic.*, *Galinsoga parviflora*, *Taraxacum offic.*, *Bellis perennis*, *Aster* sp., *Ginkgo biloba*). Zjawisko występowania tego samego rodzaju plastydów w skórze dolnej i górnej podkreślał już Stöhr (1879), a także Linsbauer (1930).

AKTYWNOŚĆ FIZJOLOGICZNA PLASTYDÓW SKÓRKI

Przeprowadzono szereg doświadczeń w celu przekonania się, czy plastydy występujące w skórze są zdolne do fotosyntezy i kondensowania skrobi z cukrów dopływających oraz w celu porównania szybkości, z jaką zachodzą te procesy w plastydach skórki i w plastydach mezofilu.

Doświadczenia, które objęły 7 gatunków roślin (*Valeriana officinalis*, *Campanula ranunculoides*, *Bellis perennis*, *Tagetes* sp., *Mercurialis perennis*, *Galinsoga parviflora*, *Vinca minor*), wykazały, że plastydy skórki



Ryc. 9. *Galinsoga parviflora* (a, b, c), *Mercurialis perennis* (d, e, f). Tworzenie skrobi w warunkach eksperymentalnych

a, d — układ skrobi w chloroplastach skórki zdjętej z roślin żyjących w warunkach normalnych; b, c, e, f — tworzenie skrobi w chloroplastach skórki zdjętej z roślin uprzednio zaciemnionych; b, e — skrobia powstała na świetle, c, f — skrobia powstała w 2% roztworze glukozy w ciemności

a, d — localisation des grains d'amidon dans les chloroplastes de l'épiderme enlevé des feuilles des plantes vivantes dans les conditions normales; b, c, e, f — la formation de l'amidon dans les chloroplastes de l'épiderme isolé des plantes qui restaient à l'abri de la lumière; b, e — l'amidon élaboré à la lumière, c, f — l'amidon élaboré dans la solution de glucose à 2% à l'obscurité

tworzą skrobię zarówno na świetle, jak i z cukrów dopływających, z tym że ten ostatni proces przebiega o wiele szybciej (ryc. 9). W skórcie umieszczonej w roztworze cukru skrobia zaczyna pojawiać się już po 15—30 min., podczas gdy w wodzie na świetle tworzy się dopiero po upływie 2—6 godzin. Oba te procesy zachodzą w plastydach skórki z tą samą szybkością co w plastydach mezofilu. Na szybkość ich przebiegu nie ma wpływu okoliczność, czy skórka jest izolowana, czy też pozostaje na liściu. Lokalizacja obu rodzajów skrobi jest stała dla danego gatunku (ryc. 9) i odpowiada typowi rozmieszczenia skrobi znalezionemu w plastydach skórki zdjętej z roślin żyjących w naturalnych warunkach.

W liściach zaciemnianych zauważono przemieszczanie się plastydów i skupianie się ich przy jądrze. Po wystawieniu skórki na słońce plastydy odsuwały się od jądra i znajdowały się znowu bliżej błon komórkowych. Podobne zjawiska przemieszczania się chloroplastów i skupiania się ich wokół jądra obserwowałam przy obniżonej temperaturze (1957).

DYSKUSJA

Rozmiary większości plastydów skórki w podanym wyżej materiale zawierały się w podobnych granicach co plastydy mezofilu opisane przez Möbiusa (1920). Nie znaleziono jednak w skórcie plastydów większych niż $6,3\mu$, podczas gdy Möbius podał dla nielicznych wprawdzie gatunków — średnicę plastydów $7\text{--}10\mu$. Najmniejsze plastydy znalezione w mezofilu przez wspomnianego autora posiadały średnicę 3μ ; natomiast wymiary najmniejszych plastydów skórki wynosiły $0,9\mu$.

Obecność chlorofilu jest kryterium podziału plastydów na leuko- i chloroplasty. Na ogół uważa się, że chlorofil umiejscowiony jest wyłącznie w granach. Najmniejsze ilości chlorofilu mogą być wykryte na podstawie jego własnej fluorescencji, stąd też odróżnianie tych dwóch kategorii plastydów nie przedstawia trudności przy posługiwaniu się mikroskopem fluorescencyjnym.

Inną specyficzną cechą żywych chloroplastów jest redukcja AgNO_3 uwarunkowana obecnością kwasu askorbinowego (Giroud, Leblond, Rakoto Matsimamonga 1934, Weier 1938, Nagai 1955, Metzner 1957).

W skórcie 182 gatunków roślin (97,4%) stwierdzono obecność chlorofilu w plastydach. Prawie wszystkie plastydy wykazujące fluorescencję dawały pozytywną reakcję Molischa i Girouda. U nielicznych tylko gatunków (8,1%) plastydy nie redukowały AgNO_3 , chociaż wykazywały fluorescencję. Przyczyny tego faktu należy szukać w ścisłej zależności przebiegu reakcji z ANO_3 od wartości pH środowiska. Jak wiadomo, krańcowe wartości pH hamują ją całkowicie (Weier 1938, Nagai 1955).

Zlokalizowanie osadu srebra w plastydach skórki było podobnie różnorodne, jak to znaleziono dla chloroplastów mezofilu (Guilliermond 1931, Pekarek 1938, Weier 1938, Metzner 1952, 1957).

Obecność gran mogła być stosunkowo łatwo stwierdzona w dogodnych warunkach obserwacji (duże grana, brak skrobi i innych inkluzji w plastydach). W badanym materiale u większości roślin zaobserwowano grana w plastydach. Nawet w wypadkach, kiedy plastidy przepełnione skrobią nie wykazywały obecności gran, te ostatnie stawały się widoczne po usunięciu skrobi z plastydów. W nielicznych gatunkach roślin plastidy zawierały chlorofil, lecz nie udało się w nich znaleźć gran. Nie jest wykluczone, że wymiary tych ostatnich leżały poniżej granicy rozdzielczej mikroskopu świetlnego. Obserwacje w mikroskopie elektronowym wykazały jednak, że istnieją chloroplasty pozbawione gran. Takie chloroplasty znaleziono w komórkach tworzących pochwę wokół wiązek przewodzących liści *Zea Mays*, podczas gdy chloroplasty w komórkach mezofilu zawierały typowe grana (Hodge, McLean, Mercer 1955). Sprawa obecności gran, jako typowej struktury chloroplastów, uległa dalszemu skomplikowaniu z chwilą znalezienia gran także w ostatecznie zróżnicowanych leukoplastach (Perner 1954, Thaler 1955, Kaja 1956, Dangeard i Eymé 1956). Jednak w przeciwieństwie do chloroplastów, w leukoplastach występuje zwykle nieznaczna ilość gran.

Występowanie kryształów białkowych w chloroplastach nie jest ich cechą charakterystyczną, ponieważ spotykano je także w leukoplastach (Schimper 1885, Thaler i Kenda 1953, Thaler 1956).

Thaler i Kenda (1953) twierdzą, że zdolność tworzenia białka charakteryzuje leukoplasty komórek skórki *Helleborus corsicus*; według autorki zastępuje ona utraconą już przez leukoplasty zdolność do kondensowania skrobi z cukrów dopływających. Jednak obecność białka w chloroplastach, jak to dowiedziono powyżej na przykładzie *Symphytum officinale*, nie wyklucza tworzenia się w nich skrobi w warunkach eksperymentalnych z cukrów znajdujących się w pożywce.

Badania aktywności fizjologicznej plastydów skórki wykazały, że skrobia może się w nich tworzyć na świetle, a także w ciemności. Thaler i Kenda (1953) znalazły w skórce liści *Cleome* plastidy, które tworzyły skrobię jedynie z cukrów dopływających. Fakt ten skłonił autorki do uznania tych plastydów nie za typowe chloroplasty, lecz za „active Intermediärplastiden“.

Konfrontacja poglądów na chloroplasty z wynikami otrzymanymi w trakcie niniejszych badań wskazuje, że obecność chlorofilu (dowodzona na podstawie jego fluorescencji i redukowania AgNO_3) decyduje o zaliczeniu opisanych plastydów do kategorii chloroplastów. Jak wykazano

powyżej, brak fluorescencji jest zawsze związany z niezdolnością do redukcji AgNO_3 i z niewielkimi wymiarami plastydów, których grana są niewidoczne. Tylko tego rodzaju plastydy należy uważać za typowe leukoplasty. Obecność ich stwierdzono zaledwie u 5 (2,6%) badanych gatunków.

Wśród plastydów zawierających chlorofil wyraźnie występują trzy odrębne kategorie. Jedne z nich charakteryzują się dużymi wymiarami, intensywną fluorescencją, redukcją AgNO_3 i obfitą zawartością skrobi: przeprowadzone eksperymenty dowodzą, że skrobia ta pochodzi nie tylko z cukrów dopływających, lecz także wytworzona jest jako rezultat fotosyntezy. W drugiej kategorii plastydów — fluoryzujących i redukujących AgNO_3 — brak jest skrobi lub zjawia się ona w małej ilości, natomiast obficie występują kryształy białkowe. W przeciwieństwie do leukoplastów plastydy te nie tracą jednak zdolności kondensowania skrobi z cukrów dopływających. Plastydy trzeciej kategorii — fluoryzujące i redukujące AgNO_3 — odznaczają się drobnymi wymiarami. W plastydach tych brak skrobi. Za pomocą stosowanych metod nie zawsze udawało się zobaczyć w nich grana.

Pierwszą kategorię plastydów wyróżnionych w skórcie liści należy uznać za typowe chloroplasty. Stwierdzono ich obecność u 68,9% badanych gatunków. Drugą kategorię można by nazwać „proteochloroplastami”: występują one u 8,6% badanych gatunków. Tego rodzaju plastydy występują w rodzinach: *Aristolochiaceae*, *Moraceae*, *Magnoliaceae*, *Ranunculaceae*, *Scrophulariaceae*, *Verbenaceae* i *Urticaceae*. Do trzeciej kategorii plastydów — przez analogię do terminu Webera, Thaler i Kendy (1955) „inactive Intermediärplastiden” — można by zastosować nazwę „nieaktywne chloroplasty” (22,5% badanych gatunków), ze względu na ich niezdolność do tworzenia skrobi na świetle.

Od dawna nie podlega dyskusji fakt występowania chloroplastów w skórcie liści roślin wodnych. Natomiast nie była dostatecznie wyjaśniona sprawa występowania chloroplastów w skórcie roślin z innych siedlisk. Jak wykazano powyżej, chloroplasty w skórcie są bardziej pospolite, niż to dotąd przypuszczano. Zasługuje na podkreślenie zwłaszcza wykazana powyżej obecność chloroplastów w skórcie liści roślin zaliczanych bądź do kserofitów, bądź zebranych ze stanowisk suchych, piaszczystych i nasłonecznionych.

Porównanie wyników niniejszej pracy z danymi Stöhra (1879) i Constantina (1886) wykazuje szereg niezgodności dotyczących uznania plastydów występujących w skórcie za chloro- lub leukoplasty. Plastydy pewnych roślin, ocenione przez wspomnianych autorów jako leukoplasty, zaliczyłam do kategorii chloroplastów. Pozwoliły mi na to niewątpliwie dokładniejsze metody stosowane w niniejszej pracy.

STRESZCZENIE WYNIKÓW

Zbadano plastydy w skórze liści 187 gatunków roślin lądowych dwuliściennych, z uwzględnieniem niektórych kserofitów, oraz 3 gatunki roślin nagozalążkowych. Na podstawie fluorescencji plastydów stwierdzonej w mikroskopie fluorescencyjnym oraz na podstawie ich zdolności do redukcji AgNO_3 uznano plastydy występujące w skórze liści większości zbadanych gatunków (97,4%) za chloroplasty, wśród których wyróżniono 3 następujące kategorie:

1. Typowe chloroplasty występujące u 129 gatunków roślin (68,9%), charakteryzujące się stosunkowo dużymi wymiarami i wytwarzaniem skrobi na świetle.

2. „Proteochloroplasty“ — znalezione w 16 gatunkach roślin (8,6%), odznaczające się dużymi wymiarami, występowaniem kryształów białkowych oraz małą ilością skrobi lub jej brakiem.

3. „Chloroplasty nieaktywne“ przeważnie drobne, nie zawierające skrobi. Stwierdzono je u 42 gatunków (22,5%).

Plastydy nie fluoryzujące nie redukowały AgNO_3 , były małe, posiadały nieznaczne ilości skrobi lub były jej pozbawione. Uznano je za typowe leukoplasty. Występowały one tylko u *Paeonia officinalis*, *Trollius europaeus*, *Helleborus corsicus*, *Plantago lanceolata* i *Plantago ramosa* (2,6% zbadanych gatunków).

(Wpłynęło dn. 18.9.1958 r.)

Katedra Anatomii i Cytologii Roślin
Uniwersytetu Łódzkiego

RÉSUMÉ

Nous avons étudié les plastes dans l'épiderme des feuilles de 3 espèces des Gymnospermes et de 184 espèces de Dicotylédones, parmi lesquelles il y avait un certain nombre des xérophytes.

Les phénomènes de la fluorescence ainsi que de la réduction du nitrate d'argent constatés au niveau des plastes nous ont permis de considérer les plastes de l'épiderme de la plupart (97,4%) des plantes étudiées comme les chloroplastes.

Parmi ces chloroplastes nous avons pu distinguer trois catégories suivantes:

1. Les chloroplastes typiques, rencontrés chez 129 espèces étudiées (68,9%), relativement grands, capables d'élaborer de l'amidon à la lumière et de le produire de la glucose du milieu, à l'obscurité.

2. „Les protéochloroplastes“ constatés chez 16 espèces étudiées (8,6%). Ils sont de dimensions relativement grandes, renferment des cristaalloïdes protéiques; certains d'entre eux contiennent aussi des grains d'amidon.

3. „Les chloroplastes inactifs”, le plus souvent des dimensions réduites, n'élaborant jamais d'amidon. Nous les avons trouvé chez 42 espèces (22,5%).

Chez les plastes qui ne révélèrent pas de la fluorescence, nous n'avons jamais constaté la réduction du nitrate d'argent. Ils sont de petite taille, ne renferment pas d'amidon ou n'en contiennent que de très faible quantité. Ce sont donc des leucoplastes. Ils furent trouvés dans l'épiderme de 5 espèces (2,6%).

LITERATURA

- Alscher R. P., Lavin G. I., 1953, Chloroplastic structures in the epidermis of spinach leaves, Bot. Gaz. 114 (4): 393—396.
- Aleksandrow W. G., 1954, Anatomija rastenij, Moskwa.
- Bartels F., 1955, Cytologische Studien an Leukoplasten unterirdischer Pflanzenorgane, Planta 45, 426—254.
- Constantin M. J., 1886, Études sur les feuilles des plantes aquatiques, Ann. des Sc. Nat. Bot. 7, 94—162.
- Dangeard P., Eymé J., 1956, Observations sur la structure de leucoplastes, C. R. Ac. Sc. 242: 2428—2431.
- Eames A. J., Mac Daniels L. H., 1947, An Introduction to Plant Anatomy, New York and London.
- Esau K., 1953, Plant Anatomy, New York, London.
- Giroud A., Leblond C. P., Rakoto Matsimamonga, 1934, Signification de la réduction des sels d'argent au niveau des plastes chlorophylliens, C. R. Soc. Biol. 117: 614—615.
- Guilliermond A., 1931, Sur l'emploi des méthodes argentiques pour la coloration des plastes et sur les propriétés réductrices des chloroplastes, C. R. Soc. Biol. 106: 270—274.
- Guttenberg H., 1952, Lehrbuch der allgemeinen Botanik, Berlin.
- Haberlandt G., 1909, Physiologische Pflanzenanatomie, Leipzig.
- Harthel O., Thaler I., 1953, Die Proteinoplasten von *Helleborus corsicus* Willd., Protoplasma 42: 417—426.
- Hodge P. J., Mc Lean J. D., Mercer F. V., 1955, Ultrastructure of the lamellae and grana in the chloroplasts of *Zea Mays* L., J. Biophys. Biochem. Cyt. 1 (6): 605—613.
- Kaja H. 1956, Untersuchungen über Struktur u. Entwicklung der Leukoplasten in der Epidermis v. *Chlorophytum comosum* (Thum.) Bot. Protoplasma 47: 280—297.
- Linsbauer K., 1930, Handbuch der Pflanzenanatomie. Die Epidermis, 4: 131—135.
- Mazia D., Brewer P. A., Alfert M., 1953, The cytochemical staining and measurement of protein with mercuric bromophenol blue, Biol. Bull. 104: 57—67.
- Metzner H., 1952, Die Reduktion wässriger Silbernitratlösungen durch Chloroplasten und andere Zellbestandteile, Protoplasma 41: 129.
- Metzner H., 1957, Die Ascorbinsäure in der Pflanzenzelle, Protoplasmatologia, Handbuch der Protoplasmaforschung II, 1—40.
- Metzner P., 1954, Untersuchungen zur Kenntnis der Plastiden, Flora 142: 81—108.
- Mikulska E., 1957, Chloroplasty w liściach roślin zimozielonych, Acta Soc. Bot. Pol. 26: 551—564.
- Möbius M., 1920, Über die Grösse der Chloroplasten, Ber. dtsch. bot. Ges. 38: 224—232.

- Molisch H., 1918, Des Chlorophyllkorn als Reduktionsorgan, Sitz. Ber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl. Abt. I, 127: 149—171.
- Nagai S., 1955, The Reduction of Silver Nitrate by Plant Cells Particularly by Chloroplasts, Protoplasma 44: 444—459.
- Pekarek J., 1938, Die Lokalisation des Silbernitrats-Reduktors in den Chloroplasten, Protoplasma 30: 534—546.
- Perner E. S., 1954, Zum mikroskopischen Nachweis des „primären Granums“ in den Leukoplasten, Ber. dtsch. bot. Ges. 67: 26—32.
- Razdorskij W. F., 1949, Anatomija rastenij, Moskwa.
- Schimper A. F. W., 1885, Untersuchungen über die Chlorophyllkörner und die ihnen homologen Gebilde, Jb. wiss. Bot. 16: 1—247.
- Stöhr A., 1879, Über Vorkommen von Chlorophyll in der Epidermis der Phanerogamen-Laubblätter, Sitzgsber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl.: Abt. I, 79: 96—117.
- Strasburger E., 1923, Das Botanische Praktikum, Jena.
- Thaler I., Kenda S., 1953, Proteinoplasten fehlen den Schliesszellen, Protoplasma 42: 90—92.
- Thaler I., 1955, Die Leukoplasten von Helleborus, Protoplasma 44: 437—443.
- Thaler I., 1956, Die Plastiden der Cerinthe — Epidermis, Protoplasma 45: 483—486.
- Weber F., Thaler I., Kenda G., 1955, Die Plastiden der Cleome — Epidermis, Österr. Bot. Zeitschr. 102 B: 84—88.
- Weier E., 1938, Factors affecting the reduction of silver nitrate by chloroplasts, Amer. J. Bot. 25: 501—507.

Etude autoradiographique de l'influence de la kinétine sur la synthèse des acides nucléiques et des protéines dans le méristème racinaire d'*Allium cepa*

M. J. OLSZEWSKA *)

Dans les recherches précédentes (Olszewska 1959) nous avons démontré l'effet stimulant de la kinétine (Miller, Skoog, Saltza, Strong 1955, Miller, Skoog, Okumura, Saltza, Strong 1955) sur l'incorporation de l'adénine -8- ^{14}C dans les acides nucléiques des cellules du méristème racinaire d'*Allium cepa*. Parmi les trois organites étudiés (le cytoplasme, le noyau, le nucléole) l'incorporation de l'adénine dans l'ARN du nucléole subit une activation particulièrement intense.

La kinétine employée en même temps que l'adénine radioactive inhibe pendant les 5 premières heures de son action l'incorporation de l'adénine surtout dans l'ARN du cytoplasme. Ce phénomène n'est pas lié avec une inhibition du métabolisme des acides nucléiques, parce que déjà après 5 heures d'action de la kinétine on a constaté une augmentation de l'activité mitotique.

Les expériences présentes ont pour but de suivre l'influence de la kinétine sur la synthèse des acides nucléiques et des protéines. Comme un précurseur nous avons choisi le formiate radioactif, dont l'atome de carbone s'incorpore dans la structure de certains acides aminés ainsi que de bases puriques et pyrimidiques au cours de leurs biosynthèse.

Par égard au fait qu'après 5 heures d'action de la kinétine paraît son effet principal — le croisement de l'activité mitotique, nous avons, dans l'étude présente, limité la durée d'incubation avec précurseur radioactif à 5 heures.

Dans nos expériences a été employé le formiate de soude ^{14}C en concentration de $0,2\text{ }\mu\text{M/ml}$, contenant $0,3\text{ }\mu\text{C/ml}$ et la kinétine cristalline synthétisée par M. le Prof. Supniewski et coll. (1956) qui a bien voulu nous en donner.

*) Adresse permanente: Laboratoire d'Anatomie et de Cytologie végétales, Université de Łódź, Pologne.

Le matériel a été préparé d'une manière semblable à celle employée pour les expériences avec l'adénine, c'est à dire les bulbes, dont les racines avaient été poussées dans de l'eau distillée, ont été soumis à trois espèces d'expériences:

I. Les bulbes ont été immergés pendant 18 h. dans la solution aqueuse de kinétine en conc. de $0,05 \mu\text{M/ml}$ et ensuite transportés dans la solution aqueuse du formiate ^{14}C .

II. Les bulbes ont été plongés dans la solution aqueuse de kinétine en conc. de $0,0125 \mu\text{M/ml}$, où on a ajouté le formiate ^{14}C .

III. Les bulbes ont été placés dans la solution aqueuse du formiate ^{14}C . Les racines provenant de cette expérience ont servi de matériel témoin.

Pour chaque espèce d'expérience les durées des incubations avec formiate radioactif ont été de 1, 3 et 5 heures. Les extrémités des racines ont été fixées dans un mélange de 95% d'alcool absolu et de 5% d'acide acétique glacial à -8°C pendant 4 heures, puis lavées pendant environ 15 h. dans de l'alcool absolu à la même température. Après l'inclusion dans la paraffine des coupes longitudinales d'une épaisseur de 8μ ont été effectuées. Les coupes déparaffinées ont été ensuite lavées pendant 1 h. dans une solution aqueuse du formiate de soude non marqué à la conc. de $0,2 \mu\text{M/ml}$.

Une série de coupes a été recouverte telle quelle d'émulsion Ilford G 5 „in gel form”, d'autres ont été traitées, avant l'application de l'émulsion sensible, aux traitements suivants:

1. $0,1 \text{ N HCl}$ pendant 10 min. à la temp. 20°C pour éliminer la fraction acidosoluble.

2. Les coupes traitées pendant 10 min. à $0,1 \text{ N HCl}$ ont été soumises à l'action de la ribonucléase cristalline (Armour) en conc. de $0,1 \text{ mg/ml}$ pendant 2 h. à temp. 37°C . Ces coupes ont été donc privées de la fraction acidosoluble et de l'ARN.

3. Les coupes privées de la fraction acidosoluble et de l'ARN (après le traitement comme en 2) ont été soumises à l'action de la désoxyribonucléase (N. C. B. 1 $\times$ crist.) en conc. de $0,1 \text{ mg/ml}$, tamponnée par Mg^{2+} pendant 2 h. à la temp. 37°C . La radioactivité de ces coupes pouvait être rapportée aux protéines.

Les autoradiogrammes ont été effectués suivant la technique décrite par A. F i c q (1955). La durée d'exposition a été de 3 jours.

Pour rapporter le nombre des traces à la surface de divers organites cellulaires, nous avons employé la méthode décrite précédemment (O l s z e w s k a 1959).

Nos résultats sont basés sur l'observation de coupes provenant de 10 racines pour chaque espèce d'expérience (soit au total 90 racines).

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

1. Radioactivité totale.

Les résultats du comptage des traces présentés sur le tableau 1 démontrent que la kinétine influe sur l'intensité de l'incorporation du ^{14}C du formiate; cet effet se laisse constater déjà après 1 heure de l'action de la kinétine.

Le nombre des traces trouvé dans les racines prétraitées à la kinétine permet de constater une certaine influence sur l'incorporation du ^{14}C pendant 5 heures après l'élimination de la kinétine du milieu.

Tableau 1

Radioactivité totale exprimée en nombre de traces par $1000 \mu^2$ de surface du cytoplasme, du noyau et du nucléole des cellules du méristème racinaire d'*Allium cepa*.

Organite	Traitement	Durée d'incubation avec le formiate ^{14}C		
		1 h.	3 h.	5 h.
Cytoplasme	I. Prétraitement à la kinétine	0,58	0,81	1,31
	II. Mélange kinétine et formiate	0,53	1,35	1,43
	III. Témoins	0,35	0,70	0,90
Noyau	I. Prétraitement à la kinétine	2,32	2,73	3,72
	II. Mélange kinétine et formiate	2,15	4,54	4,93
	III. Témoins	1,19	2,09	2,09
Nucléole	I. Prétraitement à la kinétine	10,20	11,73	12,95
	II. Mélange kinétine et formiate	8,16	16,32	16,83
	III. Témoins	6,12	8,16	9,18

2. Fraction acidosoluble.

La radioactivité de la fraction acidosoluble est présentée sur le tableau 2. En examinant ces résultats il ne faut pas oublier que la méthode de fixation employée entraîne une perte — assez insignifiante — de la

fraction acidosoluble (Ficq, Errera 1955). La quantité absolue enlevée par la fixation est probablement égale pour tous les expériences. Mais, en cas d'incubation pendant 1 h. où la radioactivité totale est peu élevée, une radioactivité en apparence inférieure de cette fraction résulte d'une élimination due à la fixation.

Malgré toutes ces réserves on peut constater que la présence de la kinétine augmente la vitesse des processus de synthèse, ce qui s'exprime par la diminution de la part relative de la fraction acidosoluble après 5 h. d'incubation dans le mélange de kinétine et de formiate. Encore après 3 h. d'incubation dans le matériel prétraité à la kinétine son influence se laisse constater grâce à la participation réduite de la fraction acidosoluble. Dans le matériel prétraité à la kinétine et dans le matériel témoin on trouve après 5 h. d'incubation une même valeur relative de la fraction acidosoluble.

Tableau 2

Radioactivité de la fraction acidosoluble exprimée en nombre de traces par 1000 μ^2 de surface du cytoplasme, du noyau et du nucléole des cellules du méristème radiculaire d'*Allium cepa*.

Orga- nite	Traitement	Durée d'incubation avec le formiate ¹⁴ C		
		1 h.	3 h.	5 h.
Cytoplasme	I. Prétraitement à la kinétine	0,28 48 %	0,55 68 %	0,82 69 %
	II. Mélange kinétine et formiate	0,27 51 %	0,97 72 %	0,79 55 %
	III. Témoins	0,22 62 %	0,54 77 %	0,62 69 %
Noyau	I. Prétraitement à la kinétine	1,22 52 %	1,22 44 %	1,96 52 %
	II. Mélange kinétine et formiate	1,15 51 %	2,56 56 %	2,08 41 %
	III. Témoins	0,66 55 %	1,31 62 %	0,76 36 %
Nucléole	I. Prétraitement à la kinétine	5,65 55 %	5,61 48 %	7,34 62 %
	II. Mélange kinétine et formiate	2,73 33 %	9,69 53 %	5,61 33 %
	III. Témoins	4,08 66 %	5,83 71 %	5,61 61 %

3. Acide ribonucléique.

Les données présentées sur le tableau 3 montrent que déjà après 1 heure d'action la kinétine augmente la synthèse d'ARN dans tous les organites étudiés.

Chez les plantes prétraitées à la kinétine après quelques heures encore après l'élimination de la kinétine du milieu la synthèse d'ARN est plus intense que dans le matériel témoin.

Dans le matériel soumis à l'action de la kinétine en même temps qu'à l'action du formiate radioactif le nombre de traces contenu dans l'ARN du noyau est après 1 heure d'incubation 7 fois plus élevé que le nombre de traces des plantes témoins; en ce qui concerne le cytoplasme, la radioactivité d'ARN des plantes soumises à l'action du mélange de kinétine et de formiate dépasse celle des plantes témoins 4 fois seulement. Ces résultats concordent avec ceux obtenus avec l'adénine radioactive (O1-

Tableau 3

Radioactivité de la fraction d'ARN exprimée en nombre de traces par 1000 μ^2 de surface du cytoplasme, du noyau et du nucléole des cellules du méristème racinaire d'*Allium cepa*

Orga- nite	Traitement	Durée d'incubation avec le formiate ^{14}C		
		1 h.	3 h.	5 h.
Cytoplasme	I. Prétraitement à la kinétine	0,08	0,18	0,15
	II. Mélange kinéti- ne et formiate	0,16	0,15	0,37
	III. Témoins	0,04	0,07	0,10
Noyau	I. Prétraitement à la kinétine	0,50	0,81	1,11
	II. Mélange kinéti- ne et formiate	0,71	1,39	2,21
	III. Témoins	0,11	0,23	0,69
Nucléole	I. Prétraitement à la kinétine	3,06	3,57	3,57
	II. Mélange kinéti- ne et formiate	4,38	4,59	9,52
	III. Témoins	1,98	2,04	2,04

s z e w s k a 1959); ils semblent montrer que la kinétine augmente surtout la synthèse d'ARN du noyau.

4. Acide désoxyribonucléique.

Les résultats concernant le nombre de traces contenues dans l'ADN (tableau 4) ne concordent pas avec le phénomène de l'augmentation de l'activité mitotique produite par l'action de la kinétine (G u t t m a n 1956, O l s z e w s k a 1959).

Tableau 4

Radioactivité de la fraction d'ADN exprimée en nombre de traces par 1000 μ^2 de surface du noyau des cellules du méristème racinaire d'*Allium cepa*

Traitement	Durée d'incubation avec le formiate ^{14}C		
	1 h.	3 h.	5 h.
I. Prétraitement à la kinétine	0,40	0,46	0,58
II. Mélange kinétine et formiate	0,27	0,36	0,50
III. Témoins	0,23	0,34	0,40

La contradiction de ces résultats peut être causée par le dénombrement des traces qui désorlaient exclusivement des noyaux de cellules typiquement interphasales; nos résultats concernent donc seulement l'étape second, préprophasique de la synthèse d'ADN. La plupart des auteurs (F a u t r e z, F a u t r e z et R o e l s 1954, L i s o n et P a s t e e l s 1950, P i s i et C a v a l l i 1955) estime que cette synthèse se produit en deux temps: l'un posttélphasique, l'autre préprophasique. La réduction de la durée de l'interphase qui arrive sous l'influence de la kinétine (G u t t m a n 1956) pourrait être attribuée à l'accélération de la synthèse posttélphasique d'ADN. Le matériel prétraité à la kinétine dont l'activité mitotique dans un temps correspondant à 1 et 3 h. d'incubation est la plus élevée (O l s z e w s k a 1959) démontre pendant les 5 heures d'incubation le plus grand nombre de traces dans l'ADN. Ces traces pourraient donc provenir du ^{14}C incorporé pendant l'étape posttélphasique de la synthèse d'ADN. Cette supposition exige évidemment de nouvelles recherches réalisées à l'aide d'un précurseur spécifique d'ADN.

5. Les protéines.

Le nombre de traces démontré par les protéines (tableau 5) prouve que pendant 5 heures d'incubation la synthèse protéique la plus intense se

produit dans le matériel prétraité à la kinétine avant l'incubation avec le formiate radioactif. La radioactivité des protéines dans les plantes témoins est toujours la plus faible.

Tableau 5

Radioactivité de la fraction des protéines exprimée par nombre de traces par 1 cellule du méristème radiculaire d'*Allium cepa*

Traitement	Durée d'incubation avec le formiate		
	1 h.	3 h.	5 h.
I. Prétraitement à la kinétine	0,085	0,120	0,160
II. Mélange kinétine et formiate	0,040	0,080	0,152
III. Témoins	0,025	0,055	0,082

DISCUSSION

Les résultats des recherches présentes ne démontrent aucun effet inhibiteur de la kinétine sur la synthèse d'ARN. On peut donc conclure que cette inhibition constatée dans les expériences avec l'adénine radioactive Olszewska 1959 employée en même temps que la kinétine ne signifie pas d'un affaiblissement de l'activité métabolique des acides nucléiques, mais pourrait être causée par le phénomène de la compétition entre la molécule d'adénine et celle de kinétine.

La comparaison de la radioactivité de l'ARN et des protéines indique que la kinétine stimule la synthèse des protéines par l'intermédiaire de la synthèse accrue de l'ARN: après l'introduction de la kinétine dans le tissu, la synthèse intense d'ARN précède l'augmentation de la synthèse protéique. Après l'élimination de la kinétine du milieu la synthèse d'ARN baisse, tandis que la synthèse protéique élevée se maintient pendant un certain temps. Ces faits deviennent compréhensibles à la lumière de l'hypothèse émise par Brachet (1941) et Caspersson (1941) sur le rôle de l'ARN dans la synthèse des protéines.

Les recherches d'origine d'ARN du cytoplasme ont démontré qu'on peut distinguer, selon les objets, deux possibilités différentes. Chez *Ace-tabularia* la synthèse de l'ARN du cytoplasme est — jusqu'à un certain temps — indépendante de la présence du noyau (Brachet, Chantrenne, Vanderhaeghe 1955, Brachet, Chantrenne 1956, Vanderhaeghe 1957). Chez les *Amibes*, par contre, le noyau exerce un contrôle étroit sur le maintien de l'ARN cytoplasmiques qui est syn-

thétisé dans le noyau (ou bien dans le nucléole), puis transféré au cytoplasme (Brachet 1955, Goldstein, Plaut 1955, Prescott 1957). Suivant Brachet et Ficq (1956) et Brachet (1957) ces deux mécanismes peuvent co-exister. On peut donc se demander si la kinétine agit particulièrement sur l'un de ces mécanismes ou si elle augmente dans la même mesure la synthèse cytoplasmique et nucléaire d'ARN.

Les résultats obtenus par Guttman (1957) qui a constaté une augmentation de la quantité d'ARN contenue dans le noyau sous l'influence de la kinétine, et surtout les résultats des recherches autoradiographiques démontrent qu'une stimulation exercée par la kinétine atteint plutôt la synthèse d'ARN du noyau que celle du cytoplasme. Il semble donc possible que l'action de la kinétine consiste dans une activation du mécanisme nucléaire d'origine d'ARN cytoplasmique.

Dernièrement on a constaté dans le noyau la présence de deux espèces d'ARN, dont l'activité métabolique est différente (Kay, Smellie, Humphrey, Davidson 1956, Logan, Davidson 1957, Logan 1957, Vincent 1957). Il s'agit en effet d'ARN nucléaire et non nucléolaire, comme pourrait le suggérer les résultats d'Allfrey et Mirsky (1957), parce que dans les expériences de Vincent (1957) le nucléole a été éliminé. L'action de la kinétine pourrait donc être attribuée à une augmentation de la synthèse de cette espèce d'ARN, dont l'activité métabolique est plus considérable.

Les résultats obtenus concernant le mode d'action de la kinétine ne permettent pas de conclure que la première impulsion exercée par cette dernière consiste dans une stimulation de la synthèse d'ARN, car la synthèse d'ARN accrue peut être un résultat de l'action de la kinétine sur les autres centres du métabolisme cellulaire.

RÉSUMÉ

On a étudié par autoradiographie l'influence de la kinétine sur l'incorporation du ^{14}C du formiate dans les acides nucléiques et dans les protéines. Les résultats obtenus montrent que la kinétine stimule la synthèse protéique par l'intermédiaire de la synthèse accrue d'ARN. On a constaté la plus grande croissance de la synthèse d'ARN du noyau.

Qu'il me soit permis d'exprimer ma profonde reconnaissance à M. le Professeur J. Brachet qui m'avait accueillie au Laboratoire de Morphologie Animale et n'avait jamais manqué de me témoigner toute sa bienveillance. J'adresse à Mme dr A. Ficq mes vifs remerciements pour l'intérêt qu'elle porta à mes recherches et pour les conseils précieux qu'elle m'a dispensés. Je voudrais exprimer ma gratitude à Mlle R. Tencer qui a suivi de très près mon travail et m'a beaucoup aidé par ses conseils.

*Laboratoire de Morphologie animale
Université libre, Bruxelles*

STRESZCZENIE

Badano metodą autoradiograficzną wpływ kinetyny na włączanie się ^{14}C mrówczanu sodu do kwasów nukleinowych i białek merystemu korzeniowego *Allium cepa*. Uzyskane rezultaty wskazują, że kinetyna stymuluje syntezę białkową za pośrednictwem wzmożonej syntezy kwasu rybonukleinowego. Stwierdzono, że pod wpływem kinetyny najbardziej zwiększa się synteza kwasu rybonukleinowego jądrowego.

BIBLIOGRAPHIE

- Allfrey V. C., Mirsky A. E., 1957, Proc. Natl. Ac. Sci. 43: 821.
Brachet J., 1941, Enzymologia 10: 87.
Brachet J., 1955, Biochim. Bioph. Acta 18: 247.
Brachet J., 1957, Biochimija 22: 226.
Brachet J., Chantrenne H., 1956, Cold Spring Harb. Symp. 21: 329.
Brachet J., Chantrenne H., Vanderhaeghe F., 1955, Biochim. Bioph. Acta 18: 544.
Brachet J., Ficq A., 1956, Arch. Biol. 67: 431.
Caspersson T. O., 1941, Naturwiss. 28: 33.
Fautrez J., Fautrez-Firlefyn N., 1953, Nature 172: 119.
Fautrez J., Roels H., 1954, Arch. Biol. 65: 459.
Ficq A., 1955, Arch. Biol., 66: 509.
Ficq A., Errera M., 1955, Biochim. Bioph. Acta 16: 45.
Goldstein L., Plaut W., 1955, Proc. Natl. Ac. Sci. 41: 874.
Guttman R., 1956, Chromosoma 8: 341.
Guttman R., 1957, J. Bioch. Bioph. Cytology 3: 129.
Kay B. R. M., Smellie R. M. S., Humphrey G. F., Davidson J. N., 1956, Biochem. J. 62: 160.
Lison L., Pasteels J., 1950, Bull. Acad. roy. Belg. Cl. d. Sc. 36: 348.
Logan R., 1957, Biochim. Bioph. Acta 26: 227.
Logan R., Davidson J. N., 1957, Biochim. Bioph. Acta 24: 196.
Miller C., Skoog F., Saltza N., Strong F., 1955, J. Amer. Chem. Soc. 77: 1392.
Miller C., Skoog F., Okumura F., Saltza N., Strong F., 1955, J. Amer. Chem. Soc. 77: 2662.
Olszewska M. J., 1959, Experim. Cell Res. 16: 193.
Pisi E., Cavalli G., 1955, Arch. Biol. 66: 437.
Prescott D. M., 1957, Experim. Cell Res. 12: 196.
Supniewski J., Bany T., 1956, Bull. Ac. Sc. Pol. ser. biol. 4: 361.
Vanderhaeghe-Hougardy F., 1957, Thèse Doctorat, Université libre de Bruxelles.
Vincent W. S., 1957, Science 126: 306.

Wyciąg z porostu *Cetraria islandica* inhibitorem wirusa mozaiki tytoniowej

An extract from the lichen Cetraria islandica as an inhibitor of TMV

W. MOYCHO, M. GUBAŃSKI, A. RENNERT

WSTĘP

Reprodukcja wirusów roślinnych jest hamowana przez wiele związków syntetycznych oraz wyizolowanych z różnych organizmów. Do związków syntetycznych należą między innymi pochodne puryn: azoguanina, amino-adenina oraz pirymidyn: tiouracyl (Kassanis a. Bawden 1954, Matthews 1955). Mechanizm działania tych związków w świetle badań Matthews a (1955) polega na sterylizacji kwasu nukleinowego wirusów wywołanej wniknięciem antymetabolitów zasad. Inne związki, takie jak zieleń malachitowa (Takahashi 1948), tiosemikarbazon (Tokuzo Hirai 1958), kwas naftalenooctowy (Kutsky a. Rowlands 1950, Kutsky 1952), pochodne karbamatu (Porter, Smale, Preston, Mitchell 1957), hamują reprodukcję wirusów w bardzo małych stężeniach. Mechanizm działania tych związków nie jest dobrze poznany, dotychczasowe badania jednak wskazują, iż działają one na wirusy poprzez metabolizm rośliny.

Występowanie inhibitorów wirusowych stwierdzono w ekstraktach z różnych roślin zarówno wyższych, jak i niższych. Wśród roślin wyższych wyciągi osobliwie z liści szpinaku i buraka (Grant 1934) odznaczają się silnym działaniem antywirusowym. Rośliny niższe, jak grzyby, zawierają dość często substancje tego typu. Price i Gupta (1950) stwierdzili u 10 spośród 49 przebadanych gatunków grzybów występowanie substancji antywirusowych. Większość z nich działa inaktywująco na wirusy tylko *in vitro*, rzadko natomiast *in vivo*. Bawden i Freeman (1952)

wyizolowali z kultur grzyba *Trichothecium roseum* inhibitory: trichotecinę o wzorze cząsteczkowym $C_{19}H_{24}O_5$ oraz wielocukier, którego głównym składnikiem jest d-galaktoza, natomiast Kassanis i Kleczkowski (1948) z rośliny *Phytolacca esculenta* (Rodz. *Phytolacaceae*) glikoproteid.

Przykładem związków hamujących reprodukcję wirusów *in vivo* są wyizolowane przez Graya (Gray 1957, Kutsky a. Rawlins 1950) z kultur grzyba *Nocardia noformica* — noformicyna oraz ze *Streptomyces* sp. — cytowiryna. Podobnie działające związki stwierdzili Slagle i wsp. (1954) w kulturze grzyba *Neurospora*.

Jak widać z podanych przykładów, inhibitory wirusowe są rozpowszechnione w świecie roślinnym.

Swoistą grupę roślin stanowią porosty, w których stwierdzono związki działające antybiotycznie na drobnoustroje, natomiast nie spotyka się danych dotyczących występowania w nich inhibitorów wirusowych.

W pracy niniejszej stwierdzono obecność inhibitora wirusa mozaiki tytoniowej w poroście płucnica islandzka (*Cetraria islandica*).

METODYKA

Zawiesinę wirusa otrzymywano w następujący sposób: 2 g liści *Nicotiana tabacum* z dobrze zaznaczoną mozaiką (zakażonych co najmniej 3 tygodnie przed doświadczeniem) rozcierano w moździerzu wobec 30 ml 1 M buforu fosforanowego o pH ca 7. Następnie odwirowywano przy 2000 g do otrzymania klarownej zawiesiny WMT.

Inhibitor ekstrahowano z płucnicy islandzkiej następująco: sproszkowaną plechę porostu zalewano buforem fosforanowym (pH ca 8) w stosunku 10 ml/g poddając ekstrakcji przez jedną dobę. Po odsączeniu otrzymywano klarowny, lekko kwaśny wyciąg o barwie mocnej herbaty.

Aktywność wirusa oznaczano na liściach *Nicotiana glutinosa* hodowanej w szklarni. W tym celu połówki liściowe, względnie całe liście, zakażono zawiesiną wirus-antybiotyk przez wcieranie tamponem z waty, po uprzednim posypaniu liści karborundem. Liście kontrolne traktowano zawiesiną wirusa o tym samym stężeniu, ale bez inhibitora.

W innej serii doświadczeń spryskiwano całe liście inhibitorem, a zakażano je WMT dopiero po upływie określonego czasu (kilka lub kilkanaście godzin). Uwzględniono także kombinację odwrotną: zakażone już wirusem liście spryskiwano inhibitorem po krótszym lub dłuższym okresie czasu. Przy badaniu własności inhibitora porostowego poddawano go działaniu temperatury 60—100—120°, a także dializowano w woreczku celofanowym w ciągu 24 godzin.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

W doświadczeniach wstępnych z lipca 1957 roku można było stwierdzić, że zawiesina WMT w buforze fosforanowym o pH ca 6,5 pozostawiona przez 24 godziny w obecności wyciągu z *Cetraria islandica* ulega całkowitej inaktywacji.

Stosunek zawiesiny wirusowej do wyciągu porostowego wynosił 1 : 1. Aktywność wirusa mierzono ilością nekroz powstałych na liściach *Nicotiana glutinosa*. Wyniki te ilustruje tabela 1. Istotnie, jak wynika z tych

Tabela 1

Działanie wyciągu z *Cetraria islandica* na aktywność WMT, *in vitro*
Influence of extract from *Cetraria islandica* on activity of TMV *in vitro*

	Kontrola Control	Wirus + inhibitor Virus + inhibitor
Suma nekroz na 8 po- łówkach liści	357	0
Number of necroses on 8 halves of leaves		

doświadczeń, po 24 godzinach działania inhibitor całkowicie inaktywuje WMT. Na 8 połówkach kontrolnych powstało łącznie nekroz 357, podczas gdy na tej samej ilości poówek doświadczalnych nie powstała ani jedna nekroza.

Celem następnego doświadczenia było określenie ewentualnej zależności między stężeniem wyciągu z badanego porostu a stopniem inaktywacji WMT. W tym celu wyjściowy roztwór inhibitora rozcieńczano buforem fosforanowym w stosunku 1 : 10, 1 : 100, 1 : 500. Roztworami tymi działano na WMT *in vitro* w ciągu kilku godzin. Aktywność wirusa oznaczano jak poprzednio. Wyniki doświadczeń załączono w tabeli 2.

Tabela 2

Działanie wyciągu z *Cetraria islandica* na WMT w zależności
od rozcieńczenia

Action of different dilutions of the extract from
Cetraria islandica on TMV

	Kontrola Control	Rozcieńczenia wyciągu Dilution of the extract			
		1 : 500	1 : 100	1 : 10	1 : 1
Suma nekroz na 6 liściach	976	351	265	63	4
Number of necro- ses on 6 leaves					

Z doświadczeń wynika, że rozcieńczenie zmniejsza siłę działania inhibitora, jednak w stopniu stosunkowo nieznacznym. Załączone zdjęcie (ryc. 1) przedstawia jedną z sześciu serii przeprowadzonych doświadczeń.



Ryc. 1. Działanie wyciągu z *Cetraria islandica* na WMT w zależności od rozcieńczenia
Action of *Cetraria islandica* extract on TMV according to dilution

K — Liść zakażony zawiesiną WMT rozcieńczoną w stosunku 1:1 buforem fosforanowym. Pozostałe liście zakażono zawiesiną WMT z odpowiednio rozcieńczonym inhibitorem

K — Leaf infected with suspension of TMV diluted in proportion 1:1 with phosphate buffer. Remaining leaves were infected with suspension of respectively diluted inhibitor

W dotychczasowych doświadczeniach inaktywację WMT przeprowadzano *in vitro*. W celu wyjaśnienia, czy badany inhibitor może *in vivo* zabezpieczyć roślinę przed zakażeniem wirusowym, wykonano następujące doświadczenie: całe liście *Nicotiana glutinosa* spryskiwano inhibitorem, a po upływie 3 i 20 godzin zakażono zawiesiną wirusa. Analogiczne doświadczenie uwzględniało kombinację odwrotną: uprzednio zakażone liście spryskiwano inhibitorem po upływie 10 i 30 minut oraz 3 i 20 godzin. Wyniki zamieszczono w tabeli 3.

Rośliny potraktowane antybiotykiem 20 godzin przed doświadczeniem wykazują minimalną ilość nekroz w porównaniu z kontrolą, co świadczy o silnej inaktywacji wirusa. Efekt ten jest słabszy, aczkolwiek jeszcze uchwytany w przypadku liści spryskanych inhibitorem 20 godzin po zakażeniu. Kombinacje: antybiotyk 20 godzin przed zakażeniem i 20 godzin po zakażeniu ilustruje zdjęcie (ryc. 2).

Wynika stąd, że inhibitor występujący w *Cetraria islandica* wybitnie osłabia rozwój WMT w liściach *Nicotiana glutinosa*, zwłaszcza o ile jest stosowany przed zakażeniem. Działanie jego słabnie przy stosowaniu po dłuższym czasie od zakażenia (20 godzin), a więc wówczas, gdy zawirusowanie rośliny jest silniejsze. Podobne zjawisko obserwowano wielokrotnie (Bawden a. Freeman 1952, Gray 1955, 1957, Mathews 1955), przy czym mechanizm działania inhibitora tłumaczono w dwojaki sposób:

1. Inhibitor działa bezpośrednio na wirusa *in vitro* bądź na receptory wirusowe w trakcie jego przenikania do komórki. Koncepcja ta tłumaczyłaby zjawisko słabnięcia wpływu inhibitora na rozwój wirusa w miarę



Ryc. 2. Działanie inhibitora z *Cetraria islandica* na WMT *in vivo* 20 godzin przed i 20 godzin po zakażeniu

Action of inhibitor from *Cetraria islandica* *in vivo* on TMV 20 hours before and 20 hours after infection

1 — Liść spryskany inhibitorem 20 godzin przed zakażeniem; 2 — liść spryskany inhibitorem 20 godzin po zakażeniu; 3 — kontrola

1 — Leaf sprayed with inhibitor 20 hours before infection; 2 — Leaf sprayed with inhibitor 20 hours after infection; 3 — Control

Tabela 3

Działanie wyciągu z *Cetraria islandica* na WMT *in vivo*
Action of extract from *Cetraria islandica* on TMV *in vivo*

	Kontrola Control	1	2	3	4	5
Suma nekroz na 6 liściach	513	11	51	84	79	209
Number of necroses on 6 leaves						

1 — Liście spryskane: 20 godzin przed zakażeniem; 2 — 10 minut po zakażeniu; 3 — 30 minut po zakażeniu; 4 — 3 godziny po zakażeniu; 5 — 20 godzin po zakażeniu

1 — Leaves sprayed: 20 hours before infection; 2 — 10 minutes after infection; 3 — 30 minutes after infection; 4 — 3 hours after infection; 5 — 20 hours after infection

upływu czasu od zakażenia (Bawden a. Freeman 1952, Kassanis a. Bawden 1954).

2. Inhibitor działa na wirusa pośrednio przez metabolizm roślinny hamując procesy prowadzące do syntezy wirusa. W tym przypadku inhibitory hamują reprodukcję wirusa również po dłuższym czasie od zakażenia (Gray 1955, 1957, Slagle i wsp. 1954).

Doświadczenia nasze mogłyby nasuwać pewne zastrzeżenia, czy działanie inhibitora na rozwój wirusa zachodzi wewnątrz liścia, czy też na jego powierzchni. Aby to wyjaśnić, liście spryskiwano inhibitorem od strony dolnej, wirusa natomiast wprowadzano poprzez górną stronę liścia. Dla porównania wykonano analogiczne doświadczenie stosując inhibitor razem z wirusem od góry. W obu przypadkach otrzymano bardzo podobne wyniki.

Ze względu na powyższe wyniki oraz na możliwość obecności w wyciągu kilku związków czynnych w stanie obecnym, nie można ściśle określić mechanizmu działania inhibitora z *C. islandica*. Jednak nasuwa się prosty wniosek, że badany inhibitor inaktywuje wirusa nie tylko *in vitro*, lecz także wewnątrz liścia podobnie jak noformicyna i cytowiryna wyizolowane z kultur grzybowych przez Graya.

W świetle powyższych badań stwierdzić można wyraźne, hamujące działanie fosforanowego wyciągu z *Cetraria islandica* na reprodukcję WMT. Wyodrębnienie aktywnej substancji będzie przedmiotem dalszych badań. Na razie można zaznaczyć, że działanie temperatury 60—120° nie osłabia aktywności inhibitora, o czym świadczą wyniki zawarte w tabeli 4.

Tabela 4

Wpływ temperatury na aktywność inhibitora z *Cetraria islandica*
Influence of temperature on activity of the inhibitor from *Cetraria islandica*

	Kontrola Control	Podgrzewanie przez 15' Heating within 15'		
		60°	100°	120°
Suma nekroz na 10 liściach	542	14	16	21
Number of necro- ses on 10 leaves				

48-godzinna dializa zmniejsza aktywność badanego inhibitora o około 40% (tab. 5).

Doświadczenia te wykazują, że czynnik działający na wirusa jest termostabilny i ulega częściowej dializie. Nasuwa się przypuszczenie, że sub-

stancją aktywną w wyciągu z *Cetraria islandica* mogą być kwasy porostowe. Dla sprawdzenia powyższej hipotezy wykonano doświadczenie z kwasami porostowymi otrzymanymi metodą K l o s y (cytowaną przez Mordarskiego 1955). 0,1% roztwór tej substancji działa na WMT

Tabela 5

Wpływ dializy na aktywność inhibitora z *Cetraria islandica*
Influence of dialise on *Cetraria islandica* inhibitor activity

	Kontrola Control	Wyciąg dializowany + WMT Dialized extract + TMV
Suma nekroz na 10 liściach Number of necro- ses on 10 leaves	1875	718

po 4-godzinnym okresie inaktywacji następująco: na 7 polówkach kontrolnych otrzymano nekroz 408, na 7 doświadczalnych 121. Wyniki te mogą przynajmniej częściowo potwierdzić zależność antywirusowego działania wyciągu z płucnicy islandzkiej od obecności kwasów porostowych.

WNIOSKI

1. Metodą nekroz miejscowych na liściach *Nicotiana glutinosa* stwierdzono w poroście *Cetraria islandica* występowanie inhibitora względem WMT.

2. Buforowy wyciąg z *Cetraria islandica* (1 g suchego porostu na 10 ml buforu) rozcieńczony w stosunku 1:500 wykazuje jeszcze dość silną aktywność anty WMT.

3. Inhibitor ten stosowany przed zakażeniem chroni *Nicotiana glutinosa* przed powstawaniem nekroz, natomiast stosowany po zakażeniu redukuje tylko ilość powstających nekroz.

4. Próby wstępne dotyczące natury badanego inhibitora wskazują, iż jest on odporny na temperaturę 120° oraz że wykazuje częściowe osłabienie aktywności wskutek dializy.

5. Wydaje się prawdopodobne, iż działanie wyciągu z *Cetraria islandica* na WMT jest związane przynajmniej częściowo z obecnością kwasów porostowych.

STRESZCZENIE

W pracy niniejszej badano działanie na wirusa mozaiki tytoniowej wyciągu z porostu *Cetraria islandica*. Wyciąg ten otrzymywano na drodze 24-godzinnej ekstrakcji sproszkowanego porostu buforem fosforanowym o pH ca 8, w temperaturze pokojowej. Aktywność WMT określano na liściach *Nicotiana glutinosa* metodą nekroz miejscowych.

WMT zmieszany z wyciągiem porostowym nie wykazuje żadnej aktywności: na 6 połówkach kontrolnych powstało nekroz 357, na doświadczalnych 0. Inhibitor wyjściowy rozcieńczony w stosunku 1:500 hamuje znacznie aktywność wirusa. Inhibitor stosowany przed zakażeniem chroni roślinę (*Nicotiana glutinosa*) przed powstawaniem nekroz. To samo osiągnięto spryskując liście inhibitorem 10' po zakażeniu. W miarę upływu czasu od chwili zakażenia wpływ inhibitora na WMT maleje. Wykazano, iż czynnik działający na WMT jest odporny na temperaturę 120° przez 15' oraz zmniejsza swą aktywność wskutek dializy. 0,1% roztwór kwasów porostowych otrzymanych metodą Kłosa zmniejsza ilość nekroz czterokrotnie w porównaniu z kontrolą.

Wydaje się prawdopodobne, iż działanie wyciągu z *C. islandica* na WMT pozostaje w związku z obecnością kwasów porostowych.

(Wpłynęło dn. 3.10.1958 r.)

Zakład Fizjologii Roślin U. Ł.

Kierownik: prof. dr W. Moycho

SUMMARY

The action of an extract, from *Cetraria islandica* lichen, on Tobacco Mosaic Virus has been studied. The extract under discussion was produced by means of 24-hours extraction of pulverized lichen with phosphate buffer, of pH ca 8, in room temperature. To determine the activity of TMV on *Nicotiana glutinosa* leaves the method of local lesions was applied.

TMV mixed with the lichen extract shows no activity: on 8 control half-leaves 357 lesions took place and on the experimental ones no one appeared. The initial inhibitor, diluted in proportion 1:500 remarkably restrains the virus activity. When used before infection it shields the plant from local lesions. Just the same effect was achieved by spraying leaves with the inhibitor at ten minutes after infection. In course of time after infection the influence of inhibitor on TMV grows less and less. It was found that the factor acting on TMV is resistant against temperature of 120 centigrades, within 15 minutes, and decreases its activity due to dialize. 0,1% (per cent) solution of lichen acids, received by Kłosa's method, decreases the number of lesions 4 times in comparison with the number in controls.

The action of *Cetraria islandica* extract on TMV is supposedly in connection with the presence of lichen acids in it.

LITERATURA

- Bawden F. C., a. Freeman G. G., 1952, J. Gen. Microbiol. 7: 154.
Grant T., 1934, Phytopath. 24: 311 (cyt. przez Suchową).
Gray R. A., 1955, Phytopath. 45: 281.
Gray R. A., 1957, Plant Dis. Repr. 41: 576.
Kutsky R. J., a. Rawlins T. E., 1950, J. Bact. 60, 763.
Kutsky R. J., 1952, Science 115: 19.
Kassanis B., a. Bawden F. C., 1954, J. Gen. Microbiol. 10: 160.
Kassanis B., a. Kleczkowski A., 1948, J. Gen. Microbiol. 2: 143.
Mathews R. E. F., 1955, Discovery 16: 421.
Mordarski M., 1955, Post. Hig. Med. Dośw. 9: 181.
Porter F. M., Smale B. C., Preston W. H. a. Mitchell J. W., 1957, Phytopath. 47: 3.
Price W. T. a. Gupta B. M., 1950, Phytopath. 40: 23.
Slagle C. W., Wolcyz S. a. Price W. C., 1954, Phytopath. 42: 240.
Suchow K. S., 1956, Wirusy, Moskwa.
Takahashi W., 1948, Science 107.
Tokuzo Hirai, Toru Shimomura, Yonosuke Nishikawa, 1958, Nature 181: 352.

*

Dalsze badania wykazały obecność inhibitorów WMT również w innych porostach (*Evernia prunastri*, *Xantoria parietina*, *Parmelia furfuracea*, *Parmelia phylloides*, *Ramalina* sp.). Materiały te zostaną opublikowane później.

WARUNKI PRENUMERATY

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“, we Wzorcowni ORWN PAN, oraz we Wzorcowni PWN.

Informacji w sprawie sprzedaży egzemplarzy z poprzednich lat udziela Centrala Kolportażu Prasy i Wydawnictw „Ruch“, Dział Handlowy, Warszawa, ul. Srebrna 12.

PLACÓWKI „RUCHU“

Warszawa, ul. Nowopiękna 3
Warszawa, ul. Nowy Świat 72,
Pałac Staszica
Warszawa, ul. Wiejska 14
Białystok, ul. Lipowa 1
Bielsko-Biała, skl. nr 1, ul. Lenina 7
Bydgoszcz, ul. Armii Czerwonej 2
Bytom, skl. nr 39, Pl. Kościuszki
Chorzów, ul. Wolności 54
Ciechocinek, kiosk nr 4 „Pod
Grzybkiem“
Częstochowa, II Aleja 26
Gdańsk, ul. Długa 33/34
Gdynia, ul. Świętojańska 9
Gliwice, ul. Zwycięstwa 47
Gniezno, ul. Mieczysława 31
Grudziądz, ul. Mickiewicza,
sklep nr. 5
Inowrocław, ul. Marchlewskiego 3
Jelenia Góra, ul. 1-go Maja 1
Kalisz, ul. Śródmiejska 3
Katowice Zach., ul. 3-go Maja 28
Kielce, ul. Sienkiewicza 22
Koszalin, ul. Zwycięstwa 38
Kraków, Rynek Główny 32
Krynica, Stary Dom Zdrojowy

Lublin, Krak. Przedmieście 72
Nowy Sącz, ul. Jagiellońska 10
Łódź, ul. Piotrkowska 200
Olsztyn, Pl. Wolności (kiosk)
Opole, Rynek, sklep nr. 76
Ostrów Wlkp., ul. Partyzancka 1
Płock, ul. Tumska, kiosk nr 270
Poznań, ul. Dzierżyńskiego 1
Poznań, ul. Głogowska 66
Poznań, ul. 27-go Grudnia 4
Przemyśl, Pl. Konstytucji 9
Radom, ul. Moniuszki 5
Rzeszów, ul. Kościuszki 5
Sopot, ul. Monte Cassino 32
Sosnowiec, ul. 22-go Lipca 30
Szczecin, Al. Piastów, róg Jagiell.
Toruń, Rynek Staromiejski 9
Wałbrzych, ul. Wysockiego obok
Pl. Grunwaldzkiego
Wrocław, Pl. Wolności, róg
ul. 3 Maja
Wrocław, Pl. Kościuszki, kiosk nr 9
Zabrze, Pl. 24-go Stycznia, pkt. nr 50
Zakopane, ul. Krupówki 51
Zielona Góra, ul. Świerczewskie-
go 38

KSIEGARNIE NAUKOWE „DOM KSIĄŻKI“

Warszawa, ul. Krak. Przedm. 7
Kraków, ul. Podwale 6
Łódź, ul. Piotrkowska 102a
Poznań, ul. Armii Czerwonej 69
Wrocław, Rynek 60

Ośrodek Różpowszechniania Wydawnictw Naukowych PAN

Warszawa, Pałac Kultury i Nauki (Wzorcownia)

Wzorcownia PWN, Warszawa, ul. Młodowa 10

Cena zł 35.-