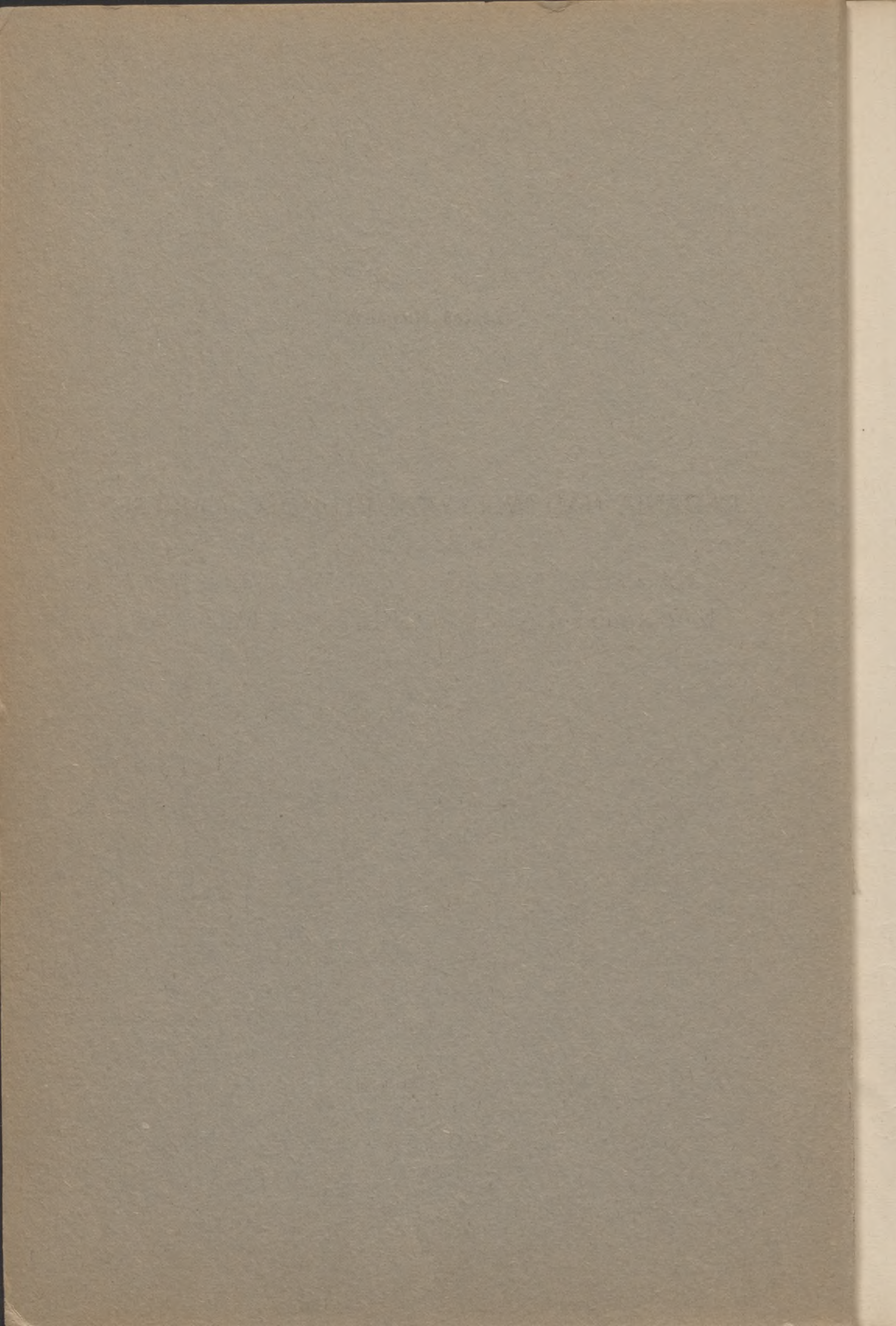
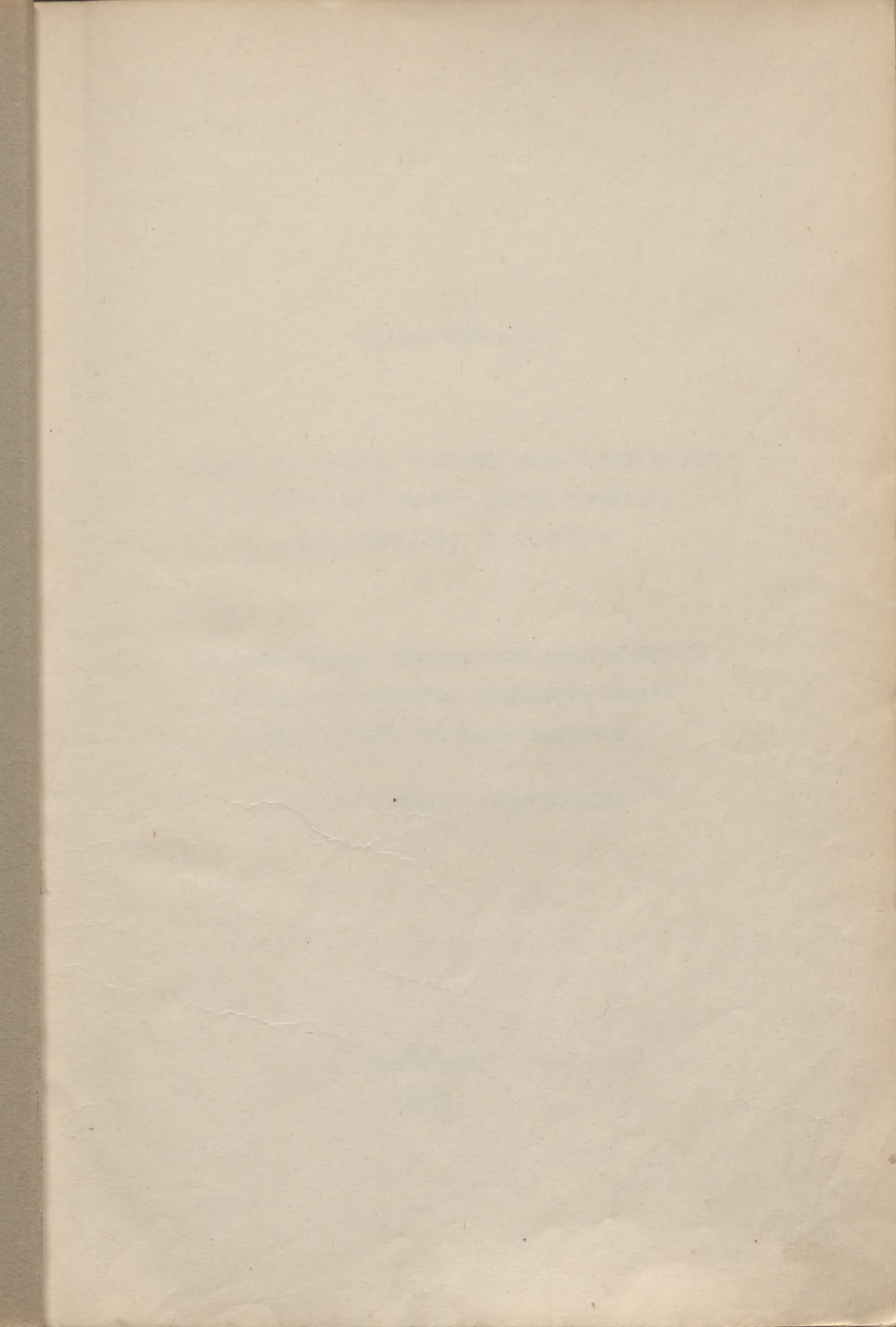


Leszek Michalski

BADANIA NAD WPŁYWEM DŁUGOŚCI OKRESU
ŚWIETLNEGO
NA POZIOM REGULATORÓW WZROSTU
U ROŚLINY DNIA KRÓTKIEGO I DŁUGIEGO

TORUŃ
1960





Leszek Michalski

BADANIA NAD WPLIWEM DŁUGOŚCI OKRESU ŚWIETLNEGO
NA POZIOM REGULACJĘ WZROSTU U ROŚLINY
DNIA KRÓTKIEGO I DŁUGIEGO

Praca na stopień doktora nauk przyrodniczych
wykonana w Zakładzie Fizjologii Roślin
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika

Promotor - Doc. Dr M. Michalewicz

T o r u ń

1964.

Kierownikowi Zakładu Fizjologii Roślin UMK

Panu Doc.Dr M.Michniewiczowi

za wskazówki i okazaną pomoc składam naj-
serdeczniejsze podziękowania

S P I S T R E Ś C I
=====

BA

| | |
|---|--------|
| I. W s t ę p | str. 1 |
| II. M e t o d y b a d a ń | " 21 |
| 1. M a t e r i a ł | ? 21 |
| 2. W a r u n k i u p r a w y r o ś l i n d o ś w i a d c z a l n y c h | " 22 |
| 3. E k s t r a k c j a r e g u l a t o r ó w w z r o s t u z m a t e r i a ł u r o ś l i n n e g o | " 26 |
| 4. T e c h n i k a r o z d z i e l a n i a r e g u l a t o r ó w w z r o s t u | " 29 |
| A. C h r o m a t o g r a f i a | " 29 |
| B. E l e k t r o f o r e z a | " 31 |
| 5. I d e n t y f i k a c j a r e g u l a t o r ó w w z r o s t u | " 33 |
| A. A n a l i z a b i o l o g i c z n a | " 33 |
| B. A n a l i z a f l u o r e s c e n c y j n a | " 35 |
| C. W y w o ł y w a n i e | " 35 |
| D. S u b s t a n c j e w z o r c o w e | " 36 |
| III. W y n i k i b a d a ń | " 38 |
| 1. W p ł y w r ó ż n y c h f o t o p e r i o d ó w n a w z r o s t i r o z - w ó j r o ś l i n | " 38 |
| A. R o ś l i n a d n i a k r ó t k i e g o / <i>Perilla ocimoides</i> L. / | " 38 |
| a/ W p ł y w k r ó t k i e g o f o t o p e r i o d u | " 38 |
| b/ W p ł y w d ł u g i e g o f o t o p e r i o d u | " 38 |
| c/ W p ł y w z m i e n i a n e g o f o t o p e r i o d u | " 39 |
| B. R o ś l i n a d n i a d ł u g i e g o / <i>Calendula officinalis</i> L. / | " 40 |
| a/ W p ł y w d ł u g i e g o f o t o p e r i o d u | " 40 |
| b/ W p ł y w k r ó t k i e g o f o t o p e r i o d u | " 40 |
| c/ W p ł y w z m i e n i a n e g o f o t o p e r i o d u | " 41 |
| 2. W p ł y w r ó ż n y c h f o t o p e r i o d ó w n a p o z i o m r e g u l a - t o r ó w w z r o s t u | " 42 |

| | |
|---|----------|
| A. Roślina dnia krótkiego / <i>Perilla ocimoides</i> L./ | str.42 |
| a/ Wpływ krótkiego fotoperiodu | " 42 |
| b/ Wpływ długiego fotoperiodu | " 44 |
| c/ Wpływ zmienianego fotoperiodu | " 47 |
| B. Roślina dnia długiego / <i>Calendula officinalis</i> L./ | " 48 |
| a/ Wpływ długiego fotoperiodu | " 48 |
| b/ Wpływ krótkiego fotoperiodu | " 51 |
| c/ Wpływ zmienianego fotoperiodu | " 53 |
| 3. Identyfikacja indolo-pochodnych regulatorów wzrostu w roślinach wegetujących w różnych warunkach fotoperiodycznych | " 55 |
| A. Roślina dnia krótkiego / <i>Perilla ocimoides</i> L./ | " 56 |
| a/ Krótki fotoperiod | " 56 |
| b/ Długi fotoperiod | " 60 |
| c/ Zmieniany fotoperiod | " 63 |
| B. Roślina dnia długiego / <i>Calendula officinalis</i> L./ | " 66 |
| a/ Długi fotoperiod | " 67 |
| b/ Krótki fotoperiod | " 70 |
| c/ Zmieniany fotoperiod | " 72 |
| IV. Omówienie wyników | " 77 |
| V. Wnioski | " 91 |
| VI. Literatura | " 93 |

I. W S T E P

Procesy prowadzące do wytworzenia organów reproduktywnych nie są jeszcze dostatecznie poznane. U większości roślin, przejście do reprodukcji zachodzi tylko przy pewnych sprzyjających warunkach. Czynnikiem stwarzającymi te warunki są przede wszystkim światło i temperatura.

Pierwszą wzmiankę o decydującym wpływie światła na rozwój roślin spotykamy w pracy J. I n g e n - H a u s z a /177/ /199/, a H e n f r e y /1852/ /152/ pierwszy sformułował twierdzenie, "że długość dnia jest naturalnym czynnikiem wpływającym na rozmieszczenie geograficzne roślin". Szczególnie śmiało, na owe czasy, jest stwierdzenie S a c h s a /1864/ /152/, który wysunął przypuszczenie, że w zależności od długości dnia tworzą się w roślinie bliżej nieznanne substancje powodujące kwitnienie. Zbyt wczesne koncepcje S a c h s a rychło zostały zapomniane. Dopiero druga połowa XIX wieku, charakteryzująca się wzrostem zainteresowań botaniką eksperymentalną, przynosi szereg prac, w których zresztą ubocznie, stwierdza się wpływ długości dnia na zakwitanie roślin / S c h ü b e l e r 1880, K j e l l m a n 1885, B a i l l e y 1891, B o h n i e r 1895/152 /.

Żywiołowy wprost rozwój badań nad wpływem światła na rośliny wnosi dopiero wiek XX. Wymienić tu należy przede wszystkim prace M a c D o u g a l a /1903/ /52/, który w doświadczeniach prowadzonych nad zjawiskiem etiolacji doszedł do wniosku, że wzrost i rozwój są dwoma odrębnymi procesami.

Znaczenie światła dla procesów rozwojowych rośliny stwierdzają w tym czasie T o u r n o i s 1912/ /152/ i K l e b s /1913/ /152/, według którego "światło nie działa jako czynnik odżywiający lecz bardziej katalitycznie".

Pierwsze systematyczne i metodyczne badania nad wpływem długości dnia i nocy - następstwa światła i ciemności na zakwitanie roślin, zawdzięczamy G a r n e r o w i i A l l a r d o w i /1920/-- /. Sformułowali oni pojęcie f o t o - p e r i o d y z m u , jako fizjologicznej reakcji rośliny na długość dnia w postaci przejścia z fazy rozwoju wegetatywnego w fazę reproduktywną. Wprowadzili też specjalną terminologię dotyczącą tych zjawisk: f o t o p e r i o d , f o t o p e r i o d y z m , która przyjęła się powszechnie.

Według obecnych sformułowań / R y l s k a i W i s z o c k a 1956/, "fotoperiodyzm jest to zależność rozwoju organizmu od następujących po sobie okresów /periodów/ światła i ciemności", fotoperiod jest to natomiast "długość jednorazowego naświetlania wyrażona w jednostkach czasu".

Badania G a r n e r a i A l l a r d a dały podstawę do podziału roślin na cztery zasadnicze grupy w zależności od ich reakcji fotoperiodycznej.

Rozróżnia się więc rośliny kwitnące podczas dnia krótkiego, trwającego od 8 - 12 godz. / r o ś l i n y d n i a k r ó t k i e g o / np.: *Perilla ocimoides*, *Kalanchoe blossfeldiana* i in. Rośliny kwitnące podczas dnia długiego, trwającego od 14 - 18 godz. określa się jako r o ś l i n y d n i a d ł u g i e g o - np.: *Hyoscyamus niger*, *Calendula officinalis* i in. Osobną grupę tworzą rośliny o b o j ę t n e , na których kwitnienie nie wpływa długość dnia. Do nich należą np. *Mirabilis jalapa*, *Phaseolus vulgaris* i in.

Wreszcie G a r n e r i A l l a r d /1923/, a także S c h i e wyróżniają grupę roślin pośrednich nie kwitnących gdy okres świetlny jest krótszy od 12 godz. lub dłuższy od 16 godz. Są to np.: *Mikania scandens*, *Phaseolus polystachyus* i in.

Podział ten jest nieco sztuczny i upraszczający zawile zagadnienie reakcji rośliny na rytm światła i ciemności. Istnieją bowiem rośliny np. *Campanula medium*, *Bryophyllum daigemontanum* i in., które kwitną dopiero po zadziałaniu zmiennym fotoperiodem krótkim i długim a także stosowanym odwrotnie. /W e l l e n s i e k 1952, van der V e e n i M e i j e r 1958/.

Poza tymi typami roślin, które reagują "jakościowo" kwitnąc tylko po zadziałaniu określoną długością dnia lub ich zmiennymi warunkami są także rośliny, które reagują na fotoperiod "ilościowo". Kwitną one tak samo przy dniu długim jak i przy krótkim, lecz przy jednym z nich kwitnienie następuje szybciej niż przy drugim /np. *Cosmea*/.

Czynnikiem warunkującym przejście rośliny w fazę generatywną jest także odpowiednia temperatura. Posiada ona również znaczenie w czasie reagowania rośliny na światło. Ten złożony wpływ okresów światła-ciemności i wahań temperatury znany jest pod nazwą *fototermoperiodyzmu* /W e n t 1945/. Zagadnienie to badano wszechstronnie /T h o m p s o n 1933, P o s t 1934, 1939, C z a j ł a c h i a n 1954 /31/, S t e i n b e r g i G a r n e r 1936, R o b e r t s i S t r u c k m e y e r 1938, H e a t h 1943, S i v o r i i W e n t 1944, P a r k e r i B e t h w i c k 1943, W y c h e r l e y 1952, G a r n e r i L o o m i s 1953, V e g i s 1953 i in./

Wymagania fototermoperiodyczne roślin są niewątpliwie związane z ich pochodzeniem geograficznym, co zostało podkreślone przez wielu autorów /A d l e r 1940, D o r o s z e n k o i R a z u m o w 1929/, M a k s i m o w 1930, S c h i c

1932 i in. To przystosowanie roślin w naturze, do odpowiedniej długości dnia w zależności od położenia geograficznego, nazywają Lubimienko i Szczegłowa /1951/ fotoperiodyczną adaptacją. Autorzy ci jak i Egisz /1951/ zaobserwowali, że czas określonego optymalnego fotoperiodu niekoniecznie musi obejmować dany okres wegetacji. Dla wywołania efektu kwitnienia wystarczy tylko pewna określona liczba bezpośrednio po sobie następujących fotoperiodów krótkich czy długich w zależności od typu rośliny. Aby proces kwitnienia samoczynnie postępował wystarczy go zainicjować. Te wewnętrzne zmiany w metabolizmie roślinnym wywołane odpowiednimi fotoperiodami i następstwem światła i ciemności nazwano indukcją fotoperiodyczną /Lubimienko i Szczegłowa 1931/.

W licznych doświadczeniach wykazano, że akceptorami indukcji są liście /Moszkow 1936, Czajłachian 1936, Borthwick i Parker 1938, Hamner i Bonner 1938/. Rola liścia w reakcji fotoperiodycznej, jest więc ustalona i bezsporna bowiem stosowanie właściwego fotoperiodu na inne części zielone rośliny nie dało żadnego efektu. Zdolność liści do percepcji bodźców fotoperiodycznych jest skomplikowana. Liście bowiem hamują indukcję jeżeli same jej nie podlegają. Jeżeli część liści rośliny dnia krótkiego otrzyma właściwy dla siebie krótki fotoperiod, a druga część długi, to te ostatnie zahamują indukcję fotoperiodyczną wywołaną przez liście, na które działano krótkim fotoperiodem przyspieszającym kwitnienie rośliny. Interesującym faktem jest, że kwitnienie można także wywołać po indukowaniu jednego pozostawionego liścia a nawet jego części, po uprzedniej defoliacji rośliny /Moszkow 1952/.

Do wywołania efektu indukcji wystarcza światło już o bardzo słabym natężeniu odpowiadającym wg W i t h r o w a i B e n e d i c t a /1936/ 0,1 f.c. /świecy stop./ Autorzy ci wykazali, że do skuteczności fotoperiodu jest potrzebne to minimum energii świetlnej, reszta fotoperiodu może być uzupełniona światłem nawet tysiąckrotnie słabszym niż natężenie potrzebne do normalnej wegetacji.

Jak wynika z powyższych danych, dla zapewnienia normalnej wegetacji rośliny, konieczna jest dostatecznie duża intensywność światła bez względu na to, czy to jest światło słoneczne, czy też sztuczne / S t e i n b e r g 1931 /152/, G a r n e r 1936, H a r d e r, F a b i a n i D e n f f e r 1937, W e n t 1945, K u d r i a w c e w 1948, M u r n e e k 1948, S a m y g i n 1948 a,b,c, R u g e 1958, N u e r n b e r g k 1959/. Według F a b i a n a /1938/, zwiększenie intensywności oświetlenia przyspiesza kwitnienie jednak tylko do pewnej granicy, po przekroczeniu której dalsze zwiększanie intensywności promieniowania nie będzie już miało takiego wpływu.

Duże znaczenie w reakcji fotoperiodycznej, zwłaszcza w warunkach eksperymentalnych, ma także skład jakościowy widma świetlnego / B o r t h w i o k, P a r k e r i H e n d r i o k s 1948, W a s s i n k i S t o l w i j k /1956/. Według R a z u m o w a /1933/ i W i t h r o w a i w s p ó ł p r a c. /1936 a,b, 1940/ promieniowanie czerwone bardzo efektywnie hamuje kwitnienie roślin dnia krótkiego, natomiast inicjuje kwitnienie roślin długodniowych, kiedy jest używane jako dodatek do krótkiego okresu światła naturalnego. W doświadczeniach W i t h r o w a i B e n e d i c t a /1936/ okazało się, że promieniowanie niebieskie nie jest efektywne z wyjątkiem wypadku astru chińskiego *Callistephus chinensis* odm. "Serce Francji"

który odpowiada na wszystkie długości fali. Badacze radzieccy K a t u Ń s k i /1937/ i K l e s z n i n /1943, 1946/ dowiedli natomiast, że wszystkie części widma widzialnego są jednako efektywne jeżeli zastosuje się odpowiednią energię promieniowania. F u n k e /1943/ pracując z dużą ilością odmian roślin stwierdziła różną ich reakcję na poszczególne części spectrum światła, nie sugeruje jednak żadnego wytłumaczenia tych zjawisk. Brak bliższych danych dotyczących zastosowanych energii promieniowania i jakości filtrów nie pozwala krytycznie ustosunkować się do tych obserwacji. Naogół przyjmuje się, że najbardziej aktywną jest część czerwona i pomarańczowa widma, natomiast część niebieska jest słabo aktywna a nawet przy małej energii promieniowania nie działa w ogóle /T u m a n o w 1947, K l o s z n i n 1950, M o s z k o w 1950, S z c z e p o t i e w 1950/. Zagadnienie wpływu jakości światła na wzrost i rozwój roślin nie jest dotąd dostatecznie poznane i jest nadal intensywnie badane zwłaszcza przez uczonych holenderskich /Z e e u w 1952, S t o l w i j k 1954, M e i j e r 1958 i ii./

Zdumiewającym jest fakt, że krótkotrwały błysk w czasie ciemnego okresu fotoperiodu jest analogiczny do powrotu w warunki dnia długiego. Uczeni amerykańscy: P a r k e r i współpracownicy /1946/, L i v e r m a n /1955/, C a t h e y i B o r t h w i c k /1957/ przekonali się, że maksymalnie aktywny pod tym względem jest wycinek części czerwonej widma zawarty w granicach 650 nm i że stopień skuteczności błysku nie zależy od temperatury.

Niewątpliwie zasadnicze znaczenie dla poznania zjawiska fotoperiodyzmu ma znajomość zmian natury biochemicznej jakie w tym okresie zachodzą w roślinie.

Istnieje szereg danych, które wskazują na hormonalny charakter bodźca fotoperiodycznego.

Za naturą hormonalną procesu kwitnienia przemawiają wyniki doświadczeń ze szczepieniami. Dzięki szczepieniom udało się bowiem przekazać indukcję fotoperiodyczną ze zrazu na podkładkę i z podkładki na zraz. / C z a j ł a c h i a n 1936, 1937, K u i j p e r i W i e r s u m 1936 /152/, M o s z k o w 1937, 1946, M e l c h e r s 1939, M e l c h e r i L a n g 1941, 1948/. Użycie w tych doświadczeniach różnego typu roślin jako donatorów lub akceptorów bodźca fotoperiodycznego i przekazywanie go drogą szczepień wskazuje na jednorodny jego charakter.

Dalszym faktem, świadczącym o hormonalnym charakterze procesu kwitnienia, są wyniki doświadczeń z działaniem ekstraktów z roślin kwitnących. B o n n e r o w i e /1948/ przy pomocy wodnych ekstraktów z/wierzchołków pędów Washingtonia robusta wywołali zakwitanie Xanthium. Podobne efekty uzyskał R o b e r t s /1951/. Wyniki powyższe nie są odosobnione.

O roli substancji natury hormonalnej w procesie kwitnienia wskazują także doświadczenia, w których stosowano syntetyczne substancje wzrostowe.

W tej dziedzinie badań, do najbardziej znanych, należą wyniki doświadczenia O v e r b e e k a /1946/ ze stymulacją kwitnienia ananasów przy pomocy kwasu 1-naftylooctowego. Reakcja ananasów na substancję wzrostową należy do wyjątków, stanowi bowiem jak dotąd jedyny przykład przechodzenia do reprodukcji pod ich wpływem. / A u d u s 1959 /.

Doświadczenia wielu badaczy wykazują jednak, że reprodukcyjny rozwój roślin dnia krótkiego jest hamowany przez egzogene stymulatory wzrostu / H a r d e r i W i t s c h

1941, Bonner i Thurlow 1949, Leopold i Thimann 1949, Naylor 1950, Leopold i Guernsey 1953 a,b,c, Laibach i Kribben 1951, Liverman 1952 i ii./ To hamowanie przejawia się w tym, że potraktowane rośliny nie kwitną lecz przedłużają swój wegetatywny wzrost /Harder i van Senden 1949, Liverman i Lang 1952 i ii./

Fakty te dotyczą w szczególności traktowania substancjami wzrostowymi w czasie optymalnych warunków fotoindukcji.

Przypuszcza się natomiast, że traktowanie inhibitorami powinno stymulować kwitnienie nawet przy niesprzyjającym fotoperiodzie I rzeczywiście Bonnerowi i Thurlowowi /1949/ udało się wykazać, że traktowanie substancjami wzrostowymi w czasie fotoindukcji Xanthium hamuje kwitnienie. Największy efekt hamowania uzyskano przy zanurzeniu liści w roztworach stymulatorów w czasie ciemnej części fotoperiodu.

Fakt ten lokalizuje inhibicyjny wpływ substancji wzrostowych na kwitnienie w liściach. Jest rzeczą bardzo interesującą, że fotoindukowane i traktowane stymulatorami rośliny nie są w stanie przekazywać bodźca fotoperiodycznego drogą szczepień. Przypuszczenia autorów, że traktowanie inhibitorami będzie stymulowało kwitnienie znalazły pełne uzasadnienia w wynikach doświadczeń, potwierdzonych jeszcze przez Galstona /1947, Greena i Fullera /1948/, ze stosowaniem TIBA i 2-wuchloroanizolu. Preparaty te cofały nawet hamujący efekt wywołany stymulatorami.

Wiele materiału do dyskusji nad wpływem syntetycznych substancji wzrostowych na proces kwitnienia uzyskano z doświadczeń z roślinami dnia długiego /Leopold i Thimann 1949, Claes 1952, Liverman i Lang 1952,

Klein i Leopold 1953, Hussey i Gregory 1954, Schaw i współprac. 1958/. Według wyników uzyskanych przez tych autorów, stymulatory pobudzają kwitnienie a inhibitory wpływają silnie lub całkowicie hamująco na ten proces.

Efekty stymulowania kwitnienia roślin dnia długiego przez substancje wzrostowe są jednak uzależnione od stosowanych stężeń. Znane jest bowiem dwukierunkowe działanie tych związków, stymulacji przy niższych stężeniach i hamowania przy wyższych. Nic też dziwnego, że Leopold i Thimann uzyskali przy pomocy 0,01 - 1 mg/l kwasu L-naftylooctowego, u roślin dnia długiego na długim dniu /u jęczmienia odm. "Wintex"/, zwiększenie zawiązków kwiatowych. Przy wyższych koncentracjach tego kwasu /1 - 400 mg/l/ otrzymali natomiast odwrotne działanie - hamowanie procesu tworzenia kwiatów. Kwas 3-indoliloctowy w zależności od stosowanych stężeń działał podobnie. Powyższe fakty, jak i obserwacje Denffera i Gründler /1950/ pozwalają stwierdzić, że substancje wzrostowe w wyższych koncentracjach są także inhibitorami kwitnienia roślin dnia długiego. To działanie hamujące nie jest jednak specyficzne dla procesu kwitnienia, a raczej dla wzrostu.

Jeszcze większy wpływ na procesy rozwojowe wywiera giberelina, która działa szczególnie intensywnie w obecności młodych rosnących tkanek, bogatych w auksyny i być może kieruje ich wykorzystaniem przez organizm roślinny.

Jako przykład może posłużyć roślina dnia długiego - *Hyoscyamus niger*, którą zdołano za pomocą gibereliny doprowadzić do kwitnienia w niesprzyjających warunkach, na krótkim dniu i bez działania obniżonej temperaturą /Lang 1956 a,b, 1959/. Według tego badacza, jest to pierwszy wypadek przechodzenia rośliny do reprodukcji za pomocą substancji wzrostowych

w warunkach nieindukowania. Wiemy bowiem, że przy pomocy stymulatorów i inhibitorów nie udało się dotychczas zastąpić normalnej fotoindukcji. Dalsze doświadczenia L a n g a /1956 c/ przyniosły szereg efektów kwitnienia roślin dnia długiego, w niesprzyjających warunkach świetlnych i temperaturowych, po zadsiażaniu gibereliną. Między innymi rozetkowe rośliny - *Samolus parviflorus* i *Crepis tectorum* zakwitły przy 9 godzinnym dniu. Na uwagę zasługują wyniki B ü n s o w a i H a r d e r a /1956 a/, którym udało się doprowadzić do zakwitania, przy pomocy traktowania gibereliną, dwie odmiany *Bryophyllum crenatum* i *Bryophyllum daegrementianum* - roślin o przemiennym fotoperiodzie, w warunkach dnia krótkiego. Wyniki badań L a n g a , B ü n s o w a i H a r d e r a nie są odosobnione. Podobne rezultaty na szeregu innych gatunków roślin dnia długiego otrzymano: L o n a /1956/, M a r t h i współprac. /1956/, W i t t w e r i B u k o w a c /1957 a,b,c/, L i n d s t r o m i współprac./1958/, C z a j ł a c h i a n /1958/.

O ile stwierdzenie, że giberelina stymuluje kwitnienie roślin dnia długiego w niesprzyjających warunkach fotoperiodycznych, nie budzi zastrzeżeń, to w stosunku do roślin dnia krótkiego zdania są podzielone.

Doświadczenia L a n g a /1957/ z *Xanthium* i L o n y /1956/ z *Perilla* nie dały żadnych rezultatów kwitnienia, jednak L i n c o l n i H a m n e r /1958/ oraz G r e u l a c h i H a e s l o e p /1958 b/ uzyskali zakwitanie *Xanthium* po stosowaniu gibereliny. Podobnie R a z u m o w /1960/ uzyskał kwitnienie *Perilli* a także kopci włoskich i słonecznika oraz potwierdził obserwacje L i n c o l n a i G r e u l a c h a . Zdaniem tego autora, należy bardzo krytycznie odnieść się do powszechnie przyjętego mniemania, że giberelina nie stymuluje kwitnienia roślin dnia krótkiego.

Przekazywanie bodźców fotoperiodycznych drogą szczepień, wywoływanie kwitnienia działaniem ekstraktów i syntetycznych substancji wzrostowych, posłużyło wielu autorom do wysnucia hipotez o hormonalnym charakterze procesów rozwojowych.

Wspomniany na wstępie S a c h s, jako pierwszy postulował istnienie w roślinie "organotwórczej substancji" nazwanej "Blühstoff", decydującej o powstawaniu poszczególnych organów, nie dając jednak przekonujących dowodów na ich istnienie, dlatego też hipoteza jego upadła.

Myśl S a c h s a wznawiają jednak późniejsi uczeni: K n o t t e /1934/, M o s z k o w /1936/, C z j a c h i a n /1936/, W e n t /1938/ i ii., którzy doszli do wniosku, że przekazywanie fotoperiodycznej stymulacji u roślin związane jest z przemieszczaniem z liści do stożków wzrostu jakiejś substancji typu hormonu. Podobne obserwacje poczynili także inni uczeni /B o r t h w i c k i P a r k e r 1938, H a m n e r i B o n n e r 1938, H a m n e r i L a n g 1939, U l r i c h 1939, L a n g 1941, L a n g i M e l c h e r s 1941, 1943, H a r d e r 1944, 1948/.

Autorem jednej z najbardziej znanych hormonalnych teorii kwitnienia jest C z a j z a c h i a n /1937/. Autor ten zakłada, że rozwój roślin uwarunkowany jest tworzeniem się w liściach specyficznego hormonu kwitnienia "florigenu" i przechodzeniem jego do stożków wzrostu. Według tego badacza kwiatotwórczy hormon występuje w niewielkich ilościach i odgrywa regulującą rolę. Jego tworzenie zachodzi w liściach przy tej długości dnia, do której przystosowany jest dany gatunek rośliny i ma taki sam charakter u wszystkich typów roślin. Według C z a j z a c h i a n a różnice między typami roślin sprowadza-

ją się jedynie do różnic w pewnej określonej ilości zasobów "florigenu". Występując z koncepcją "florigenu" stwierdził, że nie może być on suksyną, ponieważ jej poziom u wszystkich roślin na długim dniu jest wysoki, niezależnie od typu rośliny i fazy jej rozwoju /C z a j ł a c h i a n 1937, C z a j ł a c h i a n i Ż d a n o w a 1938/.

Tezy C z a j ł a c h i a n a spotkały się z krytyką, a on sam wycofał się /1954/ z pierwotnej koncepcji twierdząc, że proces zakwitania jest zbyt złożony, aby można go wytłumaczyć tylko współdziałaniem substancji kwitnienia.

Odkrycia w roślinach wyższych związków giberelinopodobnych skłoniło C z a j ł a c h i a n a do zmodyfikowania poglądów na proces zakwitania /1938/. Uważa on obecnie, że zakwitanie jest uwarunkowane łącznym działaniem dwu substancji które razem tworzą hormon kwitnienia. Jedną z tych substancji jest giberelina nieodzowna do tworzenia pędów kwiatowych, a drugą hipotetyczny "antesin", potrzebny do tworzenia kwiatów.

Koncepcje, uwarunkujące procesy zakwitania od obecności substancji kwiatotwórczej, wysuwają także inni badacze. Tak więc W e n t /1938/ wystąpił z teorią "kalin", które miały posiadać charakter hormonalny, M e l c h e r s /1939/ z "vernalina", H a r d e r i B o d e /1943/ z "metaplasina" a S t r u c k m e y e r /1950/ z "substancją kwitnienia".

Liczne próby /H a m n e r i B o n n e r 1938, T h i m a n n 1947, M e l c h e r s i L a n g 1948, L a n g 1949, M o s s k o w 1950 i ii./ nie doprowadziły jednak dotychczas do wyodrębnienia takich substancji na drodze analitycznej. Pomimo to wielu badaczy jest nadal zwolennikami hormonalnej teorii kwitnienia. /L o n a 1948/ /143 /,

Edanowa 1948 /143/, Gregory 1948, Harder i Bünsow 1954 /143/, Lockhart i Hamner 1954/.

Na specjalną uwagę zasługuje również teoria kwitnienia Chodzkiego /1939/, która bazuje na istniejącej w roślinie substancji hormonalnej - auksynie.

Chodźny, wychodząc z krytycznej oceny danych z literatury i własnych wyników doświadczalnych doszedł do wniosku, że w procesie przejścia rośliny do zakwitania uczestniczy kompleks niespecyficznych lecz wysokoaktywnych substancji. Substancją taką jest właśnie auksyna. Uważa on, że rozmaite czynniki środowiska poprzez swój wpływ na syntezę i dystrybucję auksyny określają przejście rośliny ze stanu wegetatywnego w reproduktywny. Chodźny przyznaje, że jest możliwe w pewnych określonych warunkach, przejście rośliny do kwitnienia w następstwie raczej braku auksyn niż ich obecności. Zakłada on także, że oprócz auksyn w procesach tych mogą brać udział i odgrywać poważną rolę witaminy grupy B₁ a także inne regulatory, dysponujące wyjątkowym i silnym działaniem, przy niewielkich ilościach występowania.

Podobny pogląd wyrażał S B á i n g /1952/. Występując przeciw istnieniu specyficznego hormonu kwitnienia uważa jednak, że w procesie kwitnienia powinny brać udział określone kombinacje aktywnych substancji, wśród których znaczną rolę przypisywał substancjom wzrostowym.

Chodźny formułując swoje poglądy był przekonany, że rośliny dnia krótkiego odróżniają się od roślin długodniowych tym, że dla swego zakwitania potrzebują bardziej niskiego poziomu auksyn endogennych, który się osiąga warunkami świetlnymi dnia krótkiego. Czajka i Chian i Eda -

n o w a /1938/ krytykując hipotezę C h o ł o d n e g o twierdzą, że wszystkie rośliny niezależnie od reakcji fotoperiodycznej w warunkach dnia długiego, zawierają w stożkach wzrostu więcej auksyn i szybciej rosną niż na krótkim dniu. Z ich twierdzenia wynika, że zmiany zawartości auksyn nie są związane z reakcją fotoperiodyczną lecz są następstwem ich rozwoju. Według koncepcji tych autorów, jak wiemy, auksyny wpływają tylko na wzrost. Wniosku takiego nie można jednak przyjąć bezkrytycznie, ponieważ fotoindukcja roślin dnia długiego dniem długim oznacza zwiększenie poziomu auksyn i przechodzenie do kwitnienia, a fotoindukcja roślin krótkodniowych dniem krótkim prowadzi do obniżenia poziomu auksyn i także do kwitnienia.

Ten ostatni fakt znalazł potwierdzenie w doświadczeniach C o o c k e' a /1954/, który zaobserwował, że tworzenie zawiązków kwiatowych u typowych roślin dnia krótkiego - *Xanthium* i sojy przy sprzyjającym fotoperiodzie, zachodzi tylko wtedy, kiedy zawartość auksyn zniża się do pewnego poziomu. Jeżeli natomiast to zniżenie jest niedostateczne, a zdąża się to wskutek niewystarczającej ilości indukujących fotoperiodów, to powstałe zawiązki kwiatowe przekształcają się w pączki wegetatywne. W tej samej pracy C o o c k e potwierdził obserwacje C z a j k a c h i a n a i Ż d a n o w e j znajdując u roślin kwitnących na dniu długim wyższy poziom auksyn niż na dniu krótkim.

Koncepcji C h o ł o d n e g o /1939/, jakoby o inicjacji kwitnienia decydował określony poziom auksyn w wierzchołku pędu, brak jest uzasadnienia w postaci korelacji między ich zawartością a terminem zakwitania /S t o l w i j k 1954 /177/. L i v e r m a n /1955/, zwolennik teorii auksynowej,

tłumaczy ten fakt możliwością istnienia, wykrywanej zazwyczaj analitycznie, nieczynnej formy auksyny łączącej się dopiero z odpowiednim aktywatorem w formę czynną.

Pewne wyjaśnienia biochemizmu kwitnienia dać może połączenie teorii auksynowej z hormonalną jaką dają *L i v e r - m a n i B o n n e r /1953/*. Proponowany przez nich schemat cyklicznego powstawania i rozkładu auksyn w liściu pod wpływem antagonistycznie działającego światła czerwonego i podczerwonego, w pewnym stopniu tłumaczy to zagadnienie.

Zmiany poziomu auksyn podczas rozwoju roślin uwarunkowane są niewątpliwie od obecności antyauksyn i inhibitorów. Na faktach tych opiera się właśnie hipoteza *R e s e n d e g o /1949, 1950 /192/* stwierdzająca, że o przejściu do kwitnienia decydują stosunki ilościowe pomiędzy auksyną a antyauksyną. Hipoteza ta ma pełne uzasadnienie w doświadczeniach z inhibitorami prowadzonych przez *G a l s t o n a, G r e e n a i P u l l e r a*, o których mówiono już poprzednio.

Obok teorii auksynowych na uwagę zasługują również teorie związane z gibereliną, której obecność u roślin wyższych stwierdzono w ostatnim czasie */W e s t i P h i n n e y - 1956, 1957, R i t z e l 1957, N e e l y i P h i n n e y 1957, L a n g, S a n d r o v a l i B e d r i 1957/*.

Próby wyjaśnienia mechanizmu działania gibereliny na procesy rozwojowe są często rozważaniami czysto teoretycznymi, brak bowiem jeszcze całego szeregu dowodów doświadczalnych. W większości wypadków wyniki doświadczeń mówią, że substancja ta działa głównie na wzrost. Dlatego też istnieją tendencje tłumaczenia, że giberelina wpływa na kwitnienie pośrednio. Przedstawicielem tych tendencji jest *L a n g /1956 a/*.

Według jego zdania rola gibereliny w zakwitaniu polega na pobudzaniu wzrostu pędu kwiatowego a już w wydłużającym się pędzie zachodzą dalsze procesy, które prowadzą w rezultacie do tworzenia się kwiatów. L a n g dowodzi, że jeżeli rośliny są poddane naturalnym warunkom termofotoindukcji, to strzelanie w pęd kwiatowy i zawiązywanie pączków kwiatowych zachodzi jednocześnie. W wypadku traktowania gibereliną następuje najpierw wydłużanie się kodygi, a dopiero potem zawiązywanie się pączków kwiatowych. Koncepcję tę podkreśla fakt, że gatunki, u których uzyskano zakwitanie pod wpływem działania gibereliny w fazie wegetatywnej tworzyły rosetki a przejście ich do kwitnienia poprzedzał intensywny wzrost pędu kwiatowego.

Dość przekonującą koncepcję odnośnie roli gibereliny w procesie prowadzącym do kwitnienia daje B r i a n /1958/. Autor ten uważa, że rośliny dnia długiego zakwitają przy wysokim poziomie substancji giberelinopodobnej, natomiast rośliny dnia krótkiego przy niskim poziomie. Substancja ta produkowana w liściach, ulega wpływom światła, tworząc aktywną lub nieaktywną formę. Wydaje się, że koncepcja B r i a n a uzupełnia teorię cyklicznego powstawania i rozkładu auksyn pod wpływem światła czerwonego i jego antagonisty - podczerwonego /L i v e r m a n n i B o n n e r 1953, L i v e r m a n n 1955/.

W próbach wyjaśnienia roli regulatorów wzrostu w procesie związanym z przejściem rośliny do reprodukcji nie wiele miejsca poświęcono zagadnieniu kształtowania się poziomu regulatorów wzrostu w ontogenezie rośliny. Wśród autorów, którzy badali zagadnienia z tym związane wymienić trzeba N e v i n s a i H e m p h i l l a /1956/, S t o w e i współprac./1956/.

Badaacze ci określali stymulatory i inhibitory wzrostu w pękach kwiatów brzoskwini i pomarańczy. Substancje wzrostowe w nasionach gruszy i wiśni badał M i n a u l t /1956/, natomiast w zapłodnionych zalążkach fasoli N i t s c h i N i t s c h /1956 a/. Najbliższe zagadnieniu dynamiki regulatorów wzrostu w ontogenezie były badania M i c h n i e w i c z a i M i c h a l s k i e g o /1960/, którzy określali zmiany regulatorów w liściach i organach reproduktywnych *Raphanus sativus* w różnych fazach ich rozwoju. Prześledzono także zmiany zawartości stymulatorów i inhibitorów w szeregu fazach rozwojowych organów generatywnych *Lupinus luteus* /M i c h a l s k i 1960/. Zagadnienie jakości regulatorów w pyłkach kwiatowych *Corylus avellana*, spoczynkowych i kiełkujących *in vitro*, było tematem prac M i c h a l s k i e g o /1958/, M i c h a l s k i e g o i C h r o m i á s k i e g o /1960/. We wszystkich wymienionych pracach stwierdzono zależność pomiędzy określoną fazą rozwoju rośliny czy jej organu a poziomem występujących stymulatorów i inhibitorów wzrostu. Wśród których najaktywniejszymi okazały się: kwas 3-indolilooctowy /IAA/, jego nitryl /IAN/ i ester etylowy /EIA/.

Szczególnie interesujący jest problem dynamiki regulatorów wzrostu w następstwie indukcji fotoperiodycznej. Wśród pierwszych badaczy tego zagadnienia wymienia się C o o c k a /1954/, autor ten badał poziom auksyn u rośliny dnia krótkiego - *Xanthium* w warunkach fotoperiodu długiego i krótkiego. C o o c k stwierdził, że poziom auksyn u *Xanthium* był raczej uzależniony od długości dnia a nie od stanu kwitnienia. Rośliny kwitnące umieszczone w warunkach dnia długiego charakteryzował wyższy poziom auksyn niż podobne rośliny pozostające na dniu krótkim. Autor ten wykazał dalej, że tworzenie zawiązków

kwiatowych w czasie optimalnej fotoindukcji u roślin dnia krótkiego zachodzi tylko wtedy kiedy zawartość auksyn zniża się do odpowiedniego poziomu. Jeżeli na roślinę dawał niedostateczną ilość indukujących fotoperiodów, to powstałe zawiązki przekształcały się w pąki wegetatywne. Potwierdzeniem obserwacji dokonanych na *Xanthium* były wyniki doświadczeń z tytoniem Maryland Mammoth i soją Biloxi. U roślin tych stwierdzono zwiększenie poziomu auksyn w warunkach dnia długiego w porównaniu do roślin przebywających na dniu krótkim. Podobnie jak u *Xanthium*, rośliny które zostały nagle przeniesione z warunków dnia długiego na krótki dzień wykazały zwiększony poziom auksyn przez okres następných paru dni. Wyniki tych doświadczeń w pełni przekonały autora, że poziom auksyn w roślinie dnia krótkiego jest uzależniony od długości dnia a nie od kwitnienia.

Z drugiej strony *V l i t o s i M e u d t* /1954/ znaleźli u soi w warunkach indukowania dniem krótkim, 100 razy więcej auksyn niż przy długim dniu. Rozbieżności w tych obserwacjach zdaje się być wynikiem stosowania przez *C o o c k a* techniki testów wygięciowych *W e n t a* /1928/ i brakiem rozdzielania wyseparowanych auksyn. Zastosowanie przez *V l i t o s a i M e u d t a* metody ekstrakcji i techniki chromatografii ilościowej w pełni podkreśla wartość poczynionych obserwacji. W wyniku analizy ilościowej znaleźli oni wysoką koncentrację wolnego kwasu 3-indolilooctowego w ekstraktach z soi Biloxi rosnącej na dniu krótkim. Soja odm. Lincoln zawierała także, w tych samych warunkach, więcej IAA niż rośliny rosnące przy dniu długim. U obydwu odmian soi stwierdzono i zidentyfikowano jeszcze drugi związek mający charakterystykę chromatograficzną kwasu 3-indolilopirogronowego /IPyA/. Rośliny indukowane dniem

krótkim zawierają go więcej. Podobne wyniki uzyskano w doświadczeniach z tytoniem Maryland Mammoth, który zawierał więcej IAA i IPyA w warunkach dnia krótkiego niż na dniu długim. Obserwacje powyższe są sprzeczne z hipotezą, która w odniesieniu do roślin krótkodniowych stawia znak równości pomiędzy fotoindukcją dniem krótkim a redukcją endogennego IAA /B o n n e r 1949, B o n n e r i T h u r l o w 1949 i ii./

Również mało wiemy o wpływie fotoindukcji na poziom auksyn u roślin dnia długiego. K o n i s c h i /1956/ nie stwierdził u *Silene armeria*, *Rudbeckia bicolor* i *Spinacia oleracea*, dużych różnic pomiędzy poziomem auksyn u roślin będących w formie rozetki a strzelających w pęd kwiatowy. G i l s o n /1957/ dochodzi do wniosku, że obserwowane zmiany poziomu auksyn u indukowanego i nieindukowanego *Hyoscyamus niger* są raczej następstwem a nie przyczyną procesu kwitnienia. H a r a d a i N i t s c h /1959/ badali wahania w poziomie auksyn i giberelinopodobnych substancji podczas kwitnienia roślin: zarówno dnia długiego - *Rudbeckia speciosa*, jak i dnia krótkiego - *Chrysanthemum* odm. *Shasta* oraz wymagającej jaryzacji - *Chrysanthemum* odm. *Shuokan*. W rezultacie doświadczeń dostrzeżono podczas kwitnienia głębokie zmiany hormonalne. Zmiany te miały charakter jakościowy i ilościowy. U roślin gotowych do kwitnienia, po termoindukcji /odm. *Shuokan*/ i fotoindukcji /*Rudbeckia*/ w wyciągu metanolem z wierzchołka wzrostu pojawia się giberelinopodobna substancja E, która jest raczej przyczyną a nie konsekwencją zjawiska strzelania w pęd kwiatowy. Wskutek trudności metodycznych autorom nie udało się jednak stwierdzić obecności substancji E u indukowanej krótkodniowej odm. *Shasta*. Obok substancji E zaobserwowano wysoki poziom innych stymulatorów wzrostu. Odmianę *Shasta* cechowała duża ilość inhibitorów.

Również L a n g /1960/ eksperymentując z jednoroczną odmianą *Hyoscyamus niger*, stwierdził zasadnicze różnice w poziomie giberelinopodobnych substancji u obiektów wegetatywnych i fotoindukowanych.

Główną wadą wielu omawianych wyżej prac jest to, że analizy poziomów auksyn były robione albo w pewnych przerwach podczas procesu fotoindukacji albo, co się częściej zdarzało, długo po jej zakończeniu.

Braki w wcześniejszych badaniach wynikają z ówczesnie stosowanej metody analitycznej. Opierała się ona na metodzie dyfuzyjnej związanej głównie z testem wygięciowym W e n t a /1928/. Ze względu na swą specyfikę nie mogła dać ona szybkiej odpowiedzi na pytanie dotyczące fizjologicznego charakteru badanych substancji. Dopiero zastosowanie metody rozdzielania na bibule /B e n n e t - C l a r k i współprac. 1952, L u c k w i l l 1952/ z testem wzrostowym otworzyło możliwości wnikliwszych badań tego problemu.

Jak wynika z przeglądu literatury, regulatory wzrostu odgrywają niewątpliwie istotną rolę w ontogenezie roślin. Poziom ich uzależniony jest również od fotoperiodu. Zagadnienie to nie jest jeszcze dotąd dostatecznie wyjaśnione a liczne prace budzą zastrzeżenia metodyczne. Biorąc to pod uwagę, postanowiłem prześledzić wpływ indukcji fotoperiodycznej na dynamikę regulatorów wzrostu u roślin dnia długiego i krótkiego przy zastosowaniu najbardziej odpowiednich metod analitycznych.-

II. METODY BADAN

=====

Badania nad rośliną dnia krótkiego - *Perilla ocimoides* L. i rośliną dnia długiego - *Calendula officinalis*, w których określano poziom regulatorów wzrostu zawartych w ekstraktach heksanowych i metanolowych, obejmowały trzy warianty:

Badano rośliny wegetujące, od wschodów aż do zakwitania, w warunkach optimalnego dla ich rozwoju fotoperiodu 10 i 16 godzinnego.

Drugi wariant obejmował rośliny przebywające w warunkach niesprzyjającego fotoperiodu, 16 godzinnego dla rośliny krótkodniowej a 10 godz. dla długodniowej.

W trzecim natomiast rośliny przebywały, od wschodów do 24 dnia wegetacji, w warunkach fotoperiodu niesprzyjającego a następnie działano na nie, przez okres 12 dni, fotoperiodem typowym dla danej rośliny, po zakończeniu którego aż do zakwitania stosowano ponownie warunki dnia niesprzyjającego normalnemu rozwojowi.

Materiał do ekstrakcji pobierano w odstępach 7 dniowych, to znaczy w 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 i 56 dzień ^{od} wzejścia. W doświadczeniach ze zmienianym fotoperiodem, czyniono to w 24, 28, 35, 42, 49 i 56 dniu wegetacji.

1. Materiał.

Wybór pachnotki - *Perilla ocimoides* L. został podyktowany znaczną wrażliwością rośliny na światło. Cecha ta czyni z niej doskonały obiekt doświadczalny /C z a j ł a c h i a n 1938, 1941; M o s z k o w 1939, 1952, L e j s l e 1950, R y l s k a i W i s z o c k a 1956, R y l s k a 1958 b i ii./ Pachnotka reaguje na długość dnia także wielkością blaszek liściowych /B ũ n n i n g 1956/. Na długim dniu są one więk-

sze. Czerwone światło wyraźnie hamuje jej wzrost /van der Veen i Meijer 1958/ w bardzo silnym stopniu wpływa na syntezę antocjanów w liściach, choć fakt ten jest dyskutowany /Rylska 1958/.

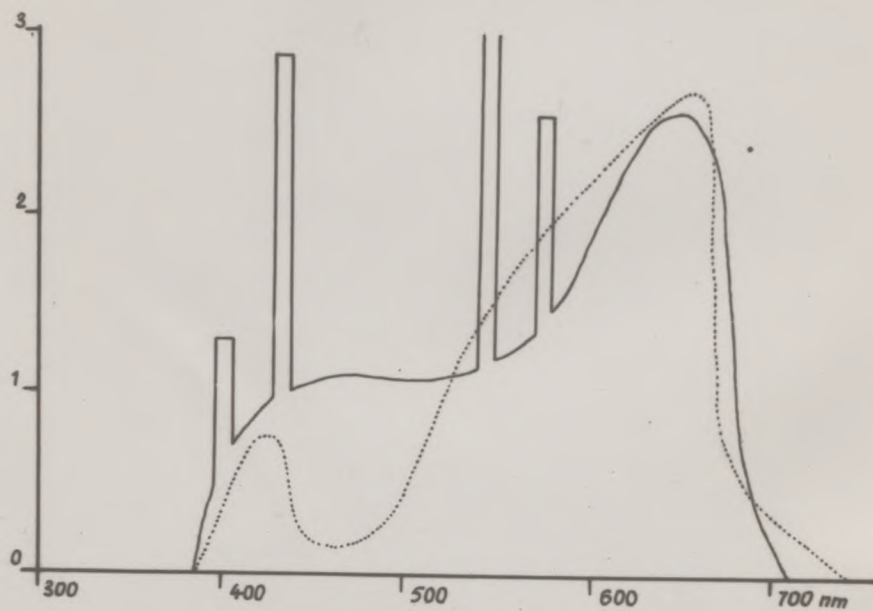
Nagietek lekarski - *Calendula officinalis* L. jest rośliną rzadziej stosowaną w badaniach fotoperiodycznych. Denffer i Gründler /1950/ a także i Audu /1959/ podają, że jest on szczególnie wrażliwy na traktowanie substancjami warostowymi. Tak np. kwas L-naftylooctowy w stężeniu 0,05 % wydatnie opóźnia u niego proces kwitnienia. Nagietek podobnie jak *Perilla* jest wrażliwy na czerwone światło, które hamuje jego wzrost.

2. Warunki uprawy roślin doświadczalnych.

W badaniach nad wpływem czynników zewnętrznych na rozwój roślin, zagadnieniem pierwszorzędnej wagi jest zapewnienie właściwych, stałych i kontrolowanych warunków uprawy roślin doświadczalnych. Dotyczy to w szczególności warunków świetlnych

Wielkie znaczenie jakości światła w rozwoju rośliny podkreślono w całym szeregu prac /Parker i współprac. 1946, 1949, Borthwick i współprac. 1948, 1952 a,b, 1954, Wassink i współprac. 1950, 1956, Goodwin i Ovens 1951, Stolwijk 1954, Stolwijk i Zeewart 1955, Meijer 1958, van der Veen i Meijer 1958, Ruge 1959 i ii./

Jak wykazały doświadczenia Ruge'go /1959/ z *Coleus*, *Ageratum*, *Arabidopsis*, *Tradescantia* i ii. wyeliminowanie części podczerwonej promieniowania powodowało optymalny rozwój roślin. Uzupełnienie promieniowania, używanych przez autora świetlówek, światłem żarowym dla wzbogacenia podczerwie-



..... Krzywa Ruge'go |a|
 ————— Krzywa emisji świetlówek RFxb |b|

Ryc. 1. Rozkład widmowy światła w luminostatach.

nią, pomimo podniesienia energii promieniowania spowodowało zahamowanie rozwoju. Według R u g e i g o , propagowane pozytywne oddziaływanie promienników podczerwieni na rozwój roślin nie jest następstwem fotobiologicznego działania lecz podniesienia temperatury otoczenia a także i liści. Zdaniem tego badacza, korzystniejszą jednak dla rozwoju roślin jest niższa temperatura liści niż temperatura atmosfery.

Dalsze badania wykazały, że dla uprawy roślin przy sztucznym świetle, czerwień /660 nm/ jest nieodzowną dla normalnego ich rozwoju. Eksperymenty z wpływem niebieskiej części widma na rozwój dowiodły dalej, że optimum rozwojowe leży w zakresie 410-430 nm i nie może przekraczać energetycznie czerwień. Wyniki obserwacji pozwoliły autorowi, w oparciu o krzywą emisji stosowanej przez niego świetlówki HNI de Luxe - F.Osram, wykreślić krzywą "podstawową" warunków promieniowania dla hodowli roślin przy sztucznym oświetleniu. Wyznacza ją na ryc.1 krzywa a.

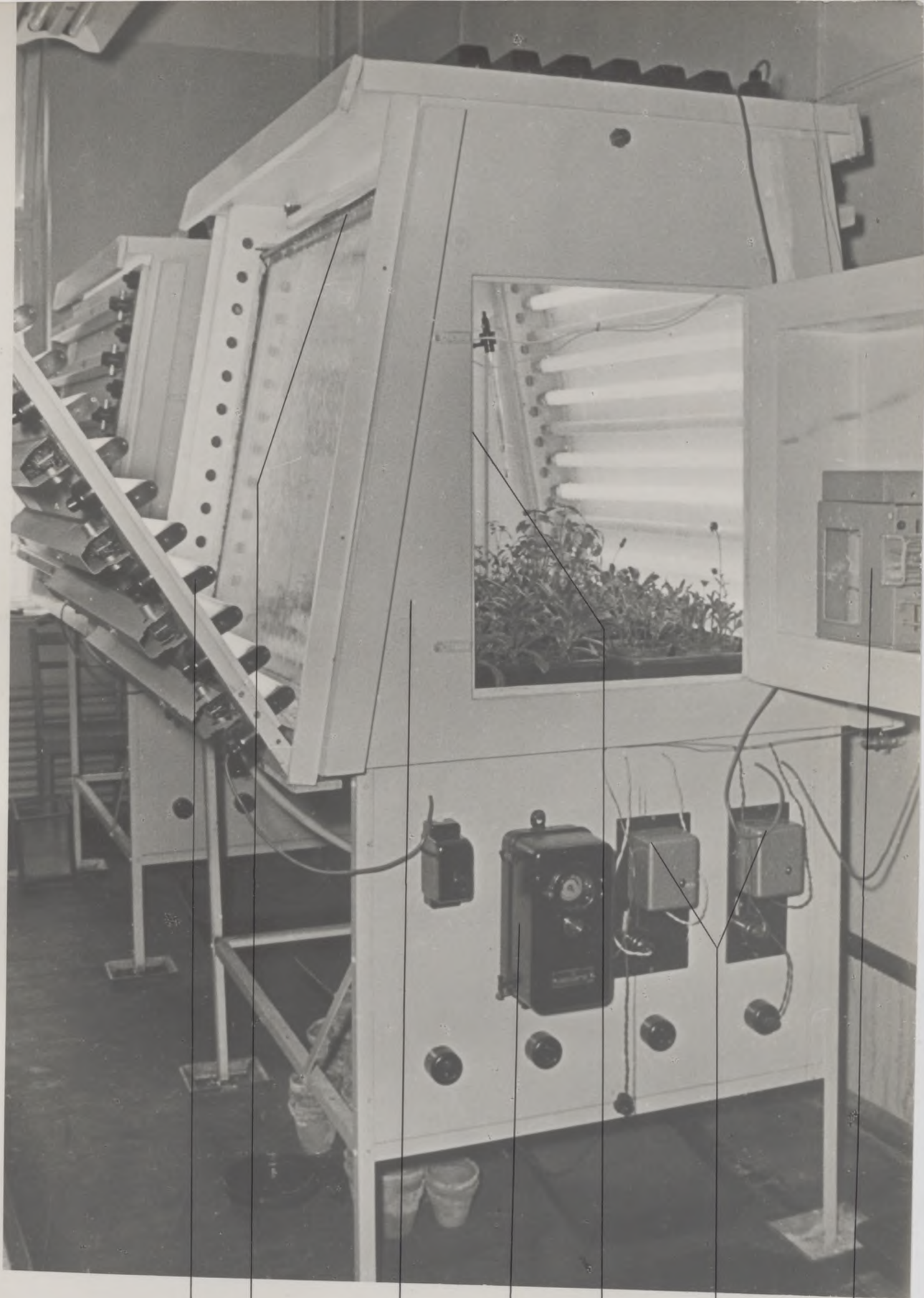
W oparciu o powyższe dane, dla zapewnienia roślinom doświadczalnym odpowiednich stałych kontrolowanych warunków świetlnych, temperaturowych i wilgotnościowych, zbudowano dwie komory klimatyzacyjne - luminostaty.

Na luminostat składała się oszklona komora hodowlana o skośnych ścianach bocznych /ryc.2/. Wymiary jej wynosiły 1,20 m długości, 0,90 m szerokości i 0,90 m wysokości. Do oszklenia użyto 2 mm szkła okiennego. Część szklaną obudowano skrzynią drewnianą /a/ tworzącą podstawę do urządzeń oświetleniowych i grzejnych.

Na system oświetleniowy /b/ składało się 30 świetlówek typu RF x b białych i niebieskich w stosunku liczbowym 2 : 1, produkcji Zakładów Wytwórczych Lamp Elektrycznych im.R.Luksem-

Fig. 2. Luminostat.

- a - obudowa
- b - system oświetleniowy
- c - wyłączniki zegarowe
- d - system chłodniczy
- e - system ogrzewający
- f - wyłączniki do systemu ogrzewającego
- g - termohygrograf



b

d

a

c

e

f

9

Ryc. 2

burg w Warszawie. Zastosowanie dwu rodzajów świetlówek było podyktowane koniecznością dobrania najbardziej odpowiedniego dla rozwoju roślin składu widma świetlnego.

Badanie rozkładu widmowego emisji świetlówek białych i niebieskich przeprowadzono metodą fotograficzną, przy pomocy spektrografu Hilgera typu "Barfit", w Zakładzie Fizyki Doświadczalnej U.M.K. Dane pomiarów posłużyły do wykreślenia krzywych dla poszczególnych rodzajów świetlówek. Rozkład widmowy świetlówek białych posiadał braki w niebieskiej części i brak ten trzeba było uzupełnić emisją świetlówki niebieskiej. W celu utrzymania właściwych proporcji w energii promieniowania pomiędzy częścią czerwoną a niebieską, do oświetlenia zastosowano kombinację złożoną z 2 świetlówek białych i 1 niebieskiej. Rozkład widmowy tej kombinacji obrazuje krzywa b na ryc.1.

Krzywa rozkładu widmowego emisji świetlówek polskich, / na tle krzywej "podstawowej" R u g e'g o/, wykazuje braki między 530 - 640 nm, w części która fizjologicznie jest mniej przydatna. Natomiast w części 430 - 530 nm znacznie bogatsza. Te cechy zdają się świadczyć o pełnej wartości kombinacji świetlówek zastosowanej w luminostatach.

Intensywność promieniowania, mierzona termostosem z okienkiem kwarcowym /Zeiss/, podłączonym do elektrometru strunowego Zeissa, wynosiła na wysokości roślin $\sim 3500 \text{ nW/cm}^2 / \sim 6000 \text{ lux/}$.

Włączanie i wyłączenia światła było regulowane automatycznymi włącznikami zegarowymi /ryc.2 c/. Automaty te włączały oświetlenie o godz. 6⁰⁰ a wyłączały: dla dnia krótkiego /10 godz. o godz. 16⁰⁰, dla dnia długiego /16 godz./ o godz. 22⁰⁰.

W urządzeniu oświetleniowym można było wyłączać poszczególne pary świetlówek, regulując tym samym intensywność promieniowania a nawet zmieniać w pewnym stopniu skład widmowy światła.

Aby zapewnić roślinom korzystne dla rozwoju dobowe wahania temperatury, do luminostatów wmontowano system chłodzący. Zastosowanie chłodzenia było konieczne ze względu na promieniowanie ciepłe świetlówek. Komorę oszkloną chłodzono ciągłym spływem wody po ukośnych jej ścianach /d/. Wodę chłodzącą pobierano z przewodów wodociągowych. Szybkość przepływu wynosiła 2 l/min. dla jednego luminostatu. Temperatura jej równała się w czasie dnia 12 - 14°C. Chłodzenie tego typu dawało, przy włączeniu pełnego oświetlenia i temp. pomieszczenia 18 - 24°C., temperaturę +-20°C, w nocy natomiast po wygaszeniu +-14°C.

Temperaturę dnia i nocy regulowano przy pomocy 2 termowentylatorów. Każdy termowentylator był złożony z 400 W elementu grzejnego - "słońca" i wentylatora rozprowadzającego ogrzane powietrze. Urządzenie to umiejscowiono za ukośnymi ekranami /ryc.2 e/, kierującymi ciepłe powietrze w górę, chroniąc tym samym rośliny przed zbytnim przesuszaniem bezpośrednim powietrzem. Regulacja temperatury odbywała się przez nastawne termometry kontaktowe połączone przez wyłączniki rtęciowe /f/ z termowentylatorami. Urządzenie regulujące temperaturę nocy /17°C/, pobierające energię po wygaszeniu oświetlenia, było podłączone bezpośrednio do sieci elektrycznej. Regulacja temperatury dnia do 22°C, działała razem z systemem oświetlającym, uzależnionym od automatycznych wyłączników zegarowych /c/.

Wilgotność powietrza w komorach hodowlanych była zależna między innymi od panującej temperatury i wynosiła w czasie dnia +-70 %, a w czasie nocy +-85 % wilgotności względnej.

Temperatura i wilgotność były stale rejestrowane termohygrografami tygodniowymi /g/. W celu wyeliminowania wahań napięcia wpływających ujemnie na działanie aparatury elektrycznej, luminostaty były podłączone do sieci przez autotransformatory.

Nasiona pachnotki otrzymane ze Stacji Doświadczalnej IHAR w Borowie wysiewano do wazonów glinianych o średnicy 12 cm, napełnionych glebą ogrodową. Ze względu na wymagania rośliny, glebę doprowadzono do $\text{pH} \sim 6,5$ dodatkiem CaO . Wilgotność optymalna dla uprawy rośliny w warunkach luminostatowych, zalecana przez R y l s k ą /1958 b/, wynosiła 50 % pojemności wodnej. Poziom ten był okresowo uzupełniany na wadze.

Materiał nasienny nagietka, pochodzący z Centrali Zielańskiej w Bydgoszczy, przeselekcionowano w sezonie 1959. Ze względu na małe wymagania rośliny do gleby nie dodawano CaO , a wilgotność jej wynosiła 60 % pojemności wodnej. Nagietek uprawiano także w wazonach glinianych.

W czasie doświadczeń przeprowadzano obserwacje dotyczące morfologii i fenologii roślin uprawianych w warunkach luminostatowych. Przy pobieraniu prób do analiz materiał roślinny ważono i dokonywano pomiarów wzrostu.

3. Ekstrakcja regulatorów wzrostu z materiału roślinnego.

Rośliny uprawiane w luminostatach posłużyły jako materiał, z którego wyodrębniono regulatory wzrostu metodą ekstrakcji.

W badaniach naturalnych regulatorów wzrostu istnieje wiele sprzecznych poglądów na temat metody ich wyodrębniania.

Dotyczą one między innymi środka używanego do ekstrakcji. Powszechnie stosowany eter etylowy ma tę ujemną cechę, że nie przerywa syntezy substancji wzrostowych w tkankach roślinnych podczas procesu ekstrakcji /T h i m a n n i współprac. 1940, 1942, G u s t a f s o n 1941, O v e r b e e k i współprac. 1947/. Pomijając tę bardzo istotną wadę, zacierając właściwy obraz poziomu auksyn w badanym obiekcie, występuje tu jeszcze destrukcyjny wpływ nadtlenków zawartych w eterze, które mimo najlepszego oczyszczania nie mogą być w zupełności wyeliminowane. Nadtlenki te wpływają utleniająco na substancje wzrostowe /T a n g i B o n n e r 1947, W a - g e n k n e c h t i B u r r i e 1950, S t e e v e s i współprac. 1953, B r i g g s i współprac. 1955/, co objawia się między innymi brunatnieniem ekstraktów /N i t s c h 1956/. Według opinii tego autora najlepsze rezultaty, w porównaniu z eterem etylowym, chloroformem, acetonem i etanolem bezwodnym daje bezwodny metanol, eliminujący zupełnie utlenianie ekstrahowanych związków. Wyższość metanolu jako rozpuszczalnika polega także na jego wysokiej polarności co pozwala wnioskować, że jest on dobrym rozpuszczalnikiem dla substancji wzrostowych o charakterze kwasów np. IAA. Jest on więc rozpuszczalnikiem, który z tego właśnie względu, podobnie jak woda, skupia największą uwagę.

Woda oddaje duże usługi w wypadku ekstrakcji z materiału zasobnego w chlorofile i lipidy, ponieważ eliminuje te związki. Za metanolem natomiast przemawia fakt, że w nim przejawia się mniejsza aktywność oksydaz auksynowych i łatwiej niż woda ulega kondensacji. Dzięki temu eliminuje destrukcyjny wpływ procesu zagęszczania ekstraktów. Ujemną natomiast cechą metanolu

jest łatwość równoczesnego ekstrahowania chlorofilu i lipidów.

Stosowanie rozpuszczalników wysoko polarnych w stosunku do materiału zawierającego substancje wzrostowe o charakterze obojętnym jest niecelowe ze względu na niską ich rozpuszczalność. Stosuje się więc z powodzeniem, w tych przypadkach, rozpuszczalniki mniej polarne jak chloroform czy też mimo jego wad eter etylowy. Rozpuszczalniki te przyjmują jednak jednocześnie substancje kwaśne i obojętne, co stwarza konieczność stosowania dla ich rozdzielenia metody ekstrakcji frakcyjnej np. L a r s e n a /1955 b/. Metoda L a r s e n a nie spełnia jednak swego zadania, nie daje bowiem pełnego rozdziału na substancje kwaśne i obojętne. Wykazały to obserwacje B e n n e t - C l a r k a i współprac./1953/, H a u s l e y i współprac./1956/, M i m a u l t a /1956/, N i t s c h a /1956/, M i c h a l s k i e g o /1958/, którzy stwierdzili w wielu wypadkach obecność nitrylu kwasu 3-indoliloctowego /IAN/ w frakcji kwaśnej.

Zastosowanie jeszcze mniej polarne rozpuszczalnika niż chloroform i eter, powinno dać możliwość bezpośredniego wyodrębnienia z materiału obojętnych substancji wzrostowych. Zadanie to spełnia n-heksan, który jak to na przykładzie chromatografii wykazali N i t s c h /1956/ i G u e r n /1959/, nie rozpuszcza śladnych kwasów indolo-pochodnych.

Uwzględniając powyższe dane, aby uzyskać odpowiednie rezultaty przy wyodrębnianiu obojętnych i kwaśnych substancji wzrostowych z roślin rosnących w różnych długościach dnia, w doświadczeniach swoich zastosowałem metodę podwójnej ekstrakcji przy użyciu n-heksanu i metanolu.

Procedura ekstrakcji w opisywanych doświadczeniach przedstawiała się więc następująco. 25 okazów roślin wybiera- no z doniczek a następnie system korzeniowy oczyszczano z gle- by strumieniem wody. Po osuszeniu bibułą, materiał w całości zamrażano w zasobniku zimna lodówki /temp. - 4°C/ przez 2 godz. Po zamrożeniu, którego celem było wyeliminowanie procesów enzymatycznych, część korzeniową odcinano. Łodygi ważono a m- stępnie szybko rozdrabniano w wychłodzonych moździerzach porce- lanowych. Rozdrobniony materiał zalewano, 4-krotną do jego wagi, ilością wychłodzonego n-heksanu, a następnie wstawiano na 24 godz. do lodówki w temp. 0°C. Po upływie tego czasu ekstrakt heksanowy dekantowano do erlenmajerk, które przechowano następ- nie w lodówce. Pozostałość roślinną, po lekkim wyciśnięciu wał- kiem resztek ekstraktu, zalewano wychłodzonym bezwodnym metano- lem, w takiej samej proporcji ilościowej jak heksan i wstawiano na dalsze 24 godz. do lodówki. Po upływie doby ekstrakt metano- lowy odsączono od stałych części na sączku bibułowym. Ekstrakty heksanowy i metanolowy zagęszczano do objętości 1 ml, przy pod- ciśnieniu 6 mm Hg na łaźni wodnej, której temperatura nie prze- kraczała +- 50°C.

4. Technika rozdzielania regulatorów wzrostu.

Regulatory wzrostu zawarte w zagęszczonych ekstraktach heksanowych i metanolowych rozdzielano przy pomocy chromatogra- fii i elektroforezy.

A. Chromatografia - Chromatograficznego rozdziaku regulatorów wzrostu dokonali po raz pierwszy B e n n e t - C l a r k i współprac. /1952/ i L u c k w i l l /1952/. Metoda ta jest obecnie w tego rodzaju badaniach szeroko stosowana.

W pracy niniejszej, do chromatograficznego rozdzielania regulatorów wzrostu, jako fazę rozwijającą, zastosowano rozpuszczalnik klasyczny składający się z izo-propanolu - amoniaku - wody w stosunku 10 : 1 : 1, a także wodę. Ekstrakty nanoszone ilościowo na bibułę Whatman nr.1 i rozwijano zstępująco w komorach chromatograficznych "Chropa" w temp. $\pm 21^{\circ}\text{C}$.

Celem stosowania dwa typów rozpuszczalników, klasycznego i wody, było przebadanie zachowania się rozdzielanych regulatorów wzrostu w różnych warunkach rozdziału.

Badania G u e r n a /1959/ wykazały bowiem istnienie ścisłej zależności pomiędzy zachowaniem się substancji wzrostowych podczas rozdziału chromatograficznego a ich strukturą chemiczną. Przy stosowaniu rozpuszczalnika klasycznego /B e n n e - C l a r k i współprac.1952/, substancje kwaśne - hydrofilne układają się w R_f niskim / $R_f < 0,5$ /, podczas gdy substancje obojętne-lipofilne w R_f wysokim / $R_f > 0,5$. Cecha ta dająca pierwsze wskazówki co do charakteru rozdzielanych substancji, uzależniona jest od składu fazy rozwijającej a przede wszystkim od obecności w niej zasady /S t o w e i T h i m a n n 1954/.

Amoniak w fazie rozwijającej jest nieodzowny do wyraźniejszego rozdzielania obojętnych substancji wzrostowych. Wpływając obniżając na R_f rozdzielanych substancji, amoniak posiada jedną zdolność hydrolizy związków obojętnych w ekstrakcie a ponadto może tworzyć z aldehydami nierozpuszczalne związki, które słabo migrują i tworzą ogony.

Woda, jak podają S e n i L e o p o l d /1954/, N i t s c h i N i t s c h /1955/, jest dobrym rozpuszczalnikiem, który pozwala na rozdział substancji kwaśnych i obojętnych a także na dobre rozdzielanie tych ostatnich między sobą a zwłaszcza posiadających grupy aminowe lub nitrylowe.

W zależności od polarności substancji kwaśnych i ich powinowactwa od fazy rozwijającej, przy rozdzielaniu wodą mają one $R_f > 0,5$ to znaczy odwrotnie jak w warunkach rozdzielania rozpuszczalnikiem klasycznym.

Na jakość rozdziaku chromatograficznego regulatorów wzrostu, zawartych w ekstraktach roślinnych, wpływają także różnego rodzaju zanieczyszczenia np. barwniki, lipidy it.p. Utrudniają one porównanie wartości R_f doświadczalnych i kontrolnych. Zjawisko to jest mniej istotne przy rozdzielaniu wodą ale w całej ostrość występuje przy użyciu rozpuszczalnika klasycznego, przy którym zanieczyszczenia tworzą ogony zacierając nieraz całkowicie obraz rozdziaku. Jednakowoż i rozdzielanie wodą ma również wady, zauważono bowiem, że zanieczyszczenia ekstraktów dyfundując z plamy startowej zacierają rozdziak w początkowym odcinku chromatogramu /G u e r n 1959/.

Wady te można uniknąć przy rozdzielaniu metodą elektroforetyczną. Zastosowanie jej w mojej pracy jest uzasadnione także możliwością przebadania jonoforetycznego zachowania się rozdzielanych związków.

B. Elektroforeza - Stosowanie tej metody do celów analizy regulatorów wzrostu nie jest nowe. Używali ją z powodzeniem D e n f f e r i współprac. /1952 a,b/, F i s c h e r /1954/ B i t a n c o u r t /1954/, K u t a c e k i współprac. /1959/ a wysokonapięciowej S c h n e i d e r i S p a r m a n n /1955/, M e l c h i o r /1957/ i ii. Zaletą metody jest to, że przy jej pomocy można rozdzielać ekstrakty silnie zanieczyszczone barwnikami i lipidami, które nie podlegają elektromigracji. Wzrost jej stanowi także możliwość

regulowania szybkości rozdziału.

Dla charakterystyki badanych związków ważną jest także znajomość zachowywania się ich w zmienionych warunkach rozdzału elektroforetycznego, dlatego też obok rozdzielania w buforze o pH 7 zastosowano również rozdzielanie przy pH 4. Dane te, obok wyników rozdzałów chromatograficznych, uzupełniają w pełni charakterystykę badanych związków.

Rozdzału elektroforetycznego badanych ekstraktów dokonywano na paskach bibuły Whatman nr.1 o szerokości 4 cm w komorze wilgotnej horyzontalnej własnej konstrukcji. Punkty zawieszenia pasków były oddalone od siebie o 30 cm. Badane roztwory наносzono ilościowo w środku paska. Używano 0,15 M buforu fosforanowego wg. Sørensen'a o pH 7. Rozdzału dokonywano przez przyłożenie, do elektrod ze stali nierdzewnej, na 8 godz. 110 voltowego prądu stałego stabilizowanego, co odpowiadało spadkowi napięcia na bibule około 3,6 V na 1 cm długości paska. Natężenie prądu wynosiło jednocześnie około 0,6 mA na cm szerokości paska. Urządzenie do prostowania i stabilizacji prądu wg. własnego projektu wykonano w warsztatach Zakładu Fizyki Doświadczalnej U.M.K.

Dla scharakteryzowania ruchliwości elektroforetycznej regulatorów wzrostu w środowisku o pH 4, rozdzałów dokonano przy użyciu 0,2 M buforu octanowego wg. Walpole'a, na 30 cm długości i 4 cm szerokości paskach bibuły Whatman nr.1 w komorze wilgotnej sporządzonej z akwarium. Napięcie i natężenie prądu przyłożonego do elektrod stalowych, przy tym rozdzielaniu nie różniło się znacząco od opisanego wyżej. Roztwory badane наносzono na paski bibuły w odległości 10 cm od strony anody. Czas trwania rozdzału wynosił 8 godz. Stabilizowany

i prostowany prąd pobierano z urządzenia już wymienionego. Elektroferogramy po rozdziale suszono w temperaturze pokojowej.

5. Identyfikacja regulatorów wzrostu.

Dla zidentyfikowania występujących w ekstraktach regulatorów wzrostu, elektroferogramy i chromatogramy poddano analizie biologicznej, fluorescencyjnej i wywołaniu plam rozdzielonych na bibule substancji.

A. Analiza biologiczna. - Aktywność fizjologiczną rozdzielonych elektroforetycznie przy pH 7 regulatorów wzrostu badano metodą owianego testu cylindrycznego wg. B o n n e r a /1933/ stosowaną powszechnie z rozdziałem chromatograficznym i elektroforetycznym /B e n n e t - C l a r k i w s p ó ł p r a c. 1952, S t o w e i T h i m a n n 1953, M i c h a l s k i 1958, 1960, M i c h n i e w i c z i M i c h a l s k i 1960, M i c h a l s k i i C h r o m i ń s k i 1960/.

Paski elektroforetyczne po wysuszeniu, dzielono poprzecznie na 9 części, z których każdą eluowano w probówkach zawierających po 2 ml 2% wodnego roztworu sacharozy w ukośnym klinostacie próbkowym, obracającym się z szybkością 1,5 obr./min. przez 12 godz. w temp. 21°C.

Jako materiał testowy posłużyły koleoptile owsa "Zwycięzca" ze Svalöf-Szwecja. Owies przed wysianiem, przez 3 godz. moczone w wodzie na świetle. Trociny z drzewa liściastego, służące jako podłoże do hodowli, były dobrze wygotowane i przemyte. Hodowlę przeprowadzano na trocinach o 30 % wilgotności i 85 % wilgotności względnej atmosfery w komorze hodowlanej, umieszczonej w termostacie o temp. 25°C. Kiełki hodowano przez 72 godz. aż do osiągnięcia 20 mm długości. Z materiału takiego, wycinano

gilotynką żyłkową 4 - mm odcinki koleoptile, w odległości 3 mm poniżej wierzchołka. Dla podniesienia czułości testu do rzędu 10^{-6} % IAA /L i n s e r i K i e r m a y e r /1957/, wycięte cylinderki umieszczano na 6 godz. w wodzie destylowanej w temp. 23°C /R i e t s e m a 1950/. Po upływie tego czasu, do każdej próbki z eluatem, wkładano po 12 cylinderków a następnie poddawano powtórnemu powolnemu wirowaniu w klinostacie próbkowym przez 20 godz. w temp. 23°C . Powolne wirowanie w klinostacie próbkowym zapobiegało wygięciom geotropicznym koleoptile /N i t s c h i N i t s c h 1956 b/.

W celu wyeliminowania szkodliwego działania światła na rozdzielane substancje wzrostowe jak i materiał testowy, wszystkie czynności związane z przygotowaniem materiałów przeznaczonych do analizy biologicznej, wykonywano przy świetle filtrowanym przez czerwony filtr GG 2 f. Schott. /L a r s e n 1955 a/.

Przyrost cylindrów mierzono miarką milimetrową, po uprzednim 15-krotnym powiększeniu ich w rzutniku fotograficznym. Dla kontrolnej przyrostu cylindrów użyto eluatów z bibuły rozwiniętej 0,15 M buforem fosforanowym, stosowanym przy rozdzielaniu elektroforetycznym. Wszystkie analizy biologiczne wykonano w 3-krotnym powtórzeniu.

Analiza statystyczna wyników, według wzoru podanego przez L e o p o l d a /1955/ wykazała, że średni błąd średnich przyrostu jest zawarty w granicy $\pm 4,78$ %. Do wykreślenia histogramów posłużyły wyniki przeliczone na procenty przyrostu długości cylindrów w stosunku do kontroli. Przyrost odcinków kontrolnych przyjęto jako zero procent i przedstawiono na histogramach w postaci prostej linii ciągłej. Wartość błędu $\pm 4,78$ % dla stymulatorów i inhibitorów oznaczono liniami przerywanymi. Różnice

istotne zaczerpnione.

Poszczególne histogramy oznaczono cyframi odpowiadającymi terminom pobierania prób do analizy. Dla łatwiejszego oznaczania położeń poszczególnych stymulatorów i inhibitorów histogramy podzielono na strefy, odpowiadające odcinkom analizowanych testowo pasków elektroforetycznych.

B. Analiza fluorescencyjna. - W celu bliższego zidentyfikowania regulatorów wzrostu, występujących w ekstraktach, wysuszone elektroferogramy i chromatogramy badano na pierwotną fluorescencję plam w filtrowanym przez filtr Wooda ultrafiolecie. Ze względu na destrukcyjny wpływ UV na niektóre substancje wzrostowe /M e l c h i o r 1957/, paski przeznaczone do bioautografii wyłączone z analizy fluorescencyjnej.

C. Wywoływanie. - Dla wywołania plam rozdzielonych substancji, paski bibuły opryskiwano następującymi wywoływaczami:

- 1/ odczynnikiem Salkowsky'ego, w składzie 5 % HClO_4 z 0,05 n FeCl_3 w stosunku 100 : 2 /L a r s e n 1955 a/.
- 2/ Odczynnikiem Ehrlicha, złożonym z 2 % p-dwusetylamino-benzaldehydu w 2 n HCl w 80 % etanolu /S t o w e i T h i m a n n 1954/.
- 3/ odczynnikiem Prochazki, zawierającym 40 % formaldehyd, stężony HClO_4 i wodę w stosunku 1 : 1 : 2. /H a i s i M a c e k 1958/ i suszone w temp. 70°C aż do pojawienia się różno-pomarańczowych plam, których wzmożoną wtórną fluorescencję badano ponownie w ultrafiolecie.

Użycie trzech rodzajów wywoływaczy do wybarwiania plam jest uzasadnione dość znacznymi odchyleniami w barwach niektórych związków indolowych, podawanych przez szereg badaczy.

I tak S t o w e i T h i m a n n /1954/ barwił IAN odczynnikiem

nikiem Ehrlicha na purpurowo, natomiast S e n i L e o p o l ó /1954/ na żółto. Wywoływanie plam na paskach bibuły trzema wymienionymi odczynnikami, pozwoli uniknąć błędów przy porównaniu z barwami wzorców - syntetycznych substancji, rozdzielanych dla kontroli równoległe z naturalnymi.

D. Substancje wzorcowe. - W celu identyfikacji niektórych naturalnych regulatorów wzrostu występujących w badanych ekstraktach przez porównanie ze syntetycznymi, do badań porównawczych użyto: kwasu 3-indoliloctowego /IAA/ pochodzącego z f. Merck - Darmstadt, nitrilu kwasu 3-indoliloctowego /IAN/, estruetylowego kwasu 3-indoliloctowego /EIA/ i aldehydu 3-indolowego /IAH/, syntetyzowanych przez Dr Lesiaka w Zakł. Chemii Organicznej U.M.K.

Wszystkie substancje wzorcowe poddano analizom, które stosowano wobec naturalnych regulatorów wzrostu z ekstraktów, z wyjątkiem bioautografii.

Jak wynika z rozdziałów syntetycznych regulatorów wzrostu przy użyciu do ekstrakcji obu rozpuszczalników, substancje obojętne: aldehyd IAA /IAH/, e ter etylowy IAA /EIA/ i nitril IAA /IAN/ przeszły do n-heksanu. IAA nierozpuszczalny w n-heksanie przeszedł do metanolu.

Rozdzielone wstępnie w ekstrakcji substancje wzorcowe poddano analizie chromatograficznej w warunkach rozdzielu rozwijaczem klasycznym złożonym z izo-propanolu - amoniaku - wody /10 : 1 : 1/. Zgodnie ze założeniami teoretycznymi, substancje obojętne posiadały $R_f > 0,5$ a substancje kwaśne /IAA/ $R_f < 0,5$. Przy zastosowaniu do rozwijania wody wartości R_f ulegały zasadniczej zmianie, kwaśne substancje umiejscowiły się w $R_f > 0,5$ a obojętne w $R_f < 0,5$. Szczegółowe wartości R_f syntetycznych

substancji jak i barwy plam po wywołaniu odczynnikami Salkowskiego, Ehrlicha i Prochazki a także barwy fluorescencji w UV ujęte są w tab.1.

Obok analiz chromatograficznych w tabeli ujęte są także rezultaty rozdzielaków elektroforetycznych w buforach w pH 7 i pH 4. Przy rozdzielaniu przy pH 7, IAA powędrował do anody na odległość + 9,0 cm. Do anody migrował także, ale bardzo wolno, IAH /+ 2,2 cm/. BIA przesunął się natomiast w kierunku katody /- 2,4 cm/. IAH pozostał natomiast w punkcie startowym. W warunkach elektroforezy przy pH 4 wszystkie substancje z szybkością zależną od swego pI powędrowały do katody.

Tab. 1. Chromatograficzny i elektroforetyczny rozdział syntetycznych substancji wzrostowych i barwy ich plam.

| | Chromatografia | | Elektroforeza | | Barwy plam | | | | |
|---------------------------------|---|------|---------------|-------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------|------------------------------|
| | RF | RF | cm | cm | UV | Salkowski | Mrllich | Prochaska | |
| | 1-PROH 10 NH ₄ OH / 1 H ₂ O / 1 | | | pH 7 | pH 4 | | | | |
| Symb. | RF | RF | cm | cm | | | | | UV |
| kwas 3-indoliloct. | 0,40 | 0,83 | + 9,0 | - 3,9 | szaro- niebieska szn | różowa r | szaro- fioletowa szf | żółta ż | żółto- brązowa żbr |
| aldehyd 3-indolowy | 0,71 | 0,35 | 0 | -1,0 | żółta ż | jasno- brązowa jbr | jasno- brązowa jbr | pomarańcz. p | pomarańcz. brązowa pbr |
| nitryl kwasu 3-indoliloct. | 0,84 | 0,30 | + 2,2 | -10,0 | niebiesko- zielona nz | zielono- brązowa zbr | żółto- brązowa żbr | żółta ż | żółto- brązowa żbr |
| ester etyl.kw. 3-indoliloct. | 0,82 | 0,56 | - 2,4 | -12,8 | jasno- niebieska jn | żółto- różowa zr | fioletowa f | żółta ż | żółta ż |

Skróty dotyczą oznaczeń barw plam stosowanych na tabl. 2-25.

III. W Y N I K I B A D A Ń

1. Wpływ różnych fotoperiodów na wzrost i rozwój roślin.

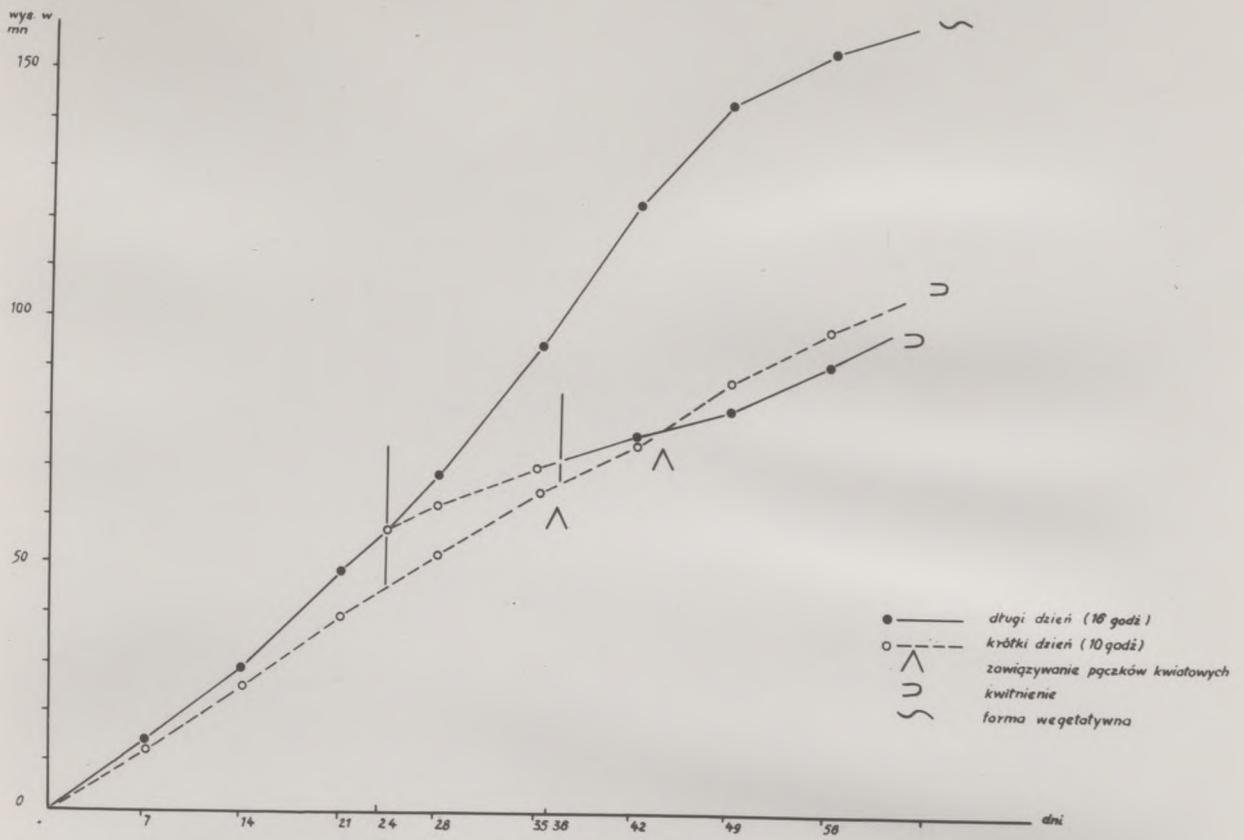
A. Roślina dnia krótkiego /Perilla ocimoides L./

a/ Wpływ krótkiego fotoperiodu

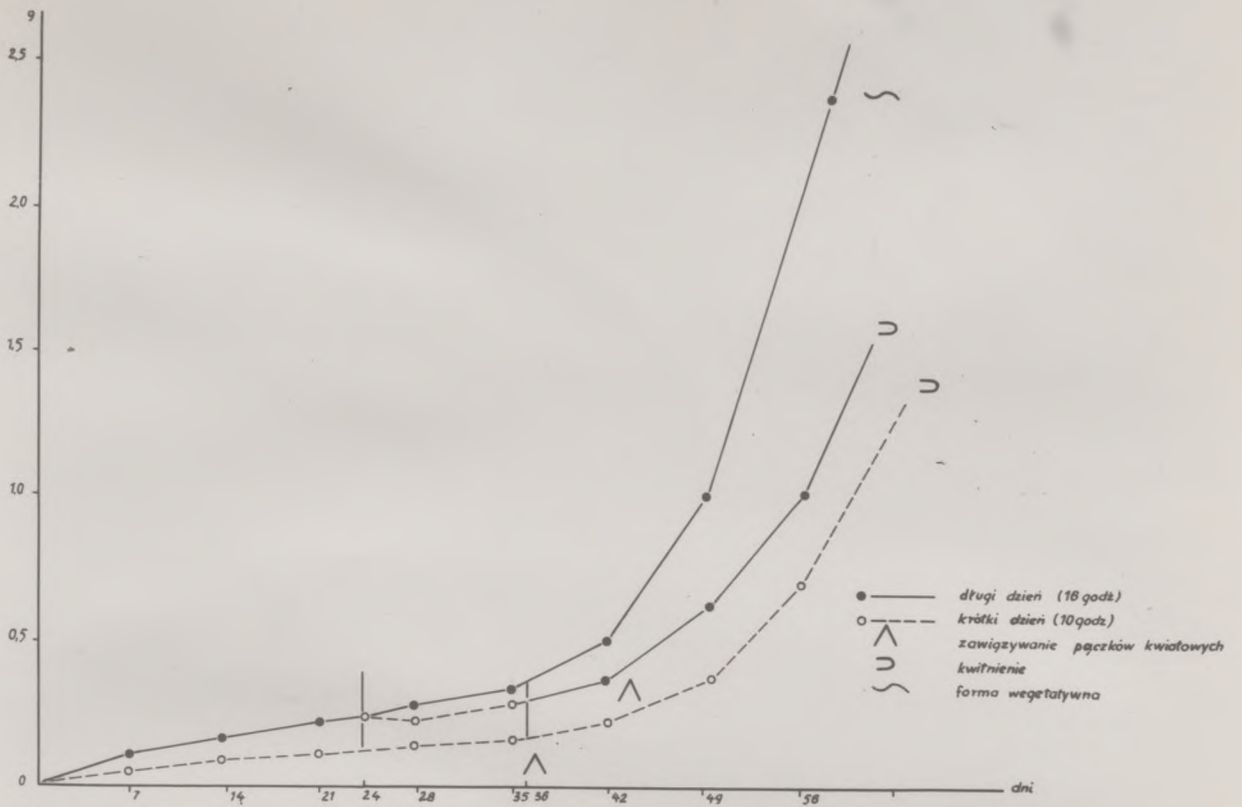
Rośliny w warunkach 10 godz. fotoperiodu wzeszły na dziesiąty dzień od wysiewu. Pojawienie się pierwszych pączków kwiatowych przypadło na 35 - 36 dzień wegetacji, a rozwinięcie się kwiatów zanotowano w 61 - 63 dniu. Szybkość wzrostu roślin w warunkach luminostatowych przedstawiono graficznie na ryc.3. Jak wynika z wykresu wzrost ten w optymalnym dla tego typu rośliny fotoperiodzie ma przebieg równomierny. Nieco odmiennie przedstawia się natomiast przyrost świeżej masy /ryc.4/. Charakterystycznym jest jej szybki przyrost od 36 dnia wegetacji, to jest od chwili pojawienia się pierwszych pączków kwiatowych. Roślina wzrastając równomiernie bardzo znacznie zwiększa masę z chwilą przejścia od fazy wegetatywnej do generatywnej.

b/ Wpływ długiego fotoperiodu.

Podobnie jak w warunkach dnia krótkiego, w 16 godzinnym fotoperiodzie rośliny wzeszły na 10 dzień od wysiewu. Pącznotka w czasie całego okresu doświadczeń nie zawiązała pączków kwiatowych, a warunki świetlne dnia długiego wpłynęły na jej pokrój. Różnice we wzroście pomiędzy roślinami z dnia krótkiego a długiego uwidoczniły się już w 21 dniu wegetacji, bowiem w warunkach 16 godzinnego fotoperiodu rosły znacznie szybciej. Obrazuje to wykres na ryc.3. Wpływ długości dnia na przyrost świeżej masy uwidocznił na ryc.4. Porównanie tych



Ryc. 3. Wpływ różnych fotoperiodów na wzrost rośliny dnia krótkiego - *Perilla ocimoides* L.



Ryc. 4. Wpływ różnych fotoperiodów na przyrost suchej masy rośliny dnia krótkiego - *Perilla ocimoides* L.

dwóch wykresów wskazuje na wyraźną korelację pomiędzy przyrostem świeżej masy i wzrostem roślin w warunkach dnia długiego.

c/ Wpływ zmienianego fotoperiodu

Rośliny przebywające w warunkach dnia długiego przez pierwsze 24 dni wegetacji, poddano działaniu krótkiego fotoperiodu przez następny okres 12 dni, po upływie którego ponownie przenieszone w warunki 16 godzinnego dnia. Wzrost i rozwój pachnotki do 24 dnia wegetacji był identyczny jak opisano wyżej dla długiego fotoperiodu. Od chwili pierwszej zmiany długości dnia /24 dzień/ rośliny wyraźnie zmieniły swój pokrój, zahamowały wzrost, zwiększyły jednak masę w stosunku do roślin przebywających w optymalnych warunkach świetlnych. Barwniki liści uległy ściemnieniu. Spodnia strona liści zbrunatniała, wskazując na pojawienie się antocyjanów, czego nie dostrzeżono w poprzednich wariantach doświadczeń. W 42 dniu wegetacji, już po zakończeniu działania fotoperiodem 10 godzinnym, rośliny doświadczalne zrównały swój wzrost z roślinami rosnącymi w warunkach krótkiego fotoperiodu. Dależy wzrost uległ wyraźnemu przyhamowaniu. Zawiazanie się pączków kwiatowych zauważono w 43 dniu wegetacji a pełne kwitnienie nastąpiło w 60 dniu a więc o 2 - 3 dni wcześniej, niż u roślin w warunkach krótkodniowych. Zmiana fotoperiodu wpłynęła obniżająco na przyrost świeżej masy w stosunku do roślin wegetujących w warunkach dnia długiego, lecz był on zawsze wyższy niż u roślin z dnia krótkiego./ryc.4/. Przyhamowanie wzrostu w warunkach zmienianego fotoperiodu i przyrost świeżej masy w stosunku do danych uzyskanych dla roślin wegetujących w optymalnych warunkach świetlnych, wskazuje na wzmocnienie roślin przez zgrubienie pędu i powiększenie blaszek liściowych.

Różnice w pokroju roślin wegetujących w warunkach foto-

Ryc. 5. Wpływ różnych fotoperiodów na pokrój rośliny dnia
krótkiego - *Perilla ocimoides* L.

a - krótki fotoperiod

b - długi fotoperiod

c - zmieniany fotoperiod /długi - krótki - długi/



Ryc. 5

periodu krótkiego /a/, długiego /b/ i zmienianego /c/ przedstawia ryc.5.

B. Roślina dnia długiego /Calendula officinalis L./

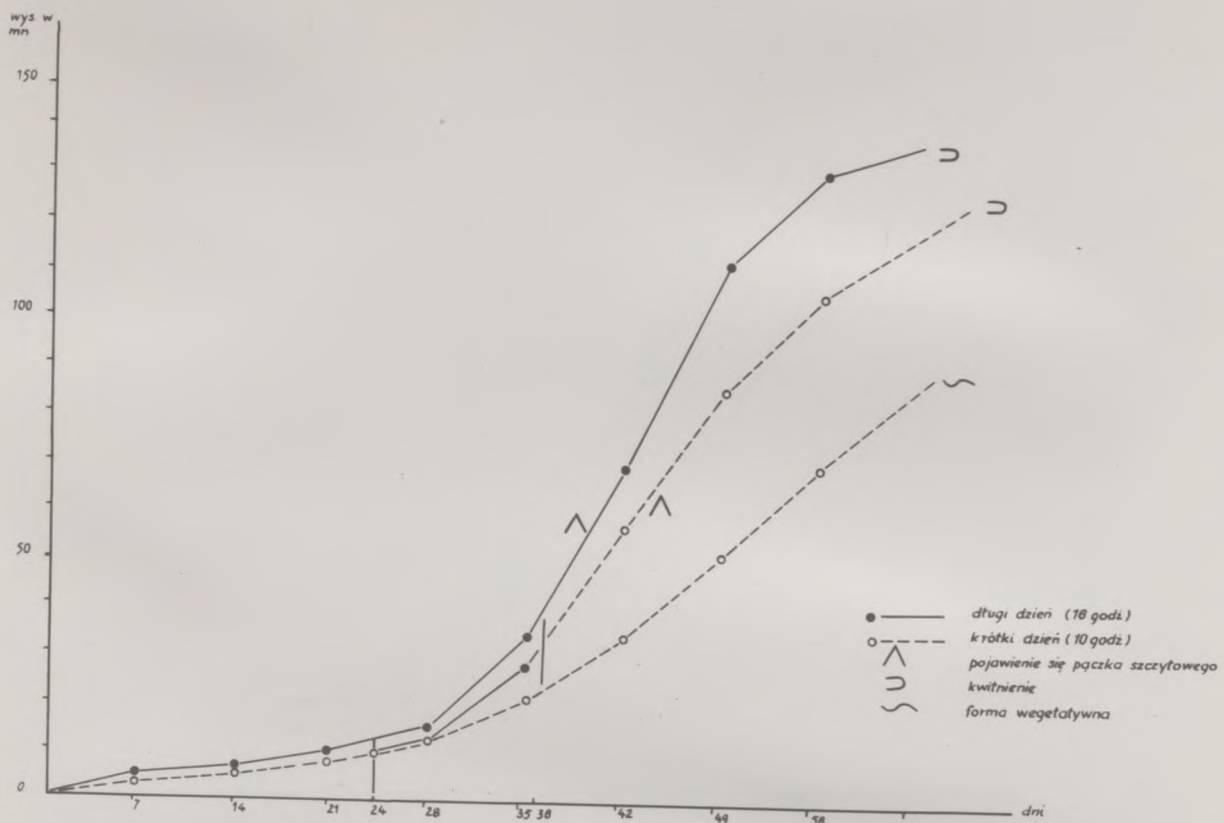
a/ Wpływ długiego fotoperiodu.

W optymalnych dla wzrostu i rozwoju nagietka warunkach fotoperiodu długiego, rośliny wzeszły w 7 dniu od wysiewu. Pojawienie się u roślin pączków szczytowych początkujących wydłużanie się pędu kwiatowego, przypadało na 38 - 39 dzień od wschodów. Rośliny zakwitły począwszy od 63 dnia wegetacji. Jak to przedstawia ryc.6 wzrost roślin do 28 dnia wegetacji był dość powolny. Od tego terminu następuje znaczne przyspieszenie wzrostu, a następnie wydłużanie się pędu kwiatowego. W ostatnim okresie, przed kwitnieniem, dostrzegalne jest zwolnienie wzrostu. Przyrost świeżej masy /ryc.7/ przebiega jednak nieco odmiennie - bardziej równomiernie.

b/ Wpływ krótkiego fotoperiodu.

Podobnie jak w warunkach dnia długiego, rośliny wzeszły w 7 dniu od wysiewu. Na 10 godzinny dzień nagietek nie zakwitł, pozostając przez 63 dni, to jest do końca doświadczeń w formie wegetatywnej.

Wzrost roślin na dniu krótkim, do 28 dnia wegetacji, nie różnił się zasadniczo w porównaniu do obiektów z długiego dnia /ryc.6/. Od tego terminu zaznaczyło się stopniowe zwalnianie tempa wzrostu w stosunku do roślin rosnących w warunkach 16 godz fotoperiodu. Przebieg przyrostu świeżej masy w tym doświadczeniu nie różnił się także w porównaniu do poprzedniego. W warunkach dnia krótkiego był on nieco niższy /ryc.7/. Przyrost świeżej masy, na tle wzrostu rośliny pozostającej przez cały okres wege-



Ryc. 6. Wpływ różnych fotoperiodów na wzrost rośliny dnia długiego - *Calendula officinalis* L.

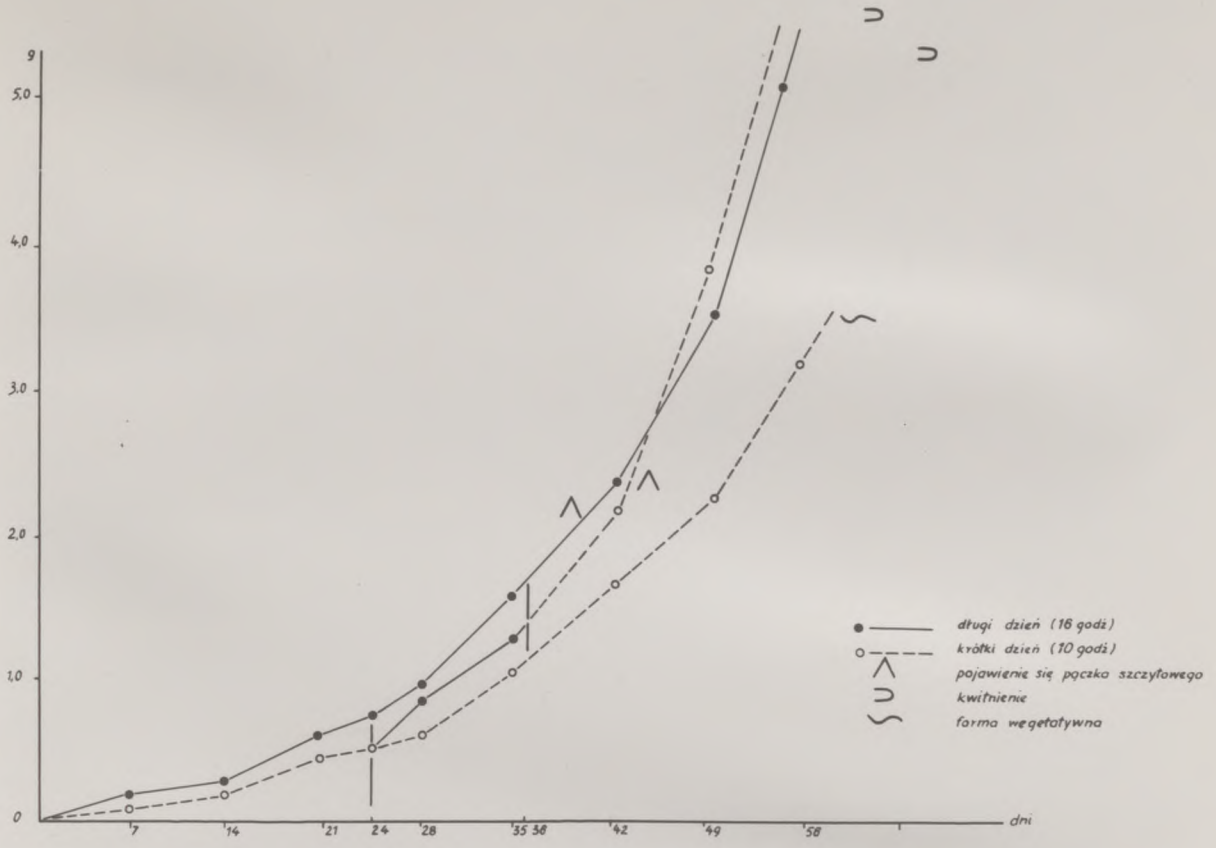


Fig. 7. Wpływ różnych fotoperiodów na przyrost świeżej masy rośliny dnia długiego - *Calendula officinalis* L.

tacji w formie skróconej, świadczy o jej rozroście np. powierzchni blaszek liściowych.

c/ Wpływ zmienianego fotoperiodu

Wzrost rośliny dnia długiego wegetującej w warunkach krótkiego fotoperiodu, jak już zaobserwowano uprzednio, nie różni się zasadniczo od wzrostu roślin przebywających w optymalnych dla nich warunkach fotoperiodycznych. Istotnej różnicy we wzroście nie zauważono także w omawianym wariancie doświadczenia, nawet po czterodniowym działaniu długim fotoperiodem /28 dzień wegetacji/. Dopiero pod koniec indukującego fotoperiodu w 42 dzień wegetacji, zaznaczyły się różnice we wzroście i to większe w stosunku do roślin z krótkiego fotoperiodu dnia długiego. Różnice takie utrzymywały się nadal aż do zakwitania /ryc.6/.

Przyrost świeżej masy, w warunkach zmienianego fotoperiodu, nie szedł w parze ze wzrostem /ryc.7/. Już po czterodniowym działaniu długim dniem /28 dzień wegetacji/, zaznacza się zwiększenie przyrostu świeżej masy w stosunku do zwykłej w warunkach dnia krótkiego. W okresie pojawienia się pierwszego pęczka szczytowego, przyrost ten przekroczył zwykłą świeżej masy obserwowaną u roślin wegetujących w optymalnym dla nich fotoperiodzie i utrzymał się na tym poziomie aż do końca doświadczeń.

W 44 dniu od wysiewu, zaobserwowano pojawienie się pęczka szczytowego. Pierwsze kwiaty rozwineły się w 61 dniu wegetacji.

Jak wynika z ryc.8, warunki fotoperiody długiego /a/, krótkiego /b/ i zmienianego /c/ wpłynęły wyraźnie na pokrój rośliny doświadczalnej.

Ryc. 8. Wpływ różnych fotoperiodów na pokrój rośliny dnia
długiego - *Calendula officinalis* L.

a - długi fotoperiod

b - krótki fotoperiod

c - zmieniany fotoperiod /krótki - długi - krótki/



Ryc. 8

2. Wpływ różnych fotoperiodów na poziom regulatorów wzrostu.

Wyniki analiz biologicznych rozdzielonych elektroforetycznie regulatorów wzrostu, z materiału roślinnego, przedstawiono w postaci histogramów.

Strefy położone obojętnej substancji wzrostowych zawartych w ekstraktach heksanowych oznaczono literami A - E a dla substancji kwaśnych z ekstraktów metanolowych literami U - Z.

A. Roślina dnia krótkiego /Perilla ocimoides L./

a/ Wpływ krótkiego fotoperiodu /ryc.9/

Substancje obojętne. - Histogram z ekstraktu heksanowego z roślin dnia krótkiego wegetujących w warunkach krótkiego fotoperiodu, po 7 dniach wzrostu obiektów doświadczalnych, wykazuje wyraźne zróżnicowanie strefy stymulatorów i inhibitorów wzrostu /ryc.9/. Po stronie katody, stymulator zajmuje strefę A, obok niego w odcinku plamy startowej /strefa C/ znajduje się drugi stymulator o wysokiej aktywności. Obydwa te stymulatory rozdzielają dwa inhibitory w położeniu katody /A-B, B-C/. Ostatni z nich wykazuje znaczną aktywność. Po stronie anody, obok aktywnego stymulatora /C/ umiejscowiony jest jeszcze jeden stymulator C-D a następny w strefie E. Po stronie anodowej, stymulatory rozdzielają 2 inhibitory D, D-E. Omawiany układ charakteryzuje się wyraźną przewagą poziomów nad inhibitorami.

W następnym tygodniu wegetacji /14/dzień/ wśród regulatorów następują duże zmiany jakościowe i ilościowe. Inhibitory po stronie katody zanikają, pojawiają się natomiast na anodzie. Duże zmiany występują także wśród stymulatorów, z których substancje ze strefy A i E potęgują swą aktywność. Obok nich pojawiają się dwa dalsze /B, D-E/. W tym układzie zasnacza się

Ekstrakt heksanowy
dzień

Ekstrakt metanolowy
dzień

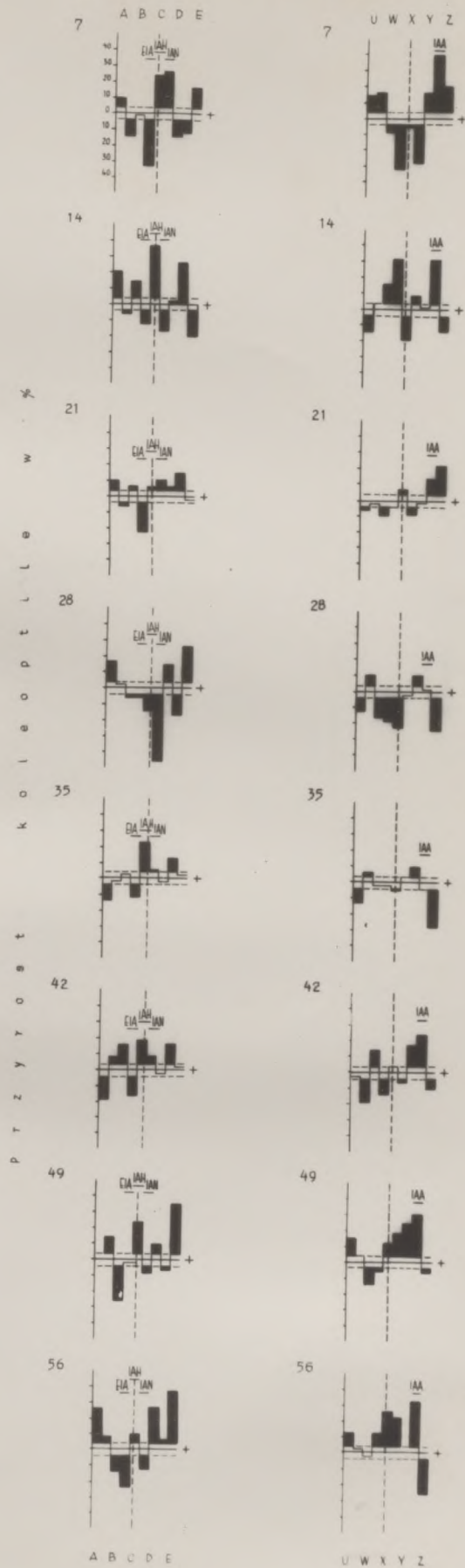


Fig. 9. Bioautograficzna analiza regulatorów wzrostu u rośliny dnia krótkiego wegetującej w warunkach krótkiego fotoperiodu.

jeszcze większa przewaga stymulatorów nad inhibitorami.

W 21 dniu poziomy regulatorów wzrostu znacznie obniżają się. W układzie po stronie katodowej można się dopatrzeć pewnej analogii z omówionym poprzednio histogramem /14 dzień/. Obniżenie poziomów stymulatorów i inhibitorów daje pewną równowagę ich aktywności.

4 tydzień wegetacji /28 dzień/ zaznacza się zdecydowaną przewagą inhibitorów, z których najaktywniejszy umiejscowiony jest na anodzie /C-D/. Po tej stronie znajdują się: inhibitor D-E i stymulator E.

Następne dwa histogramy /35 i 42 dzień/ nie różnią się zasadniczo jakością i aktywnością regulatorów. Ich aktywność jest raczej niska z nieznaczną przewagą inhibitorów w pierwszym wypadku a stymulatorów w drugim. Obydwa histogramy obejmują okres zawiązywania pączków kwiatowych.

Ostatnie dwa układy /49 i 56 dzień/ charakteryzuje obecność aktywnych stymulatorów C,D,E, po stronie anody a stymulatorów i inhibitorów B, B-C po stronie katody.

Tak jak w 42 dniu, przeważają stymulatory, których aktywność rośnie w miarę zbliżania się do okresu kwitnienia, przypadającego w warunkach dnia krótkiego na 61 - 63 dzień wegetacji.

Substancje kwaśne. - Ekstrakty metanolowe z materiału roślinnego, po uprzedniej ekstrakcji n-heksanem, zawierają kwaśne substancje wzrostowe a wśród nich kwas 3-indoliloctowy /IAA. Kwas ten w warunkach rozdziału elektroforetycznego przy pH 7 migruje do anody. W naszym wypadku umiejscowił się on w przedostatnim segmencie paska bibuły w strefie /Y-Z/.

W histogramie obejmującym substancje kwaśne z 7-dniowych roślin /ryc.9/ wyróżnia się po stronie anody strefę inhibitora

/X-Y/ i strefy stymulatorów /Y, Y-Z, Z/. Stymulator pozostający w położeniu IAA /Y-Z/ wykazuje znaczną aktywność wzrostową. Strona katody w tym układzie jest podzielona na strefy stymulatorów U, U-W i aktywnych inhibitorów W, W-X. Stymulatory wykazują tu większą aktywność aniżeli inhibitory.

U roślin 14-dniowych następują radykalne zmiany jakościowych regulatorów wzrostu, w położeniu stymulatorów pojawiają się inhibitory /strefa U, X i Z/ a w miejscu inhibitorów stymulatory /W, W-X, X-Y, Y-Z/. Wyjątek stanowi tu stymulator ze strefy Y-Z, który służy tylko nieco swą aktywności. W tym okresie wegetacji znacznie przeważają jeszcze stymulatory wzrostu. Od trzeciego tygodnia /21 dzień/ zaznacza się spadek aktywności stymulatorów wzrostu. W 28 dniu wzrasta aktywność inhibitorów.

Regulatory układów z dnia 28 i 35 są jakościowo podobne do siebie. W dalszych tygodniach /42, 49 i 56 dzień/ zauważa się jednak wzrost poziomu stymulatorów przy niesnacznym ich zróżnicowaniu jakościowym. Wśród stymulatorów dużą rolę odgrywa substancja ze strefy Y-Z a także inhibitor E. Obok tego stymulatora w 42 dniu występują jeszcze po stronie katodowej, dwa inhibitory U-W, W-X.

Na 49 dzień przy anodzie zauważamy kompleks stymulatorów zajmujących pozycję X, X-Y, Y, Y-Z. Ostatni z wymienionych wykazuje znaczną aktywność.

W ostatnim tygodniu badań /56 dzień/ inhibitory znikają z wyjątkiem bardzo aktywnej substancji ze strefy Z, pozostają natomiast stymulatory w pozycji U, W-X, X, X-Y, Y-Z.

b/ Wpływ długiego fotoperiodu /ryc.10/.

Substancje obojętne. - U roślin 7-dniowych występują dwa stymulatory w strefach B i C-D. Trzeci stymulator o bardzo nie-

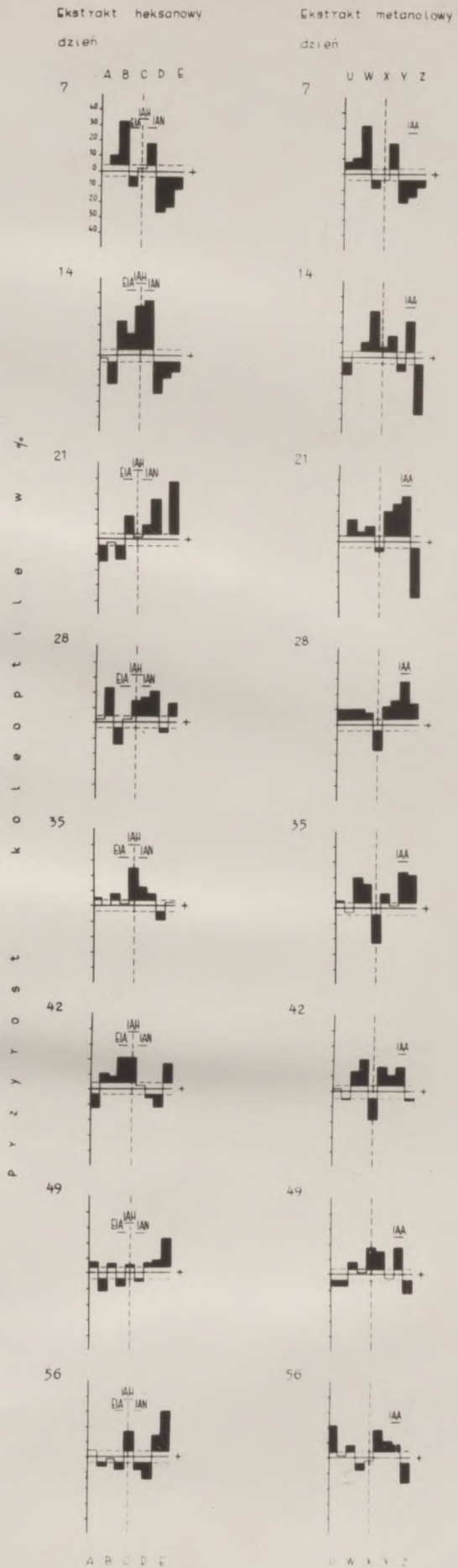


Fig. 10. Microradiographic analysis of growth regulators in a short-day plant under long photoperiod.

znaczej aktywności wzrostowej umiejscowiony jest w A-B. Obok stymulatorów występują jeszcze inhibitory, zwłaszcza po stronie anodowej /D, D-E i E/, przy katodzie natomiast mniej aktywny w strefie B-C. Aktywność tych pierwszych inhibitorów jest dość znaczna, mimo to nie przeważają one nad stymulatorami. Po upływie tygodnia /14 dzień/, następują znaczne zmiany. W strefach B-C, C pojawiają się dalsze stymulatory. Inhibitory o znacznie mniejszej aktywności zajmują podobnie jak w poprzednim układzie strefy D, D-E i E oraz pojawia się jeszcze jeden inhibitor po stronie katody /A-B/.

Trzeci tydzień /21 dzień/ przynosi dalszą zmianę w układzie stymulatorów, które zajmują teraz strefy B-C, C-D, D i E.

Bardzo zdecydowaną przewagę nad inhibitorami uzyskują stymulatory w 28 dniu. W tym okresie krzywa obrazująca na wykresie /ryc.15/ stosunek aktywności stymulatorów i inhibitorów w badanym materiale osiąga swój maksymalny poziom.

W następnym etapie na 35 dzień, maleje zarówno ilość stymulatorów jak i inhibitorów. Największą aktywność wykazuje tu stymulator w położeniu płamy startowej /C/.

42 dzień wegetacji Perilli w warunkach długiego fotoperiodu charakteryzuje przewaga stymulatorów nad inhibitorami. Zajmują one strefy A, D, D-E, stymulatory układają się natomiast w strefach B, B-C, C, C-D i E.

W następnym tygodniu /49 dzień/ aktywność stymulatorów nadal obniża się, jednakowoż w dalszym ciągu utrzymuje się ich przewaga nad inhibitorami.

W ostatnim okresie analizy, na 56 dzień wegetacji, wzrasta się aktywność inhibitorów i stymulatorów, z których te ostatnie utrzymują nadal znaczną przewagę.

Substancje kwaśne. - Zmiany w poziomie i jakości regulatorów wzrostu zawartych w ekstraktach metanolowych są ujęte na

ryc.10. Układ z 7 dnia ma po stronie anody trzy inhibitory i 1 stymulator. Zaznacza się tu brak IAA. Po stronie katodowej mamy przewagę stymulatorów.

Już po dalszych dniach wegetacji /14 dzień/ stosunek ten nieznacznie się zmienia na korzyść stymulatorów. Na anodzie pojawia się IAA oraz inhibitor E o znacznej aktywności. Obecność tego inhibitora zauważono w materiale już w 2 i 4 ⁸-tygodniu wegetacji Perilli na dniu krótkim. W omawianych obecnie warunkach dnia długiego zauważa się go w 1, 2, 3, 5-6 tygodniu wzrostu rośliny.

W trzecim tygodniu stymulatory osiągają zdecydowaną przewagę, grupując się głównie po stronie anody w strefie X-Y, Y, Y-Z. W tym układzie dominuje jeden inhibitor ze strefy Z. Poziom regulatorów wzrostu zajmujących położenie płaszy startowej - strefę X utrzymuje się w omówionych okresach nieco powyżej lub poniżej granicy błędu doświadczalnego.

W następnych histogramach, obejmujących trzy następne okresy 28, 35 i 42 dnia zaznacza się wyraźna zmiana aktywności regulatorów zajmujących strefę X. Pojawia się bardzo aktywny i jedyny inhibitor, który rozdziela grupy stymulatorów po stronie anody i katody. Poziom tu występującego IAA ulega stopniowemu obniżaniu.

W ostatnich dwóch tygodniach /48 i 56 dzień/ następuje dalsze obniżanie poziomów stymulatorów przy jednoczesnych zmianach jakościowych inhibitorów. W miejsce inhibitora ze strefy X pojawia się stymulator /48 dzień/, którego aktywność następnie opada. Inhibitory umiejscawiają się na anodzie /E/ a także na katodzie w strefie U, U-W w 48 dniu a w strefie W-X na 56 dzień.

c/ Wpływ zmienianego fotoperiodu /ryc.11/.

Substancje obojętne. - Pierwszej analizie regulatorów wzrostu dokonano w 24 dniu wegetacji, to znaczy w dniu zmiany fotoperiodu z długiego na krótki. W tym układzie obejmującym substancje obojętne, możnaby się dopatrywać pewnej analogii z układem już wyżej omawianym z doświadczeń z długim fotoperiodem /ryc.10 - 21 dzień/. Obserwujemy tu, po stronie anody, dwa aktywne stymulatory /D, E/, a po stronie katody: inhibitor /B/ i stymulatory A-B, E-C o niższej aktywności.

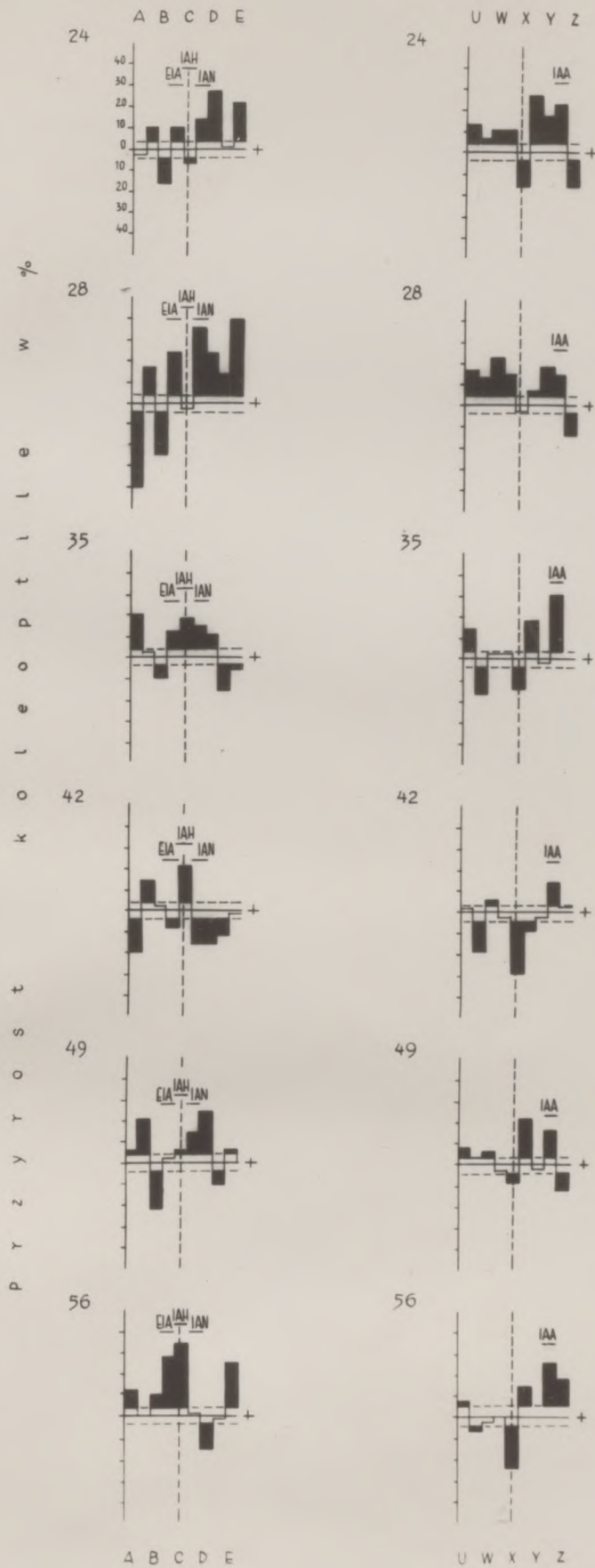
Działanie 4 krótkich fotoperiodów zmienia radykalnie poziom regulatorów /28 dzień/. Zjawisko to wyraźnie zaznacza się w porównaniu z histogramem z tego samego okresu w dniu długim /ryc.10 - 28 dzień/. Wspomniane zmiany dotyczą spotęgowania się aktywności regulatorów i zróżnicowania jakościowego. Po stronie anody ułożyły się bardzo aktywne stymulatory w strefach C-D, D, D-E, E. Brak jest tu zupełnie inhibitorów, które powędrowały w procesie elektroforetycznym do katody zajmując strefy A i B. Obok nich mamy dalsze dwa stymulatory A-B, B-C. Po tym okresie zwiększenia się poziomu i ilości regulatorów następuje bardzo gwałtowny ich spadek, co obserwujemy w 35 i 42 dniu wegetacji.

W ostatnich tygodniach /49 i 56 dzień/ w czasie intensywnego zawiązywania i rozwoju pączków kwiatowych zauważa się ponowną wyższą aktywności stymulatorów. Występują tu ponownie stymulatory ze strefy C i E.

Substancje kwaśne. - Podobnie jak zmiany w aktywności substancji obojętnych, można także w substancjach kwaśnych podzielić na trzy okresy. Pierwszy z nich /24 - 28 dnia/ jest charakterystyczny podnoszeniem się poziomu stymulatorów wzrostu i za-

Ekstrakt heksanowy
dzień

Ekstrakt metanolowy
dzień



rys. 11. bioautograficzna analiza regulatorów wzrostu u rośliny dnia krótkiego wegetującej w warunkach zmienianego fotoperiodu.

nikaniem inhibitorów. Zauważamy, że układ stymulatorów i inhibitorów na histogramie z 24 dnia wegetacji /ryc.11/ jest ogniwem pośrednim pomiędzy układami z 21 i 28 dnia długiego. Na histogramie z 21 dnia wegetacji roślin na dniu długim /ryc.10/ widzimy dwa inhibitory: mało aktywny w strefie X i bardzo aktywny Z. Do 28 dnia inhibitor ze strefy Z znikł a położony w strefie X spotęgował swoją aktywność. W chwili rozpoczęcia doświadczeń ze zmianą fotoperiodu, na histogramie z 24 dnia wegetacji widzimy jeszcze obecność obydwu inhibitorów X i Z. Po upływie 4 fotoperiodów krótkich, inhibitor ze strefy X znikł.

W drugim okresie obejmującym 35 i 42 dzień, zauważa się stopniowe znikanie szeregu stymulatorów a pojawianie się inhibitorów, które uzyskuje jak to widać na histogramie z 42 dnia zdecydowaną przewagę. Z inhibitorów najaktywniejszym staje się -inhibitor położony w strefie X.

49 i 56 dzień wegetacji, przypadający na rozwój pąsków kwiatowych, obejmuje trzeci okres, w którym stwierdzamy stopniowy wzrost aktywności stymulatorów i ustalenie się decydującej przewagi tych ostatnich nad inhibitorami.

B. Roślina dnia długiego /Calendula officinalis L./

a/ Wpływ długiego fotoperiodu /ryc.12/.

Substancje obojetne. - Już w pierwszym tygodniu wegetacji nagietka /7 dzień/, w optymalnych dla jego rozwoju warunkach świetlnych, zaznacza się wyraźna przewaga obojętnych stymulatorów nad inhibitorami. Ich zróżnicowanie jakościowe jest dość duże, a aktywność biologiczna znaczna. Wśród stymulatorów występujących w strefach B, C, C-D, E najwyższą aktywność wykazuje stymulator po stronie katody w strefie B. Wśród inhibitorów

zanotować można obecność substancji, które umiejscowiły się w strefach A-B, B-C, D, D-E.

Po upływie tygodnia /14 dzień/, aktywność regulatorów wzrostu ogólnie się obniża, rośnie jednak przewaga stymulatorów. W następstwie zmian jakościowych pojawiają się nowe stymulatory A-B, B-C, D-E i inhibitor B. Pozostają jednak uprzednio zaobserwowane stymulatory ze stref A, C, E, oraz inhibitory D.

W trzecim tygodniu /21 dzień/, następuje dalsze zwiększenie ilości stymulatorów przy jednoczesnym zanikaniu aktywności inhibitorów, które podobnie jak w układzie z 1 tygodnia występują w strefie A-B, B-C. Pojawia się nowy inhibitor C-D o bardzo nieznacznej aktywności, wykraczającej nieco poza granicę błędu doświadczalnego $\pm 4,78\%$. Na uwagę zasługuje występujące już w dwu poprzednich układach stymulatory w strefie A, C, E. Obok występującego po stronie anody stymulatora E, pojawiły się nowe o dużej aktywności w strefie D, D-E.

W kolejnym histogramie z 28 dnia wegetacji, w warunkach optymalnego dla rośliny fotoperiodu, stymulatory mają zdecydowaną przewagę, występują bowiem w strefach A, A-B, B, C, E. Zjawiają się także 3 inhibitory B-C, C-D, D-E. Stymulatory po stronie katody tworzą kompleks o dużej aktywności. Podobne zjawisko obserwujemy w poprzednim histogramie /21 dzień/, po stronie anody.

W piątym tygodniu /35 dzień/, aktywność stymulatorów wyraźnie opada a inhibitory zanikają. Pozostaje tylko jeden w strefie B-C. Stymulatory zajmują pozycje jak poprzednio, zauważa się jednak brak najaktywniejszego /E/, pojawia się natomiast inny po stronie anody /D/.

Następne dni rozwoju /42 dzień/ przynoszą radykalne zmiany w ugrupowaniu i aktywności regulatorów wzrostu. Aktywność ich wzrasta tak, że mają przewagę w tym układzie. Charakterystycznym jest, że inhibitory ułożyły się po stronie katody /A, A-B, B, B-C/, natomiast stymulatory przy anodzie /C, C-D, D, E/.

Cechą ostatnich dwóch układów jest obniżony poziom regulatorów. W 49 dniu stymulatory występują w strefach B, B-C, C, C-D, D-E, E i mają zdecydowaną przewagę nad inhibitorami A, D. W 8 tygodniu /56 dzień/ maksimum aktywności osiąga stymulator C, obok niego występują jeszcze stymulatory w strefach B, C-D, E. Inhibitory o niesnaczej aktywności umiejscowione są w A-B, D, D-E.

Substancje kwaśne.- W ekstraktach metanolowych zawierających kwaśne substancje, we wszystkich układach po stronie anody w strefie Y-Z występuje stymulator o zmiennej aktywności. Położenie jego wskazywałoby na IAA. Na uwagę zasługuje stałość jego występowania. Inne regulatory ulegają dość częstym zmianom.

W pierwszych trzech tygodniach rozwoju rośliny /7, 14 i 21 dzień/ poziomy kwaśnych regulatorów wzrostu są niewysokie, stopniowo jednak wzrastają. We wszystkich wymienionych układach występują stymulatory w strefach U, W, Y-Z. Jako jedyny inhibitor w strefie W-X.

W 28 dniu następuje zdecydowany wzrost aktywności zwłaszcza stymulatorów, wśród których pojawiają się nowe w pozycjach U-W, W-X, X-Y. Inhibitor zajmuje pozycję U.

Bezpośrednio przed okresem strzelania rośliny w pęd kwiatowy aktywność regulatorów wzrasta zwłaszcza stymulatora zajmującego położenie IAA./35 dzień/. Ponownie w strefie U pojawia się stymulator.

Dalsze trzy tygodnie /42, 49 i 56 dzień/ obejmujące wzrost pędu kwiatowego jak i szybki rozrost masy, charakteryzują się zdecydowaną przewagą stymulatorów nad inhibitorami. Stwierdzamy obecność stymulatorów w strefach X-Y, Y, Y-Z. Położenie ich zmienia się każdorazowo. Na podkreślenie zasługuje pojawienie się już w 35 dniu wegetacji inhibitora w strefie plamy startowej /X/, stopniowo wzmagającego swą aktywność fizjologiczną.

b/ Wpływ krótkiego fotoperiodu /ryc. 13/.

Substancje obojętne. - Histogram z 7 dnia wegetacji wykazuje dość niski poziom i niewielką aktywność obojętnych regulatorów wzrostu wyodrębnionych z ekstraktu heksanowego. Stwierdzenie to dotyczy stymulatorów i inhibitorów, wśród których można wyróżnić położone w strefach A, D-E. Odcinek plamy startowej /C/ a obok niej po stronie katody w strefie /B-C/ i po stronie anody /C-D, D/ są zajęte przez stymulatory. Oprócz nich występują jeszcze dwa inne w strefach A-B, E. W następnym tygodniu /14 dzień/ zaznacza się wyraźnie uaktywnienie stymulatorów i inhibitorów. Stymulatory, zajmujące w poprzednim układzie środek paska bibuły, przesunęły się w kierunku katody, wzmagając swoją aktywność. Podobnie uaktywnił się stymulator ze strefy E a także inhibitor, który zajął pozycję A-B.

W następnym okresie /21 dzień/ inhibitor A-B zanika. Jednocześnie stymulatory obniżają swoją aktywność, z nich najaktywniejszy zajmuje pozycję C. Mimo obniżenia poziomu stymulatorów mają one w tym układzie zdecydowaną przewagę.

28 dzień przynosi dalsze zmiany ilościowe wyrażające się w zwiększeniu aktywności stymulatorów, które zajmują strefy A-B, C, C-D, D, E. Występujący już w poprzednich układach inhibitor

dzien

dzien

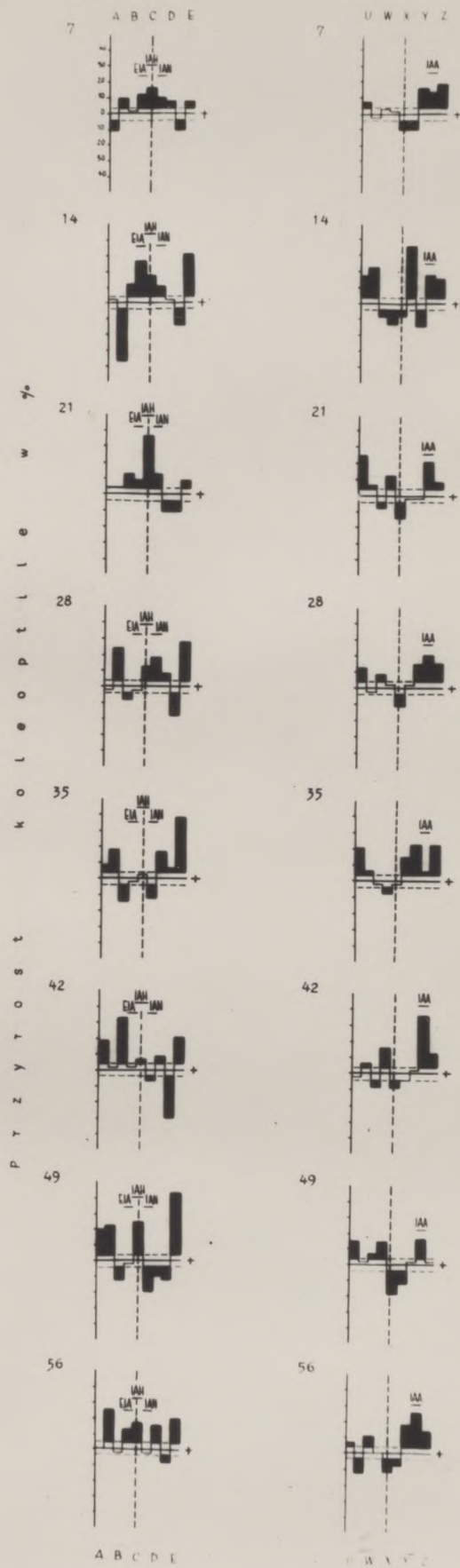


Fig. 15. Sieciotograficzna analiza regulatorów wzrostu u rośliny dnia długiego wegetacji w warunkach krótkiego foto-periodu.

ze strefy D-E wzrasta swą aktywność. Uaktywnia się także stymulator E, którego dalszy wzrost obserwujemy w układzie z 35 dnia. Dalsze dwa stymulatory A-B i D wraz z poprzednim wpływają na decydującą przewagę ich nad inhibitorami.

W 6 tygodniu /42 dzień/ zaznacza się nadal przewaga stymulatorów. Występują one w strefach A, B, E. Najaktywniejszy inhibitor jest położony w strefie D-E, który występuje we wszystkich układach z wyjątkiem 35 dnia.

49 dzień wegetacji na dniu krótkim charakteryzuje dalszy wzrost poziomów regulatorów. Stymulator E osiąga w tym czasie swoją maksymalną aktywność. Obok niego występują następne w strefie A, A-B, C. Inhibitory natomiast umiejscowiły się w strefach B, C-D, D, D-E.

W ostatnim układzie /56 dzień/ zaznacza się brak inhibitorów z wyjątkiem umiejscowionego w strefie D-E, którego aktywność wykracza nieco ponad granicę błędu doświadczalnego. Stymulatory o niewysokiej aktywności zajmują pozycje A-B, B-C, C, D, E.

Substancje kwaśne. - Z kwaśnych regulatorów wzrostu występujących w materiale z 7 dnia wegetacji, na uwagę zasługują stymulatory leżące po stronie anody w strefie Y, Y-Z, Z oraz inhibitory w położeniu X, X-Y. Przy niskim na ogół poziomie regulatorów przeważają stymulatory. Dość znaczny wzrost aktywności przy jednoczesnym zróżnicowaniu jakościowym obserwujemy w 14 dniu. Stymulatory występują w strefach U, U-W, X-Y, Y-Z, Z, a inhibitory W, W-X, X, Y. W tym układzie przewaga poziomów stymulatorów nad inhibitorami wzrasta.

Cechą 3 i 4 tygodnia /21 i 28 dzień/ wegetacji jest ponowne obniżenie aktywności regulatorów. Na uwagę zasługują występujące w obu układach stymulatory U, Y-Z oraz inhibitor

w odcinku płaszy

w odcinku plamy startowej /X/.

Dalsze zróżnicowanie jakościowe regulatorów obserwujemy w 35 dniu, zaznacza się tu brak stymulatora Y-Z występującego dotychczas we wszystkich układach. W ostatnich okresach /42, 49 i 56 dzień/ stwierdza się mniejsze zróżnicowanie jakościowe regulatorów. Poziom ich aktywności maleje. Stymulator zajmujący położenie IAA /strefa Y-Z/ pojawia się ponownie osiągając w 42 dniu maksymalny poziom. Obok wspomnianego stymulatora zjawia się także, obserwowany w pierwszych tygodniach, inhibitor ze strefy X.

c/ Wpływ zmienianego fotoperiodu /ryc.14/.

Substancje obojetne. - Układ obejmujący regulatory wzrostu występujące w roślinach w 24 dniu wegetacji na dniu krótkim nie różni się zasadniczo od opisanego już układu z doświadczenia poprzedniego, prowadzonego w analogicznych warunkach /ryc. 13/. Dostrzegamy jedynie podwyższenie poziomu obojętnych stymulatorów występujących w strefach B, C, C-D, E oraz pojawienie się nowego stymulatora A o nieznacznej aktywności oraz inhibitora w strefie A-B.

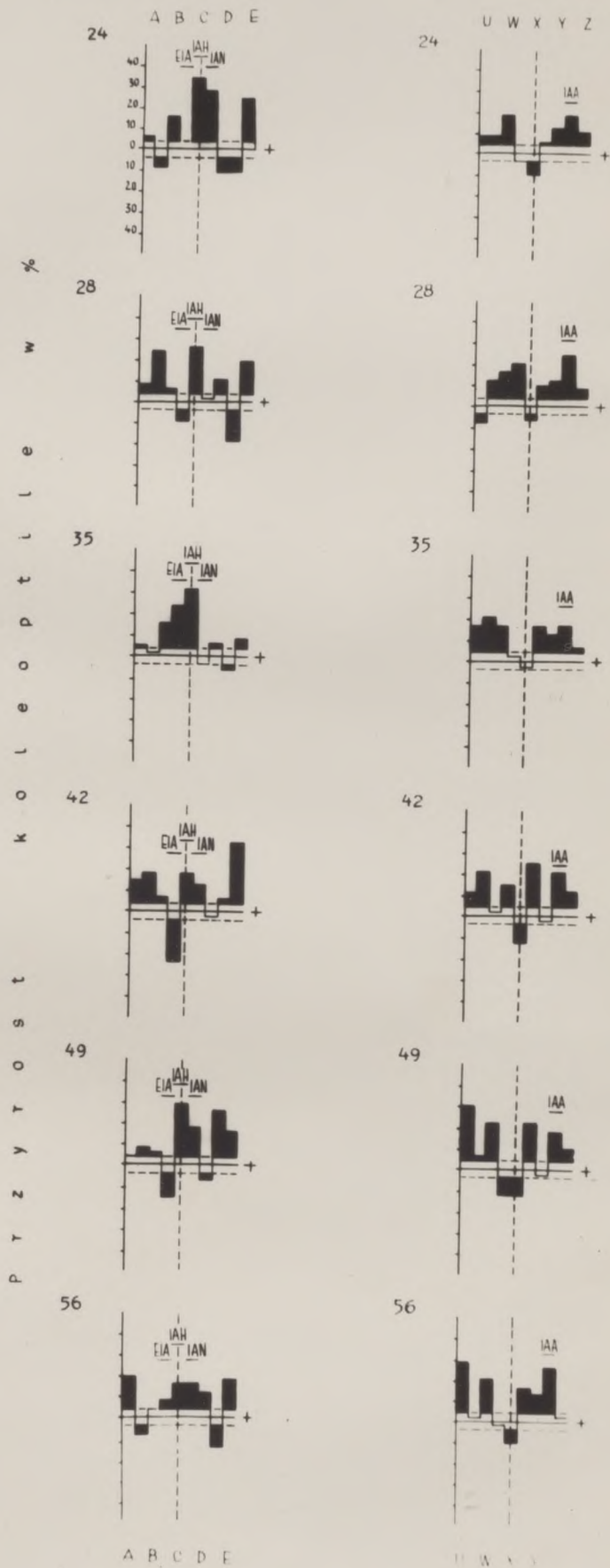
Po czterech dniach działania 16 godz. fotoperiodem /28 dzień/, aktywność obojętnych stymulatorów wzrostu opada a inhibitory w strefie B-C i D-E usaktywniają się. Następują zmiany jakościowe wśród stymulatorów, które teraz zajmują strefy A, A-B, B, C, D, E.

Na 35 dzień, następuje dalszy spadek aktywności stymulatorów jak i inhibitorów. Zmiany jakościowe powodują umiejscowienie się stymulatorów po stronie katody /B, B-C/.

Po zakończeniu działania długim fotoperiodem, w 42 dniu, obserwuje się zmiany aktywności poszczególnych regulatorów jak i zmiany jakościowe. Stymulatory zajmują obecnie strefy A, A-B,

Ekstrakt heksanowy
dzien

Ekstrakt metanolowy
dzien



rys. 14. Bioautograficzna analiza regulatorów wzrostu u rośliny dnia długiego wegetującej w warunkach zalebianego fotoperiodu.

C, C-D, D-E, E a inhibitor B-C.

W pierwszym okresie wzrostu pędu kwiatowego następują już mniejsze zmiany jakościowe wśród regulatorów, występują natomiast zmiany ich aktywności. Poziom stymulatorów nieco się zwiększa a inhibitora B-C maleje.

W ostatnim okresie /56 dzień/ spostrzegamy ponowne obniżenie poziomu przy jednoczesnych zmianach jakościowych stymulatorów i inhibitorów. Stymulatory zajmują w tym układzie strefy A, B-C, C, C-D, D, E a inhibitory A-B, D-E.

Substancje kwaśne. - Dzień zmiany fotoperiodu z długiego na krótki /24/, charakteryzuje się niskim poziomem kwaśnych regulatorów rozdzielanych z ekstraktu metanolowego. Ten niski poziom regulatorów wyróżnia się w całym doświadczeniu a zwłaszcza w stosunku do równoległego układu z ekstraktu heksanowego. Charakterystyczną cechą układów zawierających substancje kwaśne, w tym doświadczeniu, jest występowanie inhibitora w strefie X odpowiadającej położeniu plamy startowej, natomiast w pozycji Y-Z stymulatora. Strefa ta odpowiada położeniu IAA.

W układzie z 4 dnia indukcji długim fotoperiodem /28 dzień wegetacji/, zauważa się już wzrost aktywności stymulatorów zajmujących pozycje U-W, W, W-X, X-Y, Y, Y-Z, Z. Obok inhibitora ze strefy X pojawia się nowy inhibitor w strefie U.

W 35 dniu wegetacji, krótko przed zakończeniem indukcji, stymulatory zachowują swój poziom, inhibitory natomiast znikają.

Układ z 42 dnia różni się zasadniczo od poprzedniego większą aktywnością regulatorów. Następują zmiany jakościowe, pojawia się ponownie inhibitor ze strefy X. Stymulatory zajmują obecnie strefy U, U-W, W-X, X-Y, Y-Z, Z.

W przedostatnim tygodniu wegetacji /49 dzień/ obserwujemy dalsze zwiększenie poziomu stymulatorów i zróżnicowanie po stronie katody, gdzie występują obecnie w sterfach U, W. Obok nich pojawia się jeszcze jeden inhibitor W-X. Po stronie anody zachował się natomiast układ obserwowany już w poprzednim tygodniu, o niższej nieco aktywności.

Ostatniokres badań obejmuje układ niezmienny po stronie katody z wyjątkiem inhibitora W-X, którego aktywność leży w granicach błędu doświadczalnego. Po stronie anody w strefie Y pojawia się stymulator, znika natomiast występujący we wszystkich dotychczas układach tego doświadczenia, stymulator ze strefy Z.

3. Identyfikacja indolo-pochodnych regulatorów wzrostu w roślinach wegetujących w różnych fotoperiodach.

Równoległe z analizami biologicznymi rozdzielanych regulatorów, przeprowadzono próbę ich identyfikacji przez analizę fluorescencyjną, wybarwianie plam wywoływaczami i przez określanie ich charakteru chemicznego na podstawie zachowywania się podczas rozdziełów chromatograficznych i elektroforetycznych.

Fluorescencja plam dała wstępne wskazówki do identyfikacji badanych substancji. Barwy fluorescencyjne były wyraźnie zróżnicowane i w wielu wypadkach dały się porównywać z syntetycznymi substancjami.

Wywoływanie plam nie zawsze dawało zadowalające rezultaty, ze względu na niskie stężenie analizowanych naturalnych substancji. Dotyczyło to w szczególności materiałów z pierwszych tygodni wegetacji. Użycie do ekstrakcji niewielkiej masy materiału, każdorazowo z 25 obiektów, było podyktowane ograniczoną

powierzchnią urządzeń luminostatowych /1 m²/.

Pomimo braku, w niektórych wypadkach, widocznego zabarwienia rozdzielanych substancji pod wpływem wywoływaczy, pewne dane uzyskano także z barw wtórnej ich fluorescencji po potraktowaniu odczynnikiem Prochazki.

A. Roślina dnia krótkiego /Perilla ocimoides L./

a/ Krótki_fotoperiod.

Do prób identyfikacji indolo-pochodnych regulatorów wzrostu wybrano dwa najbardziej charakterystyczne układy z doświadczalną nad rośliną dnia krótkiego: początkowy układ z 7 dnia wegetacji i z okresu zawiązywania się paczków kwiatowych /28 dzień/, charakteryzującym się przewagą inhibitorów. Wyniki badań chromatograficznych i elektroforetycznych ujęto w tab.2, 3, 4 i 5. Zaznaczono na nich położenie poszczególnych regulatorów wzrostu jak i fluorescencję plan.

Już w następstwie zastosowanej metody ekstrakcji n-heksanem i metanolem, zdołano uzyskać rozdzielenie obojętnych od kwaśnych regulatorów wzrostu.

Substancje obojętne. - Z obojętnych regulatorów wzrostu zawartych w ekstrakcie heksanowym z pierwszego tygodnia wegetacji budzą zainteresowanie stymulatory ze stref C, C-D i E oraz inhibitor B-C leżący po stronie katody /ryc.9/.

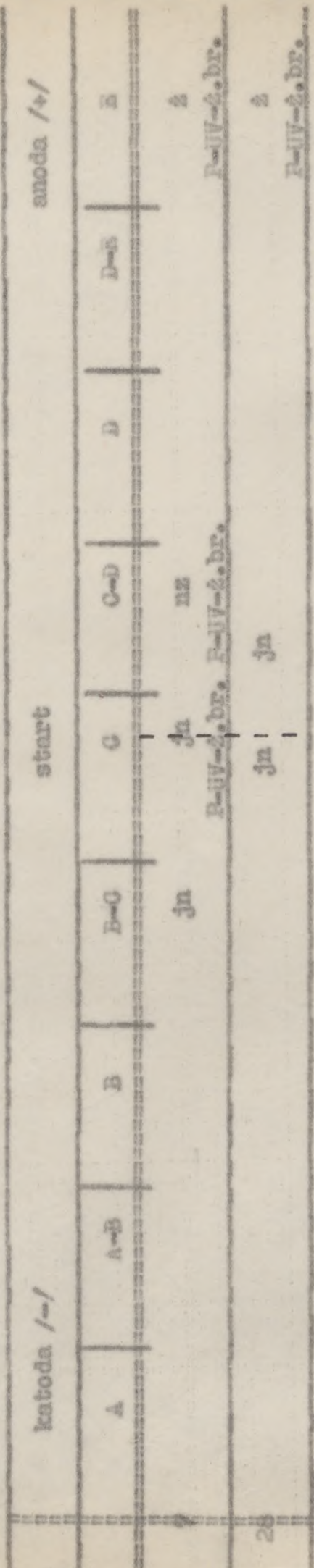
Stymulator E o żółtej fluorescencji, po zadziałaniu odczynnikiem Prochazki, zmienił barwę na żółto-brązową. Przy rozdzielu elektroforetycznym w środowisku o pH 4 powędrował bardzo nieznacznie do katody /-1,2 cm/. W warunkach rozdzielu chromatograficznego, rozwijaczem klasycznym, zachował się zgodnie z założeniami teoretycznymi zajmując Rf 0,58 /tab.4/. Chromatografowanie wodą przesunęło go do Rf 0,45. Jego pI

Tab. 2. Elektroforetyczny rozdział regulatorów wzrostu zawartych w ekstraktach heksanowych z rośliny dnia krótkiego vegetującej w warunkach krótkiego fotoperiodu.

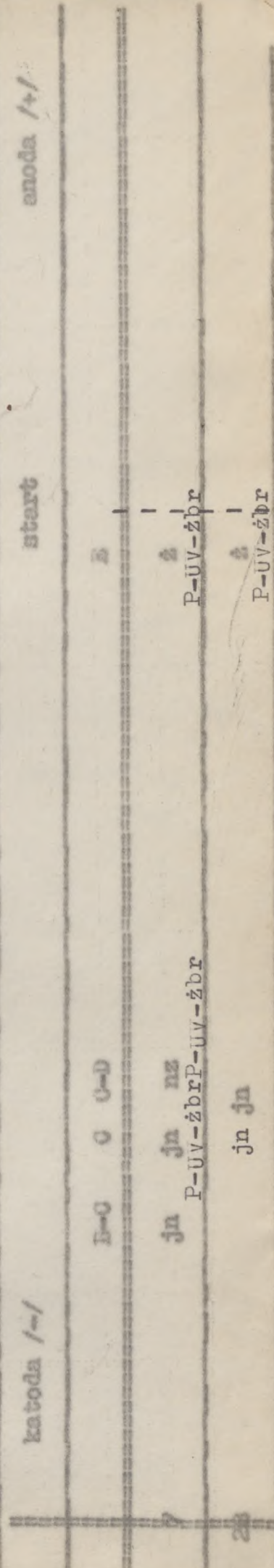
Barwy fluorescencji plam.

bufor fosforanowy pH 7

uzupełnienie do ryc. 9.



bufor octanowy pH 4

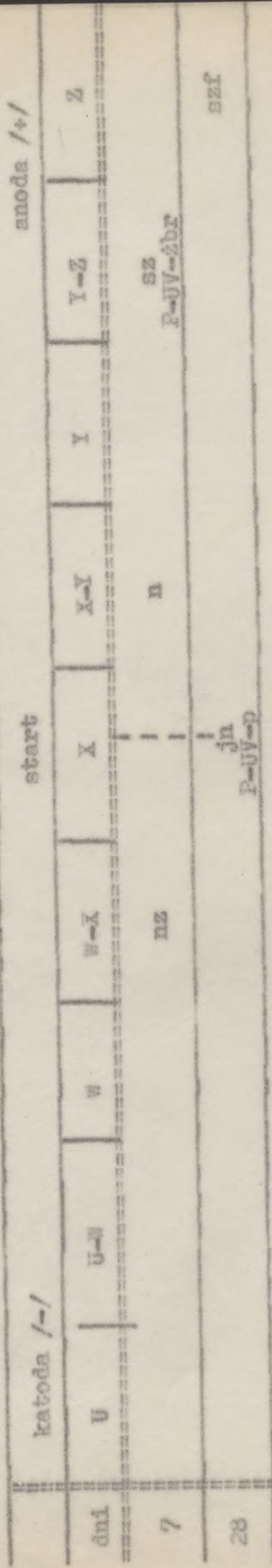


Tab. 2. elektroforetyczny rozdział regulatorów wzrostu zawartych w ekstraktach metanolowych z rośliny dnia krótkiego wegetującej w warunkach krótkiego fotoperiodu.

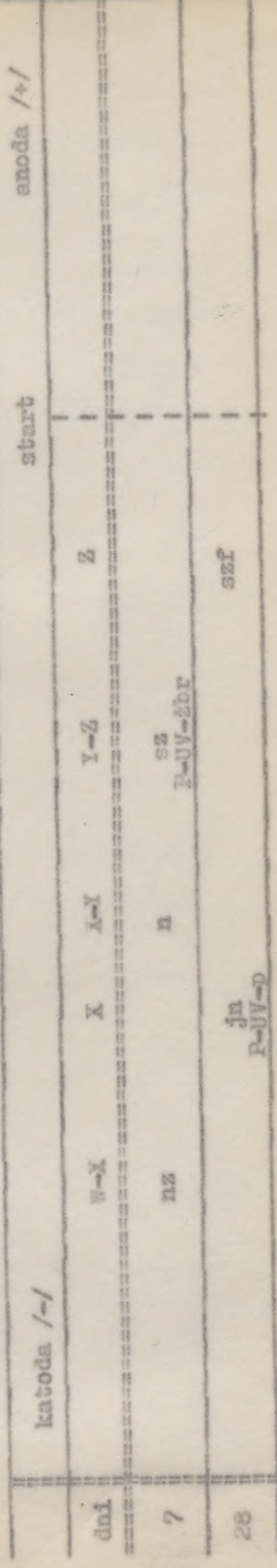
Barwa fluorescencji plam.

/uzupełnienie do ryc. 9./

bufor fosforanowy pH 7



bufor octanowy pH 4



Objasnienie skrótów patrz tab. 1.

Tab.4. Chromatograficzny rozdział regulatorów wzrostu występujących w roślinie dnia krótkiego wegetującej w krótkim fotoperiodzie.

Położenie i barwy fluorescencji plam.

7 dzień wegetacji

/uzupełnienie do ryc.9/

| izo-prop.-NH ₄ OH-H ₂ O - /10:1:1/ | | | H ₂ O | | |
|--|--------------------|-------------------|------------------|--------------------|-------------------|
| Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol | Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol |
| 0,1 | | | 0,1 | | |
| 0,2 | | | 0,2 | o jn | |
| 0,3 | | o nE | 0,3 | o nE P-UV-2br | |
| | | | | o jn | |
| 0,4 | | o sE P-UV-2br | 0,4 | o 2 P-UV-2br | |
| | | o n | | | |
| 0,5 | | | 0,5 | | |
| | o jn P-UV-2br | | | | |
| 0,6 | o 2 | | 0,6 | | |
| | | | | o 1 | o n |
| 0,7 | o nE P-UV-2br | | 0,7 | | o nE |
| 0,8 | o nE P-UV-2br | | 0,8 | | o sE P-UV-2br |
| 0,9 | | | 0,9 | | |
| 1,0 | | | 1,0 | | |

Objaśnienia skrótów patrz tekst tab. 1.

Tab. 5. Chromatograficzny rozdział regulatorów wzrostu występujących w roślinie dnia krótkiego wegetującej w krótkim fotoperiodzie.

Położenie i barwy fluorescencji plam.

28 dzień wegetacji

/uzupełnienie do ryc. 9/

| izo-prop.-NH ₄ OH-H ₂ O - /10:1:1/ | | | H ₂ O | | |
|--|-----------------|----------------|------------------|-----------------|----------------|
| Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol | Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol |
| 0,1 | | o szf | 0,1 | | |
| 0,2 | | o jn P-UV-p | 0,2 | | |
| 0,3 | | | 0,3 | | |
| 0,4 | | | 0,4 | o jn | |
| | | | | o 2 P-UV-2br | |
| 0,5 | o 2 P-UV-2br | | 0,5 | | |
| 0,6 | | | 0,6 | | |
| 0,7 | | | 0,7 | | |
| 0,8 | | | 0,8 | | o szf |
| | | | | | o jn P-UV-p |
| 0,9 | o jn | | 0,9 | | |
| 1,0 | | | 1,0 | | |

Objaśnienia skrótów patrz tekst tab. 1.

/punkt izoelektryczny/ jest $< 4,75$ /IAA/ dlatego też w elektroferencie przy pH 7 powędrował szybciej do anody /strefa E/ niż IAA /strefa Y-Z/ /tab.23/. Bardzo nieznaczna migracja do katody, w warunkach pH 4 wskazuje, że jego pI jest raczej > 4 . /tab.2/.

Stymulator ze strefy C, o jasno-niebieskiej fluorescencji, migrował w polu elektrycznym przy pH 4 na stronę katody /-11,5 cm/. Brak migracji przy pH 7 wskazuje, że jego pI ~ 7 . Rozdziały chromatograficzne i elektroforetyczne wskazują na IAH, przeczy jednak temu stymulacja wzrostu, ponieważ związek ten jest słabym inhibitorem.

Po stronie anody położony jest jeszcze jeden stymulator C-D o intensywnie niebiesko-zielonej barwie plamy w UV /tab.2/. Jego dość znaczne przesunięcie się do katody przy pH 4 /-9,7 cm/ świadczy, że pI tego związku jest $> 4,75$ a < 7 . Rf 0,83 na chromatogramie, przy rozdzielaniu alk.izo-propylowym - amoniakiem - wodą /10 : 1 : 1/, wskazują na substancję trudną do wyodrębnienia chromatograficznie powyższym rozwijaczem /tab.4/. Położenie-poniżej BIA /Rf 0,46/ przy rozdzielaniu wodą /Rf 0,29/ nasuwa przypuszczenie o istnieniu w związku tego grup nitrylowych - $C \equiv N$ lub aminowych trzeciorzędnych - $N \begin{matrix} \text{R} \\ \text{R} \end{matrix}$. Wobec migracji substancji do anody przy pH 7, nie można brać pod uwagę ewentualności występowania w niej ugrupowania - $N \begin{matrix} \text{R} \\ \text{R} \end{matrix}$, warunkuje ono bowiem sąsiedowość związku. Za nitrylem przemawia zmiana barwy fluorescencji plamy potraktowanej odczynnikami Frochazki, a także dane porównawcze z syntetycznym IAN.

Położony po stronie katody inhibitor B-C, o jasno-niebieskiej fluorescencji w elektroferencie w pH 4 przemieszcza się szybko do katody. Wartość pI tego związku możnaby określić

na < 7 , na co wskazuje zachowanie się w warunkach rozdzału elektroforetycznego. Analiza chromatograficzna przy rozwijaniu izo-propanolem wykazuje wartość Rf 0,57 a przy rozwijaniu wodą Rf 0,23, co wskazywałoby na obojętność substancji i dawało podstawę do przypuszczenia, że występuje w niej polarna grupa aminowa-NH₂.

W materiale z 28 dnia wegetacji, obok stymulatora ze strefy E po stronie anodowej, zwraca uwagę aktywny inhibitor /C-D/ o plamie fluoryzującej jasno-niebieskiej /tab.2 i 5/. Wartości Rf 0,93 i 0,42 w wypadku rozdzielania wodą wskazują na występowanie związków o charakterze wybitnie lipofilnym posiadających grupy-CH₃ i-C₂H₅. Te ostatnie nie mogą być brane w naszym wypadku pod uwagę, ponieważ stymulują wzrost /np. estry IAA/. Świadczy o tym także zachowanie się analizowanej substancji w warunkach elektroforezy, gdyż pI jej wynosi < 7 , a estry IAA natomiast posiadają wartość pI > 7 . Brak barwy plam po wywoływaczach nie pozwala bliżej zidentyfikować substancji.

Substancje kwaśne.- W histogramie z metanolewego ekstrakt z 7 dniowych roślin, zawierającego substancje kwaśne, występuje stymulator Y-Z, którego fizjologiczna aktywność, barwa fluorescencji, charakterystyka chromatograficzna i elektroforetyczna /pI = 4,75/ w porównaniu z syntetycznym związkiem określa jako kwas 3-indoliloctowy /IAA/ /ryc.9, tab.3 i 4/.

Występujący po stronie anody inhibitor X-Y zajmuje na chromatogramie rozdzielanym wodą pozycję /Rf 0,67/ poniżej położenia IAA /Rf 0,83/. Położenie to wskazuje na obecność substancji o mniejszej polarności niż IAA, prawdopodobnie jest to kwas o długim łańcuchu. W warunkach elektroforezy przy pH 7, ze

względem na słabą dysocjację migrował on powoli w kierunku anody $+3,3$ cm/, natomiast przy pH 4 dysocjacja była silniejsza przede wszystkim nastąpiło szybkie przemieszczenie się do katody $-7,2$ cm/.

Inhibitor z katody /W-X/ o niebiesko-zielonkawej fluorescencji o $pI > 7$, przy rozdzielaniu elektroforetycznym w pH 4 powędrował szybko do katody $-11,5$ cm/. Na chromatogramach umiejscowił się w R_f 0,29 dla rozpuszczalnika klasycznego i R_f 0,75 dla wody. Podobnie jak poprzedni inhibitor jest to prawdopodobnie jakiś kwas o długim łańcuchu.

Wśród regulatorów występujących w 28 dniu wegetacji roślin dnia krótkiego na dniu krótkim /tab.3 i 5/ na uwagę zasługują inhibitory ze stref X i Z. Wartość pI pierwszego z nich, wnioskując z położenia na elektroferogramie w pH 7 wynosi ~ 7 , jednakowoż dość szybka jego migracja przy pH 4 do katody $-8,7$ cm/ wskazuje, że pI tego związku jest > 7 ale także $<$ od pI inhibitorów ze stref W, W-X $-13,3$ i $-11,5$ cm/. Wartość R_f 0,25 i 0,86 dla rozdziału wodą, świadczą o wysokiej polarności tego związku. Jak wynika z charakterystycznej migracji do katody w warunkach rozdziału przy pH 4 będzie to związek zawierający grupę $-NH_2$.

Położenie drugiego inhibitora Z, poniżej pozycji IAA, świadczy o jego niskim $pI < 4,75$. Ten fakt potwierdza zachowanie się w elektroforezie w pH 4, gdy wędruje do katody niezbyt daleko od linii startowej $-0,8$ cm/. Chromatografowanie wykazało, że związek ten ma R_f 0,16 w rozp.klasycznym i 0,79 w wodzie. Przepuszcza się więc, że inhibitor ten jest kwasem wykazującym silną polarność. Brak dalszych danych nie pozwala na bliższe określenie tego związku, bowiem szaro-fioletowa fluorescencja plamy zostaje wygaszona po zadziałaniu odczynnikami Prochaski.

b/ Długi fotoperiod.

Substancje obojętne. - Wśród obojętnych regulatorów wzrostu występujących w roślinach wegetujących na 16 godz.dniu, najbardziej charakterystycznymi wydają się stymulatory ze strefy B i C-D a także inhibitory D /ryc.10/. Spotykamy je nie tylko w układzie z 7 dnia. Stymulator B, jak wynika z rozdzielów elektroforetycznych /tab.6/, posiada $pI > 7$, przesunął się bowiem na pasku przy pH 7 do katody /-6,8 cm/ a przy pH 4 /-15,5 cm/. Przy chromatografowaniu /tab.8/ Rf tego związku wynosiło 0,69 /rozp.klasyczny/ i 0,30 w wodzie. Cechy powyższe wskazują na połączenia z grupą aminową $-NH_2$. Niebiesko-fioletowa fluorescencja w UV po opryskaniu odczynnikami Frochazki zmieniła się na pomarańczową. Dane powyższe wskazują na tryptaminę. Brak jednakowoż danych w postaci barwy wywołanych plam, nie pozwalają na definitywne stwierdzenie.

Stymulator po stronie anody /C-D/, wobec identycznej charakterystyki jak substancja występująca w roślinach poddanych działaniu 7 dni fotoperiodu krótkiego /ryc.9, tab.2/ może być uważany za ten sam związek, to znaczy za IAN.

Wartość pI inhibitora ze strefy D jest < 7 ale $> 4,75$. Wskazuje na to umiejscowienie się tego połączenia po stronie anody /+6,0 cm/ przy pH 7, a na elektroferogramie z pH 4, po stronie katody /-5,6 cm/. Wartość Rf, przy rozwijaniu izo-propa-nolem, wynosi 0,56 a wodą 0,47. Obniżone powinowactwo do wody, wpływające na powyższe wartości Rf, świadczy o obecność w takim połączeniu zazwyczaj grupy aminowej $-NH_2$. Jasno-niebieska fluorescencja plamy a po zadziałaniu odczynnikami Frochazki pomarańczowa, uzupełniają charakterystykę inhibitora.

bufor fosforanowy pH7

/uzupełnienie do zyc.10/

katoda /-/
start
anoda /+/

katoda /-/
start
anoda /+/

| dni | A | A-B | B | B-C | C | D | D-E | E |
|-----|---|-----|--------------|-----|----------------|--------------|-----|---|
| 7 | | | mf P-UV-p | | oz P-UV-2br | jn P-UV-p | | |
| 28 | | | jn P-UV-p | | | n P-UV-2 | | |

bufor octanowy pH 4

katoda /-/
start
anoda /+/

katoda /-/
start
anoda /+/

| dni | A | B | C | D | E | F | G | H |
|-----|---|---|--------------|----------------|--------------|---|---|---|
| 7 | | | mf P-UV-p | oz P-UV-2br | jn P-UV-p | | | |
| 28 | | | jn P-UV-p | | n P-UV-2 | | | |

Objaśnienia skrótów patrz tekst tab. 1.

Tab. 8. Chromatograficzny rozdział regulatorów wzrostu występujących w roślinie dnia krótkiego wegetującej w długim fotoperiodzie.

Położenie i barwy fluorescencji plam.

7 dzień wegetacji

/uzupełnienie do ryc.10/

| izo-prop.-NH ₄ OH-H ₂ O -/10:1:1/ | | | H ₂ O | | |
|---|-----------------|-------------------|------------------|------------------------------|-------------------|
| Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol | Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol |
| 0,1 | | | 0,1 | | |
| 0,2 | | | 0,2 | | |
| 0,3 | | o jn | 0,3 | o nf P-UV-p o ns P-UV-2br | |
| 0,4 | | o n P-UV-p o 2 | 0,4 | o jn P-UV-p | |
| 0,5 | | | 0,5 | | |
| 0,6 | o jn P-UV-p | | 0,6 | | o jn |
| 0,7 | o nf P-UV-p | | 0,7 | | |
| 0,8 | o ns P-UV-2br | | 0,8 | | o n P-UV-p o 2 |
| 0,9 | | | 0,9 | | |
| 1,0 | | | 1,0 | | |

Objasnienia skrótów patrz tekst tab. 1.

Tab.9. Chromatograficzny rozdział regulatorów wzrostu występujących w roślinie dnia krótkiego wegetacji w długim fotoperiodzie.

Położenie i barwy fluorescencji plam.

28 dzień wegetacji

/uzupełnienie do ryc.10/

| izo-prop.-NH ₄ OH-H ₂ O - /10:1:1/ | | | H ₂ O | | |
|--|--------------------|-------------------|------------------|--------------------|-------------------|
| Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol | Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol |
| 0,1- | | | 0,1- | o jn P-UV-p | |
| 0,2- | | | 0,2- | | |
| 0,3- | | o jn P-UV-p | 0,3- | o n P-UV-2 | |
| 0,4- | | | 0,4- | | |
| 0,5- | | | 0,5- | | |
| 0,6- | | | 0,6- | | |
| 0,7- | | | 0,7- | | |
| 0,8- | o jn P-UV-p | | 0,8- | | |
| 0,9- | o n P-UV-2 | | 0,9- | o jn P-UV-p | o jn P-UV-p |
| 1,0- | | | 1,0- | | |

Objaśnienia skrótów patrz tekst tab. 1.

W histogramie z 28 dnia, ułożony po stronie katody stymulator A-B w warunkach elektroforezy w pH 4 migrował szybko do katody /-17,1 cm/. Wyżej wymieniony stymulator w rozdziale chromatograficznym dał wartość Rf 0,78 a dla wody 0,14. Wskazywałoby to na obecność amin trzeciorzędowych - N $\begin{matrix} \text{R} \\ \diagdown \\ \text{R} \end{matrix}$, warunkujących zasadowość pierścienia. Stąd też szybka wędrówka naszego związku do katody w pH 4. Jasno-niebieska barwa plamy w UV uległa zmianie pod działaniem oprysku odczynikiem Prochazki na pomarańczową /tab.6 i 9/.

Stymulator o niebieskiej barwie fluorescencji, zajmujący w tym układzie strefę D, przemieszcza się w polu elektrycznym przy pH 4 do katody /-4,7 cm/. Wartość pI tego związku jest > 4,75. Przy chromatografowaniu przesunął się do Rf 0,88 /rozp. klasyczny/ i 0,32 /woda/. Niezbyt szybka migracja na pasku bibuły i wysokie wartości Rf w izo-propanolu wskazują na obecność grup -CH₃ i -C₂H₅. Przeciw obecności estru etylowego IAA przemawiają wyniki elektroforezy syntetycznej substancji jak i zbyt niskie wartości Rf w porównaniu z wynikami kontrolnymi. Barwy fluorescencyjne są jednak zgodne z podanymi dla tego związku na tab.1.

Substancje kwaśne. - Wśród regulatorów o charakterze kwaśnym z ekstraktów materiału hodowanego w warunkach 16 godzinnego dnia, godnymi uwagi są stymulatory ze strefy W, X-Y i inhibitor Y /ryc.10 - 7 dzień/. Stymulator W rozdzielany w pH 7 powędrował do katody /-6,1 cm/, a po zmianie buforu na pH 4 także do katody /-13,4 cm/. Jego pI jest więc większe od 7. Podczas chromatografowania izo-propanolem zajął Rf 0,44 a wodą 0,76. Niewielka rozpiętość między wartościami Rf wskazuje na substancję mało polarną - na kwas o długim łańcuchu.

Fakt ten podkreśla niskie R_f w stosunku do R_f IAA /0,83/, w warunkach rozdziału wodę, jak i szybka migracja do katody przy elektroforesie w buforze o pH 4. Po opryskaniu pasków odczynnikiem Prochaski otrzymano żółtą fluorescencję plamy.

Stymulator położony w strefie X-Y po stronie anody posiada $pI > 4,75$ a < 7 /+3,0 cm/, po rozdzielaniu w pH 4 przesunął się do katody /-2,3 cm/. Chromatografowany zajął pozycję R_f 0,27 /rozp.klasyczny/ i 0,62 /woda/. Wskazywałoby to podobnie jak u poprzedniego stymulatora W na kwas o długim łańcuchem, lecz mała szybkość migracji do katody w warunkach pH 4 nasuwa pewne wątpliwości co do charakteru tego związku.

Inhibitor Y posiada także $pI > 4,75$ ale większe od stymulatora X-Y. Jego wartości R_f 1,49 i 0,77 są podobne do R_f stymulatora W. Niewielka szybkość migracji do katody /-4,7 cm/, przeczy zasadniczo teoretycznym założeniom w zachowaniu się indolo-pochodnych regulatorów wzrostu w stosowanych warunkach rozdziału chromatograficznego i elektroforetycznego. Być może inhibitor ten nie jest związkiem indolo-pochodnym.

Wśród regulatorów wzrostu występujących w układzie z 28 dnia wegetacji roślin na dniu długim, zwraca uwagę jedyny inhibitor zajmujący odcinek plamy startowej /strefa X/. Jego ślad pojawia się już w 21 dniu a zanika dopiero pomiędzy 42 - 49 dniem. Pojawienie się tej substancji obserwowano także w 28 dniu na 10 godzinny fotoperiodzie /ryc.9, tab.3 i 5/. Podobnie jak tam, jego pI wynosi ~ 7 . Szybkość migracji do katody /-8,5 cm/ w warunkach elektroforezy przy pH 4. Zbliżone wartości R_f 0,26 i 0,87 a także charakterystyczna zmiana barwy fluorescencji plamy z jasno-niebieskiej na powarandczową wskazują na identyczność tych substancji, zawierających grupę $-NH_2$.

c/ Zmieniany fotoperiod.

Do prób identyfikacji jakościowej indolo-pochodnych regulatorów występujących w roślinach wegetujących w warunkach zmienianej długości dnia wybrano dwa układy: z 28 i 42 dnia. W 28 dniu analiza biologiczna uwidoczniła wysoki poziom zróżnicowanych stymulatorów, co jest prawdopodobnie następstwem zmiany fotoperiodu. W 42 dniu, krótko przed pojawieniem się pierwszych pączków kwiatowych, zauważono natomiast obniżenie poziomu regulatorów przy jednoczesnych zmianach jakościowych.

Substancje obojętne. - Elektroforetyczne właściwości - pI, szybkość i kierunek migracji w stosowanych warunkach rozdziału jak i charakterystyka chromatograficzna a także barwa fluorescencji wskazuje, że stymulatory występujący w 28 dniu po stronie anody C-D, D, E /tab.10/ obserwowano już w omówionym poprzednio materiale.

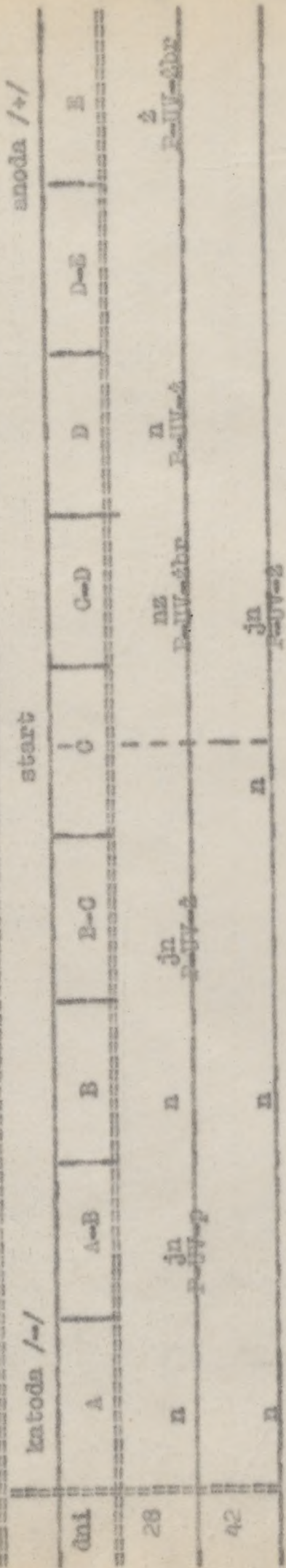
Stymulator C-D to związek, który zawiera grupę nitrylową. Na podstawie charakterystyki chromatograficznej i elektroforetycznej a także barwy plam można sądzić, że jest on identyczny ze stymulatorem występującym u roślin na dniu krótkim /7 dzień/ jak i na długim dniu w tym samym czasie. Jest nim nitryl IAA.

Stymulator D o takiej samej charakterystyce jak występujący na dniu długim /ryc.10 - 28 dzień/, który posiada grupy funkcyjne $-CH_3$ lub $-C_2H_5$ nie jest jednak estrem etylowym IAA jak to wynika z porównania ze syntetycznym EIA.

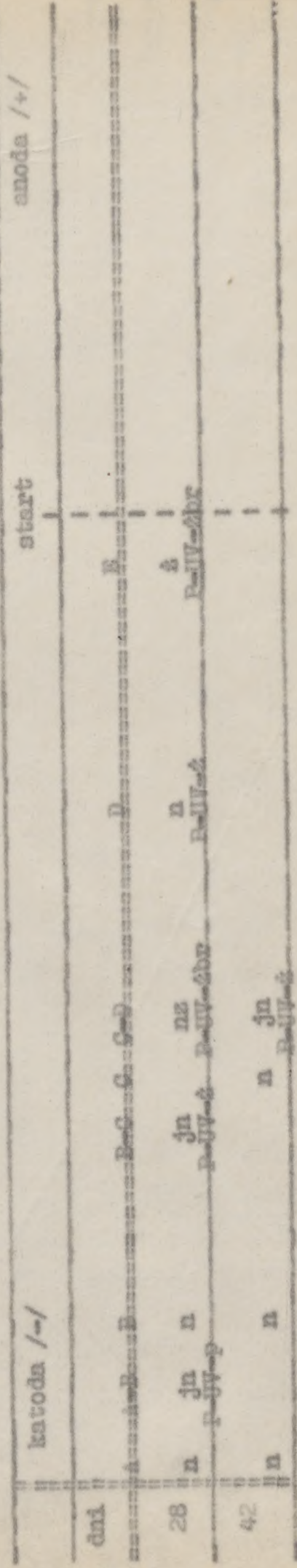
Charakterystyka stymulatora ze strefy E jest bardzo zbliżona do właściwości stymulatora występującego w materiale z dnia krótkiego /ryc.9 - 7 dzień, tab.2 i 4/. Niezbyt typowe zachowanie się związku w stosowanych warunkach rozdziału nie pozwala na bliższe jego określenie.

Tab. 10. Elektroforetyczny rozdział regulatorów wzrostu zawartych w ekstraktach heksanowych z rośliny łąka krótkiego vegetującej w warunkach zmienianego fotoperiodu.

bufor fosforanowy pH 7 /uzupełnienie do ryc. 11/



bufor octanowy pH 4



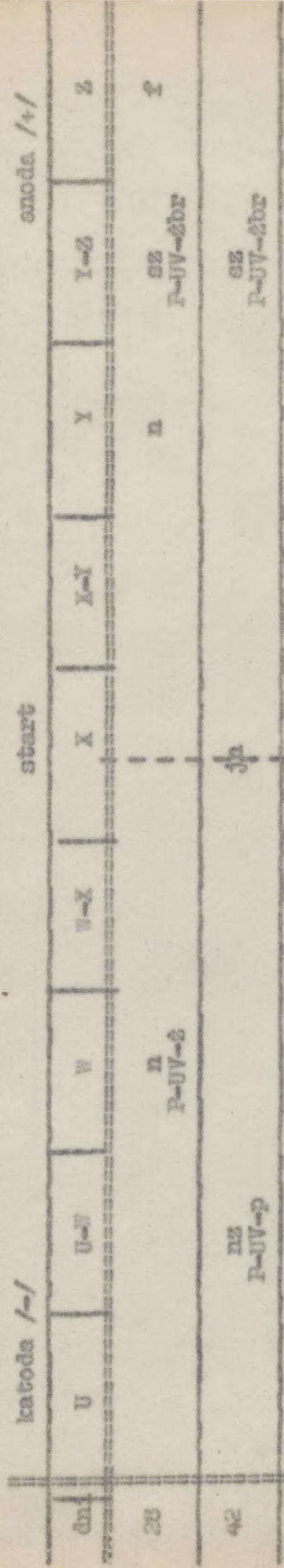
Objaśnienia skrótów patrz tekst tab. 1.

Tab. 11. Elektroforytyczny rozdział regulatorów wzrostu zawartych w ekstraktach metanolowych z rośliny dnia krótkiego wegetującej w warunkach zmienianego fotoperiodu.

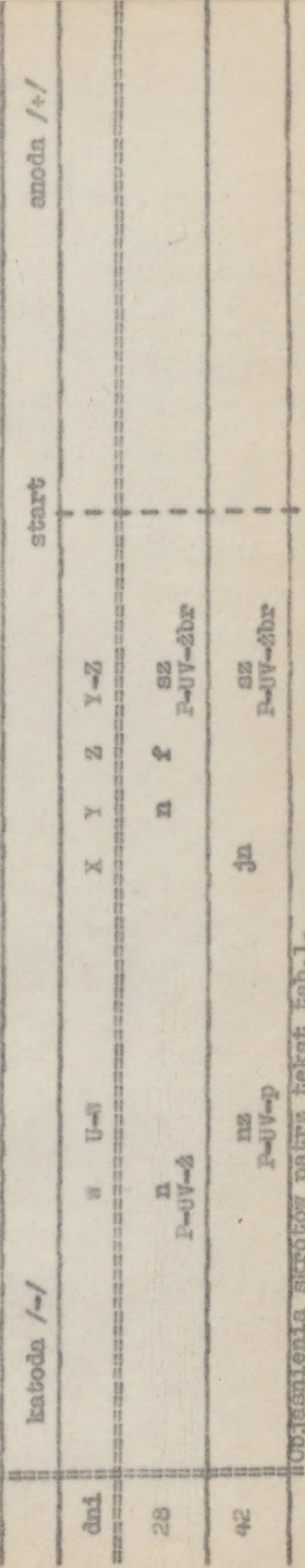
Barwa fluorescencji plam.

bufor fosforanowy pH 7

/uzupełnienie do ryc. 11./



bufor octanowy pH 4



Objasnienia skrótów patrz tekst tab. 1.

Tab.12. Chromatograficzny rozdział regulatorów wzrostu występujących w roślinie dnia krótkiego wegetującej w warunkach zmienianego fotoperiodu.

Położenie i barwy fluorescencji plam.

28 dzień wegetacji

/uzupełnienie do ryc.11/

| izo-prop.-NH ₄ OH-H ₂ O - /10:1:1/ | | | H ₂ O | | |
|--|-----------------|----------------|------------------|-----------------|----------------|
| Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol | Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol |
| 0,1- | | o f | 0,1- | | |
| | | | | o jn P-UV-p | |
| 0,2- | | | 0,2- | | |
| | | | | o n | |
| 0,3- | | | 0,3- | | |
| | | | | o n P-UV-2 | |
| | | | | o 2 P-UV-3br | |
| 0,4- | | o ss P-UV-2br | 0,4- | | |
| | | o n P-UV-2 | | o n | |
| | | o n | | | |
| 0,5- | | | 0,5- | | |
| | | | | o jn P-UV-2 | |
| 0,6- | o 2 P-UV-3br | | 0,6- | | |
| 0,7- | | | 0,7- | | o n |
| | o n | | | | |
| | o jn P-UV-p | | | | o n P-UV-2 |
| 0,8- | | | 0,8- | | |
| | o ss P-UV-2br | | | | o ss P-UV-2br |
| | o n | | | | |
| | o n P-UV-2 | | | | o f |
| 0,9- | | | 0,9- | | |
| | o jn P-UV-2 | | | | |
| 1,0- | | | 1,0- | | |

Objaśnienia skrótów patrz tekst tab. 1.

Tab.13. Chromatograficzny rozdział regulatorów wzrostu występujących w roślinie dnia krótkiego wegetującej w warunkach zmienianego fotoperiodu.

Położenie i barwy fluorescencji plam.

42 dzień wegetacji

/uzupełnienie do ryc.11/

| izo-prop.-NH ₄ OH-H ₂ O - /10:1:1/ | | | H ₂ O | | |
|--|-----------------|----------------|------------------|-----------------|----------------|
| Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol | Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol |
| 0,1- | | | 0,1- | | |
| 0,2- | | o nS P-UV-p | 0,2- | o n | |
| 0,3- | | o jn | 0,3- | | |
| 0,4- | | o nS P-UV-2br | 0,4- | o n | |
| | | | | o jn P-UV-2 | |
| 0,5- | | | 0,5- | o jn | |
| 0,6- | | | 0,6- | | |
| 0,7- | | | 0,7- | | o nS P-UV-p |
| | o n | | | | |
| 0,8- | | | 0,8- | | o nS P-UV-2br |
| | o n | | | | |
| | o n | | | | |
| 0,9- | | | 0,9- | | o jn |
| | o jn P-UV-2 | | | | |
| 1,0- | | | 1,0- | | |

Objaśnienia skrótów patrz tekst tab. 1.

Jak wynika z analiz związku o identycznej charakterystyce a występującego w układzie z 28 dnia wegetacji na dniu długim, stymulator zajmujący strefę A-B, posiada w wiązaniu aminy trzeciorzędowe, - N $\begin{matrix} \text{R} \\ \text{R} \end{matrix}$.

Drugi stymulator po stronie katody /B-C/ /ryc.11, tab.10 i 12/ o jasno-niebieskiej fluorescencji, w warunkach rozdzielania elektroforetycznego przy buforze o pH 4 migruje do katody /-11,5 cm/. Jego wartości Rf przy chromatografowaniu w izo-propanolu -NH₄OH - H₂O /10:1:1/ wynoszą 0,91 a dla wody 0,52. Zmiana barwy fluorescencji plamy na żółtą, pod wpływem odczynnika Prochazki wskazują także, że jest to prawdopodobnie BIA.

Z inhibitorów umiejscowionych po stronie katody pierwszy /A/ a także i drugi /B/ migrują w pH 4 szybko do katody /-17,4 i -14,5 cm/. Mając wysokie wartości Rf, przy rozdzielaniu rozwi-
jaczem klasycznym 0,86 i 0,74, są więc związkami lipofilnymi zawierającymi w wiązaniu aminy trzeciorzędowe - N $\begin{matrix} \text{R} \\ \text{R} \end{matrix}$.

Wśród substancji występujących w układzie z 42 dnia wegetacji w zmienianym fotoperiodzie, inhibitor A jest podobny do inhibitora z 28 dnia.

Może też być traktowany jako identyczny związek.

Podobnie można powiedzieć o substancji ze strefy B, która ma swój odpowiednik w omówionym powyżej układzie.

W odcinku punktu startowego /C/ stymulator o dość dużej aktywności, posiadający jasno-niebieską fluorescencję plamy, w polu elektrycznym przy pH 4 wędruje do katody /-11,4/. Jego pI ~ 7. Chromatografujemy izo-propanolem dał Rf 0,87 a woda 0,49 Wskazywałoby to na lipofilny charakter substancji. Nie dostrzegalna w warunkach stosowanych /bufor pH 7/ szybkość migracji

jest spowodowana bardzo nieznaczna zasadowością będącą prawdopodobnie następstwem obecności grupy - NH.

Leżący po stronie anody /ryc.11, tab.10/ inhibitor C-D w pH 4 powędrował do katody /-5,4 cm/. Wartość pI tego związku < 7 ale $> 4,75$. Pozycje zajęte przy rozdzielaniu chromatograficznym Rf 0,92 i 0,44 /tab.13/ wskazują na związek lipofilny. Nie jest to jednak ester IAA ponieważ hamuje wzrost. Nie jest też indolem ani skatolem, bowiem wykazuje ruchliwość elektroforetyczną.

Substancje kwaśne. - Wśród najaktywniejszych regulatorów wzrostu wyróżniających się w układach obrabujących substancje kwaśne zawarte w ekstraktach metanolowych z 28 dnia wegetacji, wymienić należy stymulator leżący po stronie katody w strefie W /tab.11/. Jego charakterystyka odpowiada całkowicie właściwościom kwasu o długim łańcuchu, wykazuje bowiem mniejszą polarność. Wartości Rf są tu stosunkowo wysokie i w warunkach rozdziału rozwijaczem klasycznym, wynoszą 0,43 a dla wody 0,77. 262ta fluorescencja plamy po opryskaniu odczynnikami Prochazki uzupełnia charakterystykę tego związku.

Leżący po stronie anody stymulator Y o pI $< 4,75$, w warunkach elektroforezy przy pH 4 powędrował do katody /-5,6 cm/. Wartości Rf wynoszą tu 0,47 i 0,68. Charakter tego związku jest specyficzny, nie jest bowiem kwasem o długim łańcuchu, o niższej polarności. Dysocjacja jego w kierunku kwasowym przy pH 7 jest słaba, w następstwie czego stymulator ten przemieszcza się wolno do anody. Przy pH 4 dysocjacja w kierunku zasadowym jest również słaba, stymulator migruje więc wolno do katody.

Inhibitor Z z anody o fioletowej fluorescencji przy pH 4 przesunął się do katody /-4,7 cm/. Wartość pI tego związku $< 4,75$. Chromatograficzny rozdział dał wartości Rf dla rozwija-

cza klasycznego 0,06 a dla wody 0,88. Jak wynika z zachowania się tej substancji, jest ona bardzo polarna. Zgodnie z przewidywaniami wartości R_f przy rozdzielaniu wodą są wyższe od R_f charakterystycznych dla IAA. Będzie to kwas o krótkim łańcuchu nie zawierającym grupy $-NH_2$, bowiem przy pH 4 dość wolno migruje do katody.

W 42 dniu wegetacji na uwagę zasługują dwa inhibitory U-W i X. Pierwszy z nich o niebiesko-zielonkawej fluorescencji, przy pH 4 przesunął się do katody /-11,3 cm/. Jego wartości R_f wynoszą 0,19 i 0,67. Na podstawie szybkiej migracji do katody przy pH 4 wnioskować można, że substancja badana posiada grupę $-NH_2$ kwasów aminowych. Pod wpływem opryskania odczynnikiem Prochazki barwa fluorescencji uległa zmianie na pomarańczową.

Umiejscowiony na odcinku plamy startowej inhibitor X został przesunięty elektroforetycznie przy pH 4 do katody /-6,4 cm/. Wartość pI związku badanego jest > 7 . Chromatografowanie dało wartości R_f 0,28 i 0,89. Jest to więc substancja polarna. Pomimo, że jej R_f jest wyższe od R_f IAA będzie to prawdopodobnie kwas o długim łańcuchu.

We wszystkich układach z ekstraktów metanolowych obok analizowanych regulatorów wzrostu występuje stymulator w położeniu Y-Z, którego cechy elektroforetyczne i chromatograficzne potwierdzone barwą fluorescencji wskazują na obecność IAA. Fakt ten podkreślają wyniki analiz porównawczych z syntetycznym związkiem.

B. Roślina dnia drugiego /*Calendula officinalis* L./

Podobnie jak w doświadczeniach z rośliną dnia krótkiego przeprowadzono próby identyfikacji indolo-pochodnych regulatorów wzrostu zawartych w ekstraktach heksanowych i metanolowych z

roślin dnia długiego.

Do identyfikacji wybrano, jak poprzednio, regulatory wzrostu występujące w 7 i 28 dniu wegetacji na dniu długim i dniu krótkim oraz w 28 i 42 dniu dla roślin przebywających w warunkach zmienianego fotoperiodu.

Badano zachowanie się regulatorów wzrostu w warunkach rozdzielania elektroforetycznego przy pH 4 oraz chromatograficznego przy rozwijaniu izo-propanolem - amoniakiem - wodą /10 : 1 : 1/, oraz badano fluorescencję plam w UV a także ich barwę po zadziakaniu odczynnikami Salkowskiego, Ehrlicha i Frochaški. Jedynie w wypadku badania roślin z 42 dnia wegetacji w zmieniającym fotoperiodzie, ze względu na większą wagę świeżej masy pobieranej do ekstrakcji /25 egz. - \pm 60 g/, otrzymano barwne plamy. Zaznaczono je w tabelach.

a/ Długi fotoperiod.

Substancje obojętne. - 3 obojętnych regulatorów wzrostu zawartych w ekstraktach heksanowych z nagietka wegetującego w optymalnych dla rozwoju warunkach świetlnych, na uwagę zasługują regulatory B, C, C-D, E oraz inhibitory D, D-E, przedstawione na histogramie z 7 dnia /ryc.12/.

Położony po stronie katody /-6,3 cm/ stymulator B o znacznej aktywności fizjologicznej, w warunkach rozdzielania elektroforetycznego przy użyciu buforu octanowego o pH 4 migrował szybko do katody /-15,5 cm/ /tab.14/. Przy rozdzielaniu chromatograficznym dał wartości Rf 0,70 i 0,32 /tab.16/. Zachowanie się podczas chromatografii i elektroforezy wskazuje, że związek ten posiada grupę aminową - NH₂. Pomarańczowa fluorescencja plamy, po opryskaniu odczynnikiem Frochaški, nasuwa przypuszczenie,

tab. 14. Elektroforetyczny rozdział regulatorów wzrostu zawartych w ekstraktach heksanowych u rośliny
 dniadługiego vegetującej w warunkach długiego fotoperiodu.

Barwa fluorescencyjna plam.

bufor fosforanowy pH 7 /uzupełnienie do ryc. 12./

| katoda /-/ | start | | | | | anoda /+/ | | |
|------------|-------------|--------------|--------------|-------------------------|-------------------------|--------------|-------------|-------------------------------|
| dni A | A-B | B | B-C | C | C-D | D | D-E | E |
| 7 | | nf P-UV-p | | jn P-UV- δ br | nz P-UV- δ br | jn P-UV-p | n P-UV-p | δ P-UV- δ br |
| 28 | n P-UV-p | | nf P-UV-p | jn P-UV- δ br | jn P-UV- δ br | | | δ P-UV- δ br |

bufor octanowy pH 4

| katoda /-/ | start | | | | | anoda /+/ | | |
|------------|-------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------|--------------|-------------|-------------------------------|
| dni A | A-B | B | B-C | C | C-D | D | D-E | E |
| 7 | | nf P-UV-p | jn P-UV- δ br | nz P-UV- δ br | jn P-UV-p | jn P-UV-p | n P-UV-p | δ P-UV- δ br |
| 28 | n P-UV-p | jn P-UV- δ br | nf P-UV-p | jn P-UV- δ br | jn P-UV-p | | | |

Tab.16. Chromatograficzny rozdział regulatorów wzrostu występujących w roślinie dnia długiego wegetującej w długim fotoperiodzie.

Położenie i barwy fluorescencji plam.

7 dzień wegetacji

/uzupełnienie do ryc.12/

| Etano-prop.-NH ₄ OH-H ₂ O - /10:1:1/ | | | H ₂ O | | |
|--|------------------------------|----------------|------------------|---|----------------|
| Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol | Rf | ekstr. n/heksan | ekstr. metanol |
| 0,1 - | | | 0,1 - | | |
| 0,2 - | | | 0,2 - | | |
| 0,3 - | | o n P-UV-p | 0,3 - | o ns P-UV-2br o nf P-UV-p o jn P-UV-2br o n P-UV-p | |
| 0,4 - | | o sz P-UV-2br | 0,4 - | o ja P-UV-p o z P-UV-2br | |
| 0,5 - | o ja P-UV-p o z P-UV-2br | | 0,5 - | | |
| 0,6 - | o n P-UV-p | | 0,6 - | | o n P-UV-p |
| 0,7 - | o nf P-UV-p o jn P-UV-2br | | 0,7 - | | |
| 0,8 - | o ns P-UV-2br | | 0,8 - | | o sz P-UV-2br |
| 0,9 - | | | 0,9 - | | |
| 1,0 - | | | 1,0 - | | |

Objasnienia skrótów patrz tekst tab. 1.

Tab.17. Chromatograficzny rozdział regulatorów wzrostu występujących w roślinie dnia długiego wegetującej w długim fotoperiodzie.

Położenie i barwy fluorescencji plam.

28 dzień wegetacji

/uzupełnienie do ryc.12/

| izo-prop.-NH ₄ OH-H ₂ O - /10:1:1/ | | | H ₂ O | | |
|--|-----------------|-----------------------------|---------------------------------------|-----------------|-------------------------------------|
| Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol | Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. Metanol |
| 0,1- | | o n | 0,1- | | |
| 0,2- | | o jn | 0,2- | | |
| 0,3- | | o f | 0,3- o nf o jn P-UV-2br | | |
| 0,4- | | o SE P-UV-2br o n P-UV-2 | 0,4- o 2 P-UV-2br o jn P-UV-2br | | |
| 0,5- o 2 P-UV-2br | | | 0,5- o n P-UV-p | | |
| 0,6- o n P-UV-p o jn P-UV-2br | | | 0,6- | | |
| 0,7- o nf P-UV-p o jn P-UV-2br | | | 0,7- | | o f |
| 0,8- | | | 0,8- | | o n P-UV-2 o jn o SE P-UV-2br |
| 0,9- | | | 0,9- | | o n |
| 1,0- | | | 1,0- | | |

Objaśnienia skrótów patrz tekst tab. 1.

że może to być tryptamina. Podobny stymulator, o identycznych cechach analitycznych, zaobserwowano już w układzie dla rośliny dnia krótkiego wegetującej na dniu długim /ryc.10, tab.6 i 8/.

Stymulator leżący w odcinku plamy startowej /C/, jak wykazały analizy posiada podobną charakterystykę jak stymulator występujący w roślinie krótkodniowej w pierwszym tygodniu wegetacji /7 dzień/ na krótkim dniu /ryc.9, bat.2 i 4/. Jego zachowanie się podczas rozdzielń elektroforetycznych i chromatograficznych jak i nietypowe barwy plam w UV wskazują na specyficzny związek trudny do określenia bez porównania z syntetycznymi wzorcami.

Stymulator C-D o niebiesko-zielonkawej fluorescencji posiada wszelkie cechy IAN. W procesie elektroforetycznym przy pH 4 powędrował do katody /-9,8 cm/. Chromatograficzne wartości Rf 0,83 i 0,30 jak i żółte-brązowa barwa plamy po odczynniku Prochaski potwierdzają przypuszczenie, że jest to IAN.

Inhibitor D o $pI < 7$ ale $> 4,75$ przy rozwijaniu chromatograficznym zajął pozycje Rf 0,52 i 0,39. Dane te wskazują na występowanie w związku grupy aminowej $-NH_2$. Jasno-niebieska fluorescencja plamy uległa zmianie po opryskaniu odczynnikiem Prochaski na pomarańczową.

Leżący obok, w strefie D-E inhibitor o niebieskiej fluorescencji, przy rozdzielaniu elektroforetycznym w buforze o pH 4 migrował do katody /-2,8/. Chromatograficznie umiejscowił się w Rf 0,61 i 0,35. Według teoretycznych założeń powinien to być związek zawierający ugrupowanie aldehydowe - CHO. Pomimo inhibicji wzrostu związek występujący w naszym układzie nie jest aldehydem 3-iddolowym jak to wykazało porównywanie z syntetycznym IAH.

Leżący po stronie anody stymulator E o żółtej fluorescencji w warunkach rozdźwięku elektroforetycznego przy pH 4 migrował bardzo powoli do katody $-1,0$ cm/. Jak wynika z rozdźwięku elektroforetycznego pI tego związku $< 4,75$ ale > 4 . Jego występowanie zauważono już w układach zawierających substancje wzrostowe roślin dnia krótkiego wegetujących na dniu krótkim /ryc.9, 7 dzień, tab.2 i 4/.

W 28 dniu wegetacji wśród obojętnych regulatorów wzrostu występują stymulatory w strefach A, A-B, B, C, E /tab.14 i 17/. Trzy ostatnie /B, C, E/ posiadają identyczne charakterystyki jak opisane wyżej.

Stymulator A leżący na katodzie $-12,0$ cm/, w polu elektrycznym przy pH 4 zajął pozycję po stronie katody $-17,2$ cm/. Cechy chromatograficzne /Rf 0,61 i 0,59/ i szybkość migracji elektroforetycznej do katody wskazują na obecność w związku grupy aminowej $-NH_2$.

Bardzo aktywny fizjologicznie stymulator A-B o jasnoniebieskiej fluorescencji płamy, podobnie jak stymulator ze strefy A w elektrofozie przy pH 4 zajął pozycję po stronie katody $-16,2$ cm/ a chromatograficznie Rf 0,65 i 0,45 dla rozdźwięku wodą. Jak z tego wynika, związki te obok identycznego charakteru fizjologicznego mają podobny charakter chemiczny, zawierają bowiem grupę aminową $-NH_2$.

Substancje kwaśne. - Z kwaśnych substancji wyodrębnionych z ekstraktu metanolowego z roślin wegetujących 7 dni w warunkach dnia długiego, występują dwa aktywniejsze stymulatory U, Y-Z /tab.15, 16 i 17/. Ten ostatni posiada wszelkie cechy IAA i jak wynika z porównania z syntetycznym związkiem może być za niego uważany.

Stymulator U o niebieskiej fluorescencji, posiada Rf 0,31 dla warunków rozdzielania iso-propanolem - amoniakiem - wodą i Rf 0,64 dla wody. Dane te wskazywałyby na kwas o długim łańcuchu. Jednakowoż zachowanie się tego związku, w warunkach rozdzielania elektroforetycznego przy pH 7, jest bardzo nietypowe dla tego rodzaju kwasów, które w tych warunkach powinny bardzo powoli przemieszczać się do anody. Jak widać związek badany migruje szybko do katody i to w obydwu wypadkach rozdzielania elektroforetycznego.

W materiale z 28 dnia wegetacji nastąpiło znacznie większe zróżnicowanie jakościowe kwaśnych regulatorów wzrostu /ryc.12, tab.15 i 17/. Obok IAA, występującego w strefie Y-Z pojawiają się jeszcze inne stymulatory i inhibitor.

Aktywny stymulator X-Y o jasno-niebieskiej fluorescencji przemieścił się w elektroforetycznym rozdzielaniu przy pH 4 bardzo nieznacznie do katody /-7,2 cm/. Chromatograficznie zajęł pozycje Rf 0,28 i 0,81 dla wody. Wartości Rf świadczą o obecności kwasu o długim łańcuchu lecz mała szybkość migracji w pH 4 przeczy temu stwierdzeniu.

b/ Krótki_fotoperiod.

Substancje obojetne. - W warunkach wegetacji rośliny doświadczalnej na dniu krótkim występuje niewielkie zróżnicowanie jakościowe i ilościowe regulatorów wzrostu /ryc.13/. W 7 dniu występują regulatory o niewysokiej aktywności. Z występujących tu stymulatorów wszystkie już uprzednio zidentyfikowano. Stymulator A-B jest identyczny z substancją występującą w 28 dniu wegetacji rośliny na dniu długim. Jak to już stwierdzono zawiera on grupę aminową $-NH_2$.

Tab. 18. Elektroforytyczny rozdział regulatorów wzrostu zawartych w ekstraktach heksanowych z rośliny dnia długiego vegetującej w warunkach krótkiego fotoperiodu.

Barwa fluorescencyjna plam.

/uzupełnienie do ryc. 13./

bufer fosforanowy pH 7

| dni | katoda /-/ | | | | start | | | | anoda /+/ | | | | |
|-----|------------|----------------|--------------|----------------|----------------|----------------|---|-------------|-----------|--|--|--|----------|
| 7 | A | A-B | B | B-C | C | C-D | D | D-E | E | | | | |
| | | jn P-UV-śbr | jn P-UV-ś | jn P-UV-śbr | jn P-UV-śbr | nz P-UV-śbr | | | | | | | P-UV-śbr |
| 28 | | jn P-UV-śbr | | | jn P-UV-śbr | nz P-UV-śbr | | n P-UV-p | | | | | P-UV-śbr |

bufer octanowy pH 4

| dni | katoda /-/ | | | | start | | | | anoda /+/ | | | | |
|-----|------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-------------|---|--|-----------|--|--|--|----------|
| 7 | A | A-B | B-C | C | C-D | D-E | E | | | | | | |
| | | jn P-UV-śbr | jn P-UV-ś | jn P-UV-śbr | nz P-UV-śbr | | | | | | | | P-UV-śbr |
| 28 | | jn P-UV-śbr | jn P-UV-śbr | nz P-UV-śbr | | n P-UV-p | | | | | | | P-UV-śbr |

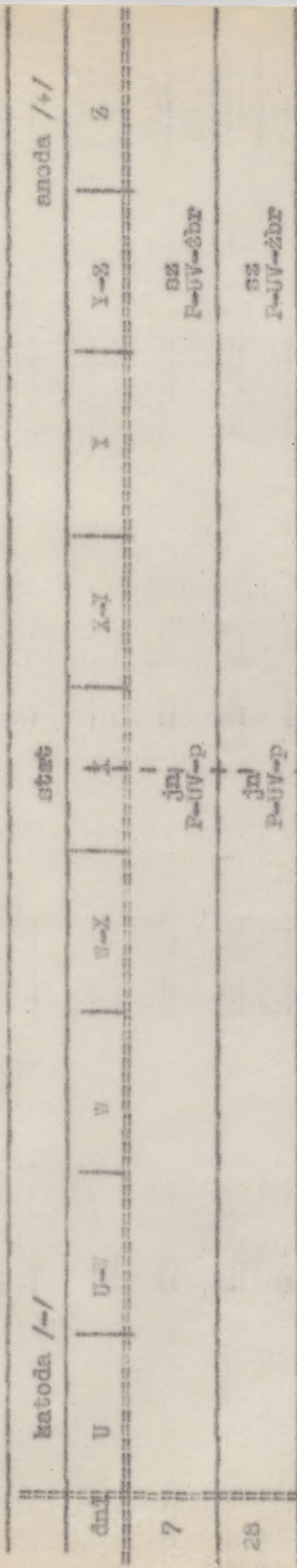
Objaśnienia skrótów patrz tekst tab. 1.

Tab. 19. Elektroforetyczny rozdział regulatorów wzrostu zawartych w ekstraktach metanolowych z rośliny dnia długiego vegetującej w warunkach krótkiego fotoperiodu.

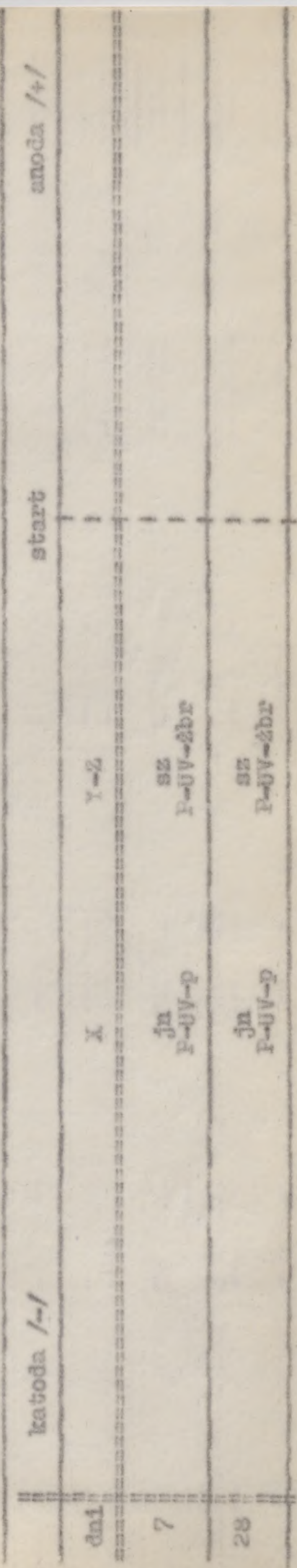
barwa fluorescencyjna plam.

bufor fosforanowy pH 7

/uzupełnienie do ryc. 13./



bufor octanowy pH 4



Objaśnienia skrótów patrz tekst tab. 1.

Tab.20. Chromatograficzny rozdział regulatorów wzrostu występujących w roślinie dnia długiego wegetującej w krótkim fotoperiodzie.

Położenie i barwy fluorescencji plam.

7 dzień wegetacji

/uzupełnienie do ryc.13/

| izo-prop.-NH ₄ OH-H ₂ O - /10:1:1/ | | | H ₂ O | | |
|--|-----------------|----------------|------------------|--------------------------------|------------------------------|
| Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol | Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol |
| 0,1 | | | 0,1 | | |
| 0,2 | | o jn P-UV-p | 0,2 | | |
| 0,3 | | | 0,3 | o ns P-UV-2br o jn P-UV-2br | |
| 0,4 | | o sz P-UV-2br | 0,4 | o 2 P-UV-2br o jn P-UV-2br | |
| 0,5 | | | 0,5 | o jn P-UV-2 | |
| 0,6 | o 2 P-UV-2br | | 0,6 | | |
| | o jn P-UV-2br | | | | |
| 0,7 | o jn P-UV-2br | | 0,7 | | |
| 0,8 | o ns P-UV-2br | | 0,8 | | o sz P-UV-2br o jn P-UV-p |
| 0,9 | o jn P-UV-2 | | 0,9 | | |
| 1,0 | | | 1,0 | | |

Objaśnienia skrótów patrz tekst tab. 1.

Tab.21. Chromatograficzny rozdział regulatorów wzrostu występujących w roślinie dnia długiego wegetującej w krótkim fotoperiodzie.

Położenie i barwy fluorescencji plam.

28 dzień wegetacji

/uzupełnienie do ryc.13/

| izo-prop.-NH ₄ OH-H ₂ O - /10:1:1/ | | | H ₂ O | | |
|--|-----------------------------|----------------|------------------|---|------------------------------|
| Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol | Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol |
| 0,1 | | | 0,1 | | |
| 0,2 | | | 0,2 | | |
| 0,3 | | o jn P-UV-p | 0,3 | o ns P-UV-2br o jn P-UV-2br | |
| 0,4 | | o ns P-UV-2br | 0,4 | o n P-UV-p o A P-UV-2br o jn P-UV-2br | |
| 0,5 | | | 0,5 | | |
| 0,6 | o 2 P-UV-2br | | 0,6 | | |
| 0,7 | o n P-UV-p o jn P-UV-2br | | 0,7 | | |
| 0,8 | | | 0,8 | | |
| 0,9 | o ns P-UV-2br | | 0,9 | | o ns P-UV-2br o jn P-UV-p |
| 1,0 | | | 1,0 | | |

Objaśnienia skrótów patrz tekst tab. 1.

Stymulator ze strefy B-C /-2,7 cm/ o $pI > 7$ w polu elektrycznym przy rozdzielaniu w buforze octanowym o pH 4 migrował do katody /-12,3 cm/. Cechy chromatograficzne /Rf 0,93 i 0,55/ wskazują na ester etylowy IAA /EIA/. Jasno-niebieska fluorescencja plamy, po zadziałaniu odczynnikami Prochazki uległa zmianie na żółtą. Porównanie z syntetyczną substancją potwierdza ostatecznie, że identyfikowana substancja jest EIA /tab.18 i 20/.

Leżący w strefie plamy startowej Stymulator C był już identyfikowany w roślinie dnia krótkiego /ryc.9, tab.2 i 4/ i roślinie dnia długiego na długim dniu /ryc.12 - 7 i 28 dzień, tab.14, 16 i 17/.

Stymulator po stronie anody /C-D/ o niebiesko-zielonkawej barwie fluorescencji to IAN. Potwierdzają to cechy chromatograficzne i elektroforetyczne w porównaniu z syntetyczną substancją, a także z poprzednio zidentyfikowanymi stymulatorami /7 dzień, tab.14 i 16/.

Stymulator ze strefy E to także substancja nader często występująca w naszych doświadczeniach, np. stwierdzono jej obecność w roślinie dnia krótkiego wegetującej na dniu krótkim /ryc.9 tab.2 i 4/, a u rośliny długodniowej na długim dniu /ryc.12 - 7, 28 dzień, tab.14, 16 i 17/.

W układzie z 28 dnia wegetacji wśród regulatorów występują już poprzednio poznane stymulatory ze strefy A-B, C, C-D, E i inhibitor D-E /tab.18/.

Stymulator A-B o jasno-niebieskiej fluorescencji to substancja występująca w układzie z 28 dnia wegetacji nagietka na dniu długim /tab.14 i 17/, zawierająca grupę aminową-NH₂.

Stymulator E występował we wszystkich układach obejmujących obojętne substancje wzrostowe w doświadczeniach nad nagietkiem

a także nad pachnotką, u tej ostatniej zwłaszcza na dniu krótkim /ryc.9, tab.2 i 4/.

Występujący obok niego stymulator C-D to nitryl IAA, na co wskazują cechy chromatograficzne i elektroforetyczne /tab. 18 i 21/.

Najczęściej występującym, obojętnym regulatorem wzrostu jest stymulator E, którego już zidentyfikowano w poprzednich układach.

Charakterystyczne cechy inhibitora D-E, jak to wynika z porównania z analizami dokonanymi poprzednio /ryc.12, 7 dzień, tab.14 i 16/ wskazują na związek zawierający ugrupowanie aldehydowe - CHO.

Substancje kwaśne. - Z substancji kwaśnych, w tym warianci doświadczeń, występuje stymulator identyfikowany jako IAA /Y-Z/ /tab.19 i 20/. Obok niego w odcinku plamy startowej /X/ pojawia się w obydwu układach /7 i 28 dzień/ inhibitor, który jak wynika z charakterystyki elektroforetycznej i chromatograficznej zawiera grupę-NH₂. Występowanie jego zaobserwowano już w układach obejmujących substancje kwaśne z rośliny dnia krótkiego wegetującej na dniu krótkim /ryc.9, tab.3 i 5/.

c/ Zmieniany fotoperiod.

Jakość regulatorów wzrostu występujących w doświadczeniu nad rośliną dnia długiego, którą poddano działaniu zmienianego fotoperiodu, nie różni się wcale od regulatorów identyfikowanych w poprzednich wariantach /ryc.14/.

Substancje obojętne. - W układzie z 28 dnia wegetacji występują stymulatory w strefach A-B, C, E oraz inhibitor D-E /tab. 22 i 23/. Wymienione regulatory, zidentyfikowano już przy omawia-

Tab. 22. Elektroforetyczny rozdział regulatorów wzrostu zawartych w ekstraktach heksanowych z rośliny dnia długiego wegetującej w warunkach zmienianego fotoperiodu.

Barwa fluorescencyjna plam.

bufor fosforanowy pH 7 /uzupełnienie do ryc. 14./

| dni | katoda /-/ | | | | | start | | | | | anoda /+/ | | | |
|-----|------------|----------------|---|-----|----------------|-------|----------------|-----|---|--|-----------|----------------|--|----------------|
| | A | A-B | B | B-C | C | C-D | D | D-E | E | | | | | |
| 28 | | jn P-UV-źbr | | | jn P-UV-źbr | | | | | | | | | |
| 42 | | jn P-UV-źbr | | jn | jn P-UV-źbr | | nz P-UV-źbr | | | | | zn P-UV-źbr | | zn P-UV-źbr |

bufor octanowy pH 4

| dni | katoda /-/ | | | | | start | | | | | anoda /+/ | | | |
|-----|----------------|-----|----------------|----------------|--|-------|---|--|--|--|-----------|--|--|----------------|
| | A-B | B-C | C | C-D | | D-E | E | | | | | | | |
| 28 | jn P-UV-źbr | | jn P-UV-źbr | | | | | | | | | | | |
| 42 | jn P-UV-źbr | jn | jn P-UV-źbr | zn P-UV-źbr | | | | | | | | | | zn P-UV-źbr |

Objaśnienia skrótów patrz tekst tab. 1.

tab. 23. Elektroforetyczny rozdział regulatorów wzrostu zawartych w ekstraktach metabolowych z rośliny dnia długiego wegetującej w warunkach zmienianego fotoperiodu.

Barwa fluorescencji plan.

/uzupełnienie do ryc. 14./

bufor fosforanowy pH 7

| dni | katoda /-/ | | | | | | | | | | anoda /+/ | | |
|-----|------------|-----|---|-----|--------------|-----|---|-----|---|--|-----------|--|----------------|
| | U | U-X | W | W-X | X | X-X | Y | Y-X | Z | | | | |
| 26 | f | n | n | n | n | | | | | | | | SZ P-UV-2br |
| 42 | f | | n | n | jn P-UV-p | | | | | | | | SZ P-UV-2br |

bufor octanowy pH 4

| dni | katoda /-/ | | | | | | | | | | anoda /+/ | | |
|-----|------------|-----|---|-----|--------------|-----|-------|--|--|--|-----------|--|----------------|
| | U | U-X | X | X-X | Y | Y-X | start | | | | | | |
| 26 | f | n | n | | | | | | | | | | SZ P-UV-2br |
| 42 | f | n | n | n | jn P-UV-p | | | | | | | | SZ P-UV-2br |

Objaśnienia skrótów patrz tekst tab. 1.

Tab.24. Chromatograficzny rozdział regulatorów wzrostu występujących w roślinie dnia długiego wegetującej w warunkach zmienianego fotoperiodu.

Położenie i barwy fluorescencji plam.

28 dzień wegetacji

/uzupełnienie do ryc.14/

| iso-prop.-NH ₄ OH-H ₂ O - /10:1:1/ | | | H ₂ O | | |
|--|-----------------------------|-----------------------------|------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol | Rf | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol |
| 0,1 | | | 0,1 | | |
| 0,2 | | o n | 0,2 | | |
| 0,3 | | o f | 0,3 | o jn P-UV-2br o n P-UV-p | |
| 0,4 | | o se P-UV-2br o n P-UV-2 | 0,4 | o 2 P-UV-2br o jn P-UV-2br | |
| 0,5 | o 2 P-UV-2br | | 0,5 | | |
| 0,6 | o n P-UV-p o jn P-UV-2br | | 0,6 | | |
| 0,7 | o jn P-UV-2br | | 0,7 | | o f |
| 0,8 | | | 0,8 | | o n P-UV-2 o se P-UV-2br |
| 0,9 | | | 0,9 | | o n |
| 1,0 | | | 1,0 | | |

Objaśnienia skrótów patrz tekst tab. 1.

Tab.25. Chromatograficzny rozdział regulatorów wzrostu występujących w roślinie dnia długiego vegetującej w warunkach zmienianego fotoperiodu.

Położenie i barwy fluorescencji plam.

42 dzień vegetacji

/uzupełnienie do ryc.14/

| izo-prop.-NH ₄ OH-H ₂ O - /10:1:1/ | | | H ₂ O | | |
|--|-----------------|----------------|------------------|-----------------|----------------|
| R _f | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol | R _f | ekstr. n-heksan | ekstr. metanol |
| 0,1- | | | 0,1- | | |
| 0,2- | | o n | 0,2- | | |
| | | o jn P-UV-p | | o jn | |
| 0,3- | | | 0,3- | o ns P-UV-2br | |
| | | o f | | o jn P-UV-2br | |
| | | o jn P-UV-p | | | |
| 0,4- | | o sz P-UV-2br | 0,4- | | |
| | | | | o 2 P-UV-2br | |
| | | | | o jn P-UV-2br | |
| 0,5- | | | 0,5- | | |
| | o jn | | | | |
| | o 2 P-UV-2br | | | | |
| 0,6- | | | 0,6- | | o jn P-UV-p |
| | o jn P-UV-2br | | | | |
| 0,7- | | | 0,7- | | o f |
| | o jn P-UV-2br | | | | |
| 0,8- | | | 0,8- | | |
| | o ns P-UV-2br | | | | o jn P-UV-p |
| | | | | | o sz P-UV-2br |
| 0,9- | | | 0,9- | | o n |
| 1,0- | | | 1,0- | | |

Objaśnienia skrótów w patrz tekst tab. 1.

niu stymulatorów wyodrębnionych u nagietka rosnącego na dniu drugim /ryc.12 - 28 dzień, tab.14 i 17/, inhibitor D-E natomiast w układzie dnia Brótkiego /ryc.13 - 28 dzień, tab.18 i 21/.

W układach z 42 dnia wegetacji wyodrębniono podobne substancje, ponieważ jednak użyta do ekstrakcji większa masa materiału /+60 g z 25 obiektów/ zawierała znacznie większe ilości regulatorów wystąpiły zabarwienia plam na bibule, po zastosowaniu wywoływaczy Salkowskiego, Ehrlicha i Prochazki /tab.22 i 23/.

Stymulator A-B identyfikowany już jako związek zawierający grupę $-NH_2$, po oprysku wywoływaczami wybarwił się na różowo /Salkowski/, niebiesko /Ehrlich/ i brązowo /Prochazka/ w promieniowaniu widzialnym, a żółto-brązowo u UV. Barwy te jak i zachowanie się związku w procesach elektroforezy i chromatografii a także aktywność fizjologiczna wskazywały na amid IAA /IAM/. Wobec braku syntetycznego IAM do badań porównawczych nie można tego stwierdzenia uważać za ostateczne.

Barwy plam inhibitora ze strefy B-C: brązowa dla odczynnika Salkowskiego, purpurowa dla Ehrlicha i brązowa dla Prochazki uzupełniają jego charakterystykę, lecz nie nasuwają przypuszczeń co do charakteru tego związku.

Stymulator z odcinka plamy startowej /C/, jak już wykazano poprzednio, jest związkiem nie indolowym ze względu na nietypowe zachowywanie się w warunkach rozdziału elektroforetycznego i chromatograficznego. Nietypową jest także jego reakcja na wywoływacze dla związków zawierających pierścień indolowy, nie daje bowiem żadnych barwnych plam a tylko pozostała żółto-brązowa barwa wtórnej fluorescencji.

Barwa plam stymulatora C wskazuje, że jest on nitrylem IAA /IAN/, otrzymano bowiem niebiesko-zieloną barwę fluorescencji pierwotnej, żółto-zieloną dla odczynnika Salkowskiego, brązową

dla Ehrlicha i żółta dla Prochazki. Dane chromatograficzne i elektroforetyczne jak i barwy plam a także porównanie ze związkiem syntetycznym nie budzą wątpliwości co do tożsamości analizowanego stymulatora z IAN /ryc.14, tab.22 i 25/.

Stymulator E, leżący po stronie anody, być może nie jest związkiem indolowym. Jego zachowanie się elektroforetyczne jest nietypowe w odniesieniu do charakterystyki chromatograficznej, wskazującej na substancję mało polarną. Barwy plam nie wyjaśniają bliżej charakterystyki substancji /brązowa - Salkowski, brązowa - Ehrlich i żółta - Prochazka/.

Substancje kwaśne. - Decydującą rolę w układzie obejmującym substancje kwaśne w 28 dniu wegetacji nagietka, w warunkach zmienianego fotoperiodu, odgrywa kompleks stymulatorów w strefach U-W, W, W-X i stymulator po stronie anody /Y-Z/, którego tożsamość z IAA nie budzi wątpliwości /ryc.14, tab.23 i 24/.

Występujący po stronie katody kompleks stymulatorów obserwowano już w układzie z 28 dnia wegetacji nagietka na dniu drugim /ryc.12, tab.15 i 17/ o nieco niższej jednak aktywności. Niektóre z nich obserwowano także u pachnotki wegetującej w warunkach dnia długiego /ryc.10 - 7 dzień, tab.7 i 8/. Np. stymulator W został określony jako kwas o długim łańcuchu.

W 42 dniu wegetacji wśród kwaśnych regulatorów wzrostu występują stymulatory w strefach U-W, W-X, X-Y, Y-Z. Ten ostatni to IAA. Potwierdzają to barwy plam: żółto-różowa dla odczynnika Salkowskiego, szaro-różowa dla Ehrlicha i żółta dla Prochazki.

Stymulator X-Y identyfikowany już w układzie z 28 dnia wegetacji nagietka na dniu drugim, nie może być przyjęty za kwas o długim łańcuchu ze względu na nietypową szybkość elektroforetycznej migracji do katody przy pH 4. Barwy plam: pomarańczowa /Sal-

kowski/, purpurowa /Ehrlich/ i pomarańczowa /Prochazka/ zdają się wskazywać na kwas 3-indolilomlekowy /ILA/, co potwierdzałoby wartości R_f /0,28/ przy rozwijaczu klasycznym. Nie wydaje się to jednak prawdopodobne ze względu na ogólny pogląd, że kwas ten nie przejawia aktywności fizjologicznej.

Inhibitor X, jak już to wykazała identyfikacja elektroforetyczna i chromatograficzna /ryc.9, tab.3 i 5/, zawiera grupę NH_2 kwasów aminowych. Jak się wydaje, na podstawie ruchliwości elektroforetycznej, związek ten posiada $pI \sim 6,8$ /tab.3 i 23/. Barwa niebiesko-fioletowa /Salkowski/, fioletowa /Ehrlich i brązowo-pomarańczowa /Prochazka/ i także dane elektroforetyczne i chromatograficzne wskazywałyby na tryptofan, aczkolwiek przeczy temu fizjologiczna aktywność analizowanej substancji. Tryptofan jest bowiem związkiem wzrostowo nie aktywnym.

Stymulator W-X, o niebieskiej fluorescencji pierwotnej, w warunkach rozdźwięku elektroforetycznego przy pH 4 powędrował do katody /-11,3 cm/. Wartości R_f /0,42 i 0,60/ jak i ruchliwość elektroforetyczna /tab.23 i 25/, wskazywałyby na substancję o niskiej polarności - np. na kwas o długim łańcuchu. Brązowa barwa plamy po zadziałaniu odczynnikiem Salkowskiego, szara - Ehrlicha a żółta - Prochazki, uzupełniają charakterystykę tego związku.

Stymulator U-W występował już w układzie z 28 dnia wegetacji nagietka na dniu drugim /ryc.12, tab.15 i 17/. Jego ruchliwość elektroforetyczna /pH 4 - -15,9 cm/ wskazywałaby na obecność grupy $-NH_2$, natomiast wartości R_f 0,48 dla rozpuszczalnika klasycznego i 0,67 dla wody, na związek o małej polarności. Jest to więc prawdopodobnie kwas o długim łańcuchu. Podczas wywoływania uzyskano następujące barwy plam tego związku :

Złoto-brązowa dla odczynnika Salkowskiego, purpurowa dla Ehrlicha i Złota dla Prochaski.

IV. O m ó w i e n i e w y n i k ó w .

Wpływ długości okresu świetlnego bardzo wyraźnie zaznaczył się na wzroście i rozwoju roślin doświadczalnych.

Rośliny krótkodniowe w warunkach krótkiego fotoperiodu charakteryzowała znaczna ilość węzłów, skrócone międzywęźla i przyhamowanie wzrostu, co w rezultacie wpłynęło na pokrój roślin. Obserwacje te są zgodne z wynikami uzyskanymi przez R y l s k ą i W i s z ł o c k ą /1956/.

Zjawisko to uwiadamia się zwłaszcza przy porównaniu ze wzrostem roślin przebywających w warunkach fotoperiodu długiego, u których zaobserwowano mniejszą ilość węzłów, dłuższe międzywęźla i szybszy wzrost.

W pracy niniejszej stosowano także zmieniany fotoperiod. Podstawą do wyboru terminów zmian okresu świetlnego były badania szeregu autorów / E g i s z 1928, L u b i m i e n k o i S z c z e g ł o w a 1931, L w o w 1940 /151/, K r e n k e 1940 /151/, L e j s l e 1950, M o s z k o w 1952, R y l s k a i W i s z ł o c k a 1956, R y l s k a 1959 /, którzy stwierdzili, że wrażliwość rośliny na fotoperiod jest zależna od fazy jej rozwoju. U pachnotki najwrażliwsza faza występuje w kilkanaście dni po wzejściu. Teoretyczną podstawę takiego twierdzenia daje W e l l e n s i e k /1952/, który zakłada istnienie w rozwoju stadialnym rośliny fazy pośrednie pomiędzy stadium temperaturowym a świetlnym, zwanej przez niego "juvenile phase". W fazie tej rośliny są mało wrażliwe na temperaturę i światło. Faza ta według obserwacji M o s z k o w a /1952/ przypada pomiędzy 1 a 15 dniem wegetacji. Według R y l s k i e j - i W i s z ł o c k i e j /1956/ najlepsze efekty fotoperiodyczne osiąga się przy stosowaniu indukcji pomiędzy

24 a 32 dniem wegetacji. Stwierdzenie to było podstawą wyboru terminu indukowania krótkim dniem, pachnotki przebywającej na 16 godz. dniu a więc w warunkach niesprzyjających dla rozwoju reproduktywnego.

Zastosowanie zmienianego fotoperiodu w przypadku pachnotki jeszcze w znaczniejszym stopniu, aniżeli niesprzyjające warunki świetlne, wpłynęło na pokrój rośliny. Niezależnie od szybkiego wzrostu w okresie wegetacji na dniu długim, po zadziałaniu optymalnym fotoperiodem /10 godz./, dalszy wzrost był zahamowany równając się w 42 dniu wegetacji ze wzrostem rośliny wegetującej w warunkach dnia krótkiego.

Podobnie jak na dniu krótkim w zmienianym fotoperiodzie rośliny zakwitły. W niesprzyjających warunkach długiego dnia pachnotka nie zakwitła.

U rośliny dnia długiego - nagietka, wzrost w pierwszych tygodniach wegetacji, w różnych warunkach świetlnych, nie różnił się znacznie między sobą. Różnice ujawniły się natomiast w doświadczeniach ze zmienianym fotoperiodem. Działanie 16 godz. dniem przez okres 12 dób /24-36 dzień wegetacji/ wpłynęło pobudzająco na wzrost rośliny. Dalsze stosowanie krótkiego fotoperiodu hamowało jednak wzrost wytworzonego pędu kwiatowego. W warunkach długiego i zmienianego fotoperiodu rośliny zakwitły.

Odmienna reakcja roślin dnia krótkiego i długiego na rozmaite warunki fotoperiodyczne, wskazuje na podstawowe różnice fizjologiczne istniejące między nimi. Świadcza o tym różnice w przemianie materiiu tych roślin. Według *L u b i m i e n k i i S z c z e g ł o w e j* /1927/ rośliny dnia długiego charakteryzuje większa energia oddychania aniżeli rośliny dnia krótkiego. Także u roślin dnia krótkiego i długiego występuje różnica w przebiegu procesów hydrolitycznych. Świadcza o tym

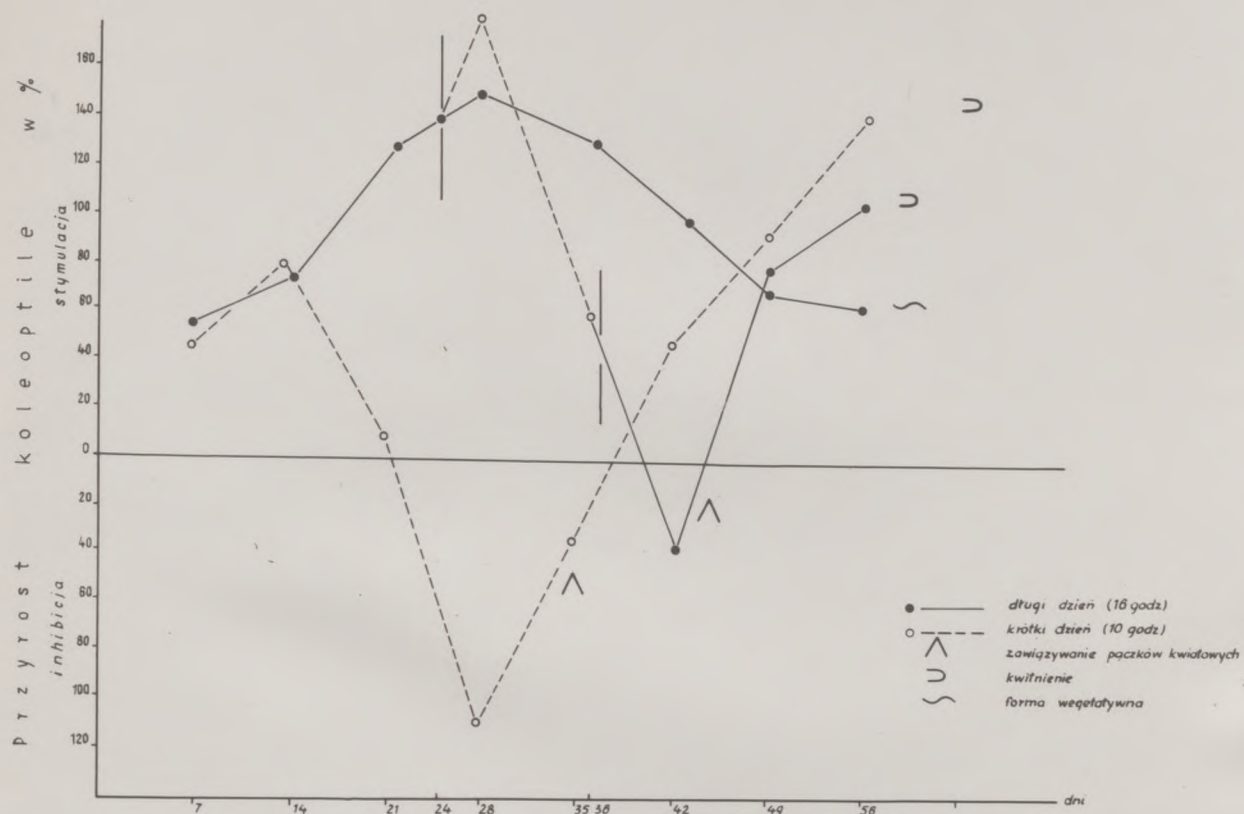
rezultaty prac Graingera /1938/, Laibacha /1943/, Czajlachiana /1956/ i in. Wskazują na to także badania nad związkami proteinowymi /Metzner 1955/ czy też wolnymi aminokwasami /Madan 1956/.

Jak wiemy z przeglądu literatury cytowanej na wstępie, teorie dotyczące procesu kwitnienia wiążą go z aktywnością i jakością substancji wzrostowych. Większość badaczy pracujących nad tym zagadnieniem zajmowała się jednak tylko efektem działania egzogennych substancji wzrostowych na proces kwitnienia. Mało natomiast badań poświęcono wpływowi fotoperiodu na zawartość i jakość endogennych regulatorów wzrostu. Prace w tej dziedzinie są nieliczne a wyniki dość sprzeczne.

W pracy swej przebadam poziom i jakość regulatorów wzrostu w zależności od długości okresu świetlnego u rośliny dnia długiego i krótkiego. Wyniki analiz przedstawione na histogramach /ryc.9 - 14/ wykazują na występowanie stymulatorów i inhibitorów, których aktywność jest ściśle uzależniona od fazy rozwoju rośliny i od warunków doświadczalnych.

Celem wyraźniejszego uwydatnienia różnic w ogólnym poziomie regulatorów sporządzono wykresy /ryc.15 i 16/, na których przedstawiono wypadkową aktywności stymulatorów i inhibitorów dla każdego wariantu doświadczenia.

Fluktuacja regulatorów wzrostu w całym okresie wegetacji rośliny dnia krótkiego, w optymalnych dla jej rozwoju warunkach 10 godz. fotoperiodu, zaznacza się wyraźnie w przebiegu krzywej na wykresie ryc.15. Jak już zauważyliśmy, analizując poszczególne histogramy, stosunek inhibitorów do stymulatorów ulega zmianom w zależności od fazy rozwoju rośliny.



Ryc. 15. Wpływ różnych fotoperiodów na ogólny poziom regulatorów wzrostu u rośliny dnia krótkiego - *Perilla ocimoides* L.

Pomiędzy pierwszym a drugim tygodniem wegetacji decydująca przewagę mają stymulatory. W dalszym rozwoju zaznacza się stopniowy spadek aktywności stymulatorów przy jednoczesnym wzmacnianiu się aktywności inhibitorów. Krzywa na wykresie w 28 dniu wegetacji obejmuje najniższy punkt. W 35-36 dniu pojawiają się pierwsze pączki kwiatowe, co idzie w parze z rosnącą przewagą stymulatorów nad inhibitorami. Od tej chwili krzywa stale wznosi się ku górze, przedstawiając zdecydowaną przewagę stymulatorów w okresie rozwoju pączków kwiatowych aż do pełnego kwitnienia, które obserwowano w 61-63 dniu wegetacji.

U pachnotki wegetującej w warunkach długiego fotoperiodu w miarę jej rozwoju podnosi się znacznie ilość stymulatorów, dlatego też krzywa na wykresie wykazuje tendencje podwyższania się do pewnego maksimum, które przypada na 28 dzień wegetacji. Zjawisko to jest bardzo charakterystyczne, gdy się je porówna z przebiegiem krzywej obrazującej poziom regulatorów u rośliny wegetującej na dniu krótkim. W obydwu wypadkach na 28 dzień przypada maksymalny poziom stymulatorów u rośliny na dniu długim i najwyższa aktywność inhibitorów, u rośliny wegetującej w optymalnym dla niej krótkim fotoperiodzie.

W warunkach dnia o długiego poziomu stymulatorów w dalszym rozwoju rośliny nieco spada, pozostaje jednak nadal na znacznym poziomie, aż do końca doświadczeń.

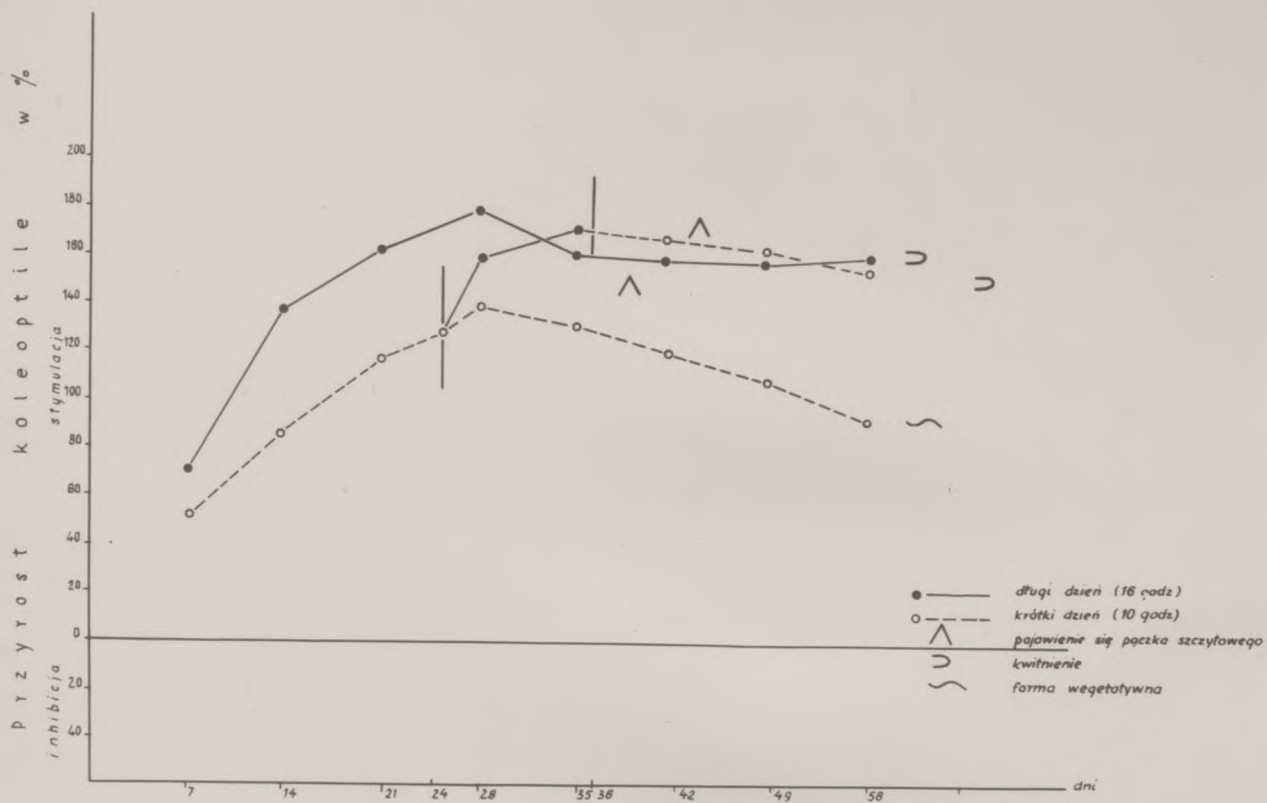
W doświadczeniu trzecim - ze zmienianym fotoperiodem, od chwili zadziałania na roślinę wegetującą w warunkach niesprzyjającego długiego fotoperiodu, krótkim dniem, zauważa się gwałtowny wzrost poziomu stymulatorów, który następnie gwałtownie opada. Bezpośrednio przed pojawieniem się pączków kwiatowych wzmacnia się maksymalnie aktywność inhibitorów. Od tej chwili

aż do pełnego kwitnienia ponownie rośnie aktywność stymulatorów zbliżając się do poziomu aktywności charakterystycznego dla roślin wegetujących w optymalnych warunkach świetlnych.

Jak wynika z analiz, przewaga stymulatorów nad inhibitorami u rośliny dnia długiego wegetującej w optymalnym dla niej fotoperiodzie jest zdecydowana /ryc.16/. Przewaga ta w miarę rozwoju rośliny rośnie aż do 28 dnia wegetacji osiągając w tym czasie swój punkt szczytowy i następnie ulega nieznacznemu obniżeniu. Od chwili pojawienia się paczka szczytowego, początkującego wydłużanie się pędu kwiatowego, przewaga stymulatorów utrzymuje się na stałym poziomie.

Podobną przewagę stymulatorów nad inhibitorami wykazały analizy regulatorów występujących w roślinie dnia długiego wegetującej w warunkach dnia krótkiego. Poziom regulatorów w tych warunkach jest nieco niższy, wykazuje jednak maksimum w podobnym terminie - w 28 dniu wegetacji. Od tego czasu stopniowo opada, utrzymując w okresie zakończenia badań znacznie wyższy poziom niż na początku wegetacji.

Charakterystyczny skok aktywności stymulatorów w następstwie zmiany warunków fotoperiodycznych, wykazały również bioautograficzne analizy regulatorów wzrostu u roślin długodniowych. Po zapoczątkowaniu działania długim fotoperiodem na rośliny przebywające dotychczas w warunkach 10 godz. dnia, nastąpiły zmiany poziomu i jakości stymulatorów przy jednoczesnym wystąpieniu nielicznych i mało aktywnych inhibitorów. W 35 dniu poprzedzającym zakończenie okresu indukcji długim fotoperiodem stwierdzono zanik inhibitorów, co spowodowało, że w tym okresie stymulatory osiągnęły swój szczytowy poziom aktywności. Z chwilą ukończenia działania długim fotoperiodem, zauważono ponowne pojawienie się inhibitorów przy jednoczesnym zwiększeniu



Ryc. 16. Wpływ różnych fotoperiodów na ogólny poziom regulatorów wzrostu u rośliny dnia długiego - *Calendula officinalis* L.

aktywności stymulatorów.

Jak wynika z powyższych danych wpływ długości okresu świetlnego na ogólny poziom regulatorów jest niezaprzeczalny. Rośliny dnia długiego cechuje ogólnie wyższy poziom regulatorów wzrostu, a zwłaszcza stymulatorów, niż rośliny krótkodniowe. Zauważył to już W i t s c h /1941/, a później C o o c k /1954/. Poglądy ostatniego podważają V l i t o s i M e u d t /1954/, którzy u roślin dnia krótkiego-soji /odm. Biloxi, Lincoln/ i tytoniu /Maryland Mamm./ indukowanych dniem krótkim znaleźli znacznie więcej auksyn /IAA, IPyA/.

Moje obserwacje nie potwierdzają wyników V l i t o s a i M e u d t a jakoby rośliny dnia krótkiego indukowane dniem krótkim zawierały ogólnie wyższy poziom stymulatorów. Uwagi powyższych autorów nie mogą także odnosić się do obserwacji C o o c k a ze względu na zasadnicze różnice metodyczne omawianych prac. Gdy C o o c k stosując do oznaczania poziomu auksyn test wygęciowy bez uprzedniego chromatograficznego rozdziału, badał łącznie aktywność stymulatorów i inhibitorów, to V l i t o s i M e u d t określali ilościowo, metodą kolorymetryczną, koncentrację IAA i IPyA wyodrębnion^{ch} uprzednio na drodze rozdziału chromatograficznego na bibule. Za twierdzeniem V l i t o s a i M e u d t a przemawia jednak precyzja metodyczna doświadczeń i duża ilość materiału użyta do ekstrakcji. Wynosi ona w stosunku do materiału użytego przez C o o c k a jak 100 : 1.

Znalezienie przez autorów dużej ilości wolnych kwasów indolo-pochodnych w tkankach roślin indukowanych krótkim dniem nie może przeczyć ogólnie przyjętym poglądom, że o inicjacji kwitnienia tych roślin decyduje określony stosunek stymulatorów

do inhibitorów z zdecydowaną przewagą tych ostatnich, albowiem badania V l i t o s a i M e u d t a nie mówią nic o poziomie inhibitorów w badanym przez nich materiale.

W świetle badań chromatograficznych B e n t l e y a i współprac./1956/, fakt znalezienia w soi odm. Lincoln wyższego poziomu IPyA na krótkim dniu, budzi jednak zastrzeżenia co do możliwości wyodrębnienia przy pomocy izo-propanolu, amoniaku i wody tego wysoce niestabilnego kwasu.

O wpływie długości dnia na poziom regulatorów świadczy także wynik doświadczenia z rośliną dnia krótkiego wegetującą na dniu długim. Jak widać na wykresie /ryc.15/, poziom stymulatorów u pachnotki na dniu długim rośnie do pewnego maksimum a następnie opada, pozostaje jednak przewaga stymulatorów nad inhibitorami. Przypuszcza się, że w następstwie tej przewagi rośliny nie zakwitają.

Charakterystycznym jest gwałtowne podniesienie się poziomu stymulatorów, po zmianie długości fotoperiodu. Zjawisko podobne obserwował C o o c k a także G u s t a f s o n /1946/ i to nawet w wypadku przeniesienia roślin do zupełnej ciemności. Ten wzrost stymulatorów wg C o o c k a nie jest związany z indukcją a raczej z nagłą zmianą fotoperiodu. Tłumaczenie to nie jest jednak zbyt przekonujące w świetle wyników niniejszej pracy.

W moim doświadczeniu z Perilla, po zmianie warunków świetlnych /w 24 dniu wegetacji/ poziom stymulatorów wzrostu szybko się podniósł a następnie opadł. Po ponownej zmianie fotoperiodu krótkiego na długi /36 dzień/ obserwowałem dalszy spadek stymulatorów i uaktywnienie inhibitorów. Bezpośrednio po uaktywnieniu się inhibitorów pojawiły się paczki kwiatowe i nastąpił

ponowny wzrost poziomu stymulatorów, który trwał aż do pełnego kwitnienia. Gdyby zgodnie z teorią C o o c k a tylko nagła zmiana fotoperiodu wpływała na podniesienie poziomu stymulatorów, zaszłoby to i w następstwie stosowanej przez mnie zmiany w 36 dniu wegetacji. Jak wynika z obserwacji zmiana taka nie nastąpiła.

Przebieg krzywej ogólnego poziomu regulatorów w powyższym doświadczeniu ma cechy podobieństwa z przebiegiem takiej krzywej u rośliny dnia krótkiego wegetującej w optymalnych dla niej warunkach krótkiego fotoperiodu, który prowadzi do zakwitania. Charakterystycznym jest także fakt, że podniesienie się aktywności stymulatorów, po uprzednim obniżeniu ich poziomu, poprzedza w obydwu wypadkach pojawienie się zawiązków kwiatowych, co świadczy o przejściu roślin z fazy wegetatywnej do reproduktywnej. Interesującym jest fakt, że aktywność stymulatorów w warunkach długiego fotoperiodu u rośliny dnia krótkiego osiąga maksimum na 28 dzień wegetacji. Na ten sam okres przypada także maksimum inhibitorów w doświadczeniu, w którym na rośliny działano krótkim fotoperiodem, w następstwie czego nastąpiło kwitnienie.

Nieco odmiennie przedstawia się to zagadnienie u rośliny dnia długiego. Widzimy tu jak u pachnotki w następstwie zmiany warunków świetlnych nagła zwiększę aktywności stymulatorów, ale aktywność taka utrzymuje się nadal aż do zakwitania. Faktem jednak jest, że aktywność ta jest zbliżona do wielkości charakteryzującej stymulatory u rośliny wegetującej w optymalnych warunkach fotoperiodycznych.

W warunkach, niesprzyjającego kwitnieniu, krótkiego fotoperiodu, nagietek - podobnie jak *Perilla* na dniu długim - wykazuje dużą przewagę stymulatorów nad inhibitorami.

Poziom stymulatorów jest dość wysoki lecz jak wynika z porównania z poziomem na długim dniu, jest jeszcze zbyt niski aby mógł wpływać na przejście rośliny z fazy wegetatywnej do generatywnej.

Dostrzeżone różnice w poziomach regulatorów wzrostu u obydwu typów roślin w następstwie działania optymalnymi dla nich fotoperiodami mają uzasadnienie w teorii warunkującej zakwitanie roślin dnia długiego od wysokiego ~~ich~~ poziomu stymulatorów, a krótkodniowych od niskiego ich poziomu /C h o -
ł o d n y 1939/.

Jak to wykazali cytowani we wstępie autorzy, pewne uzasadnienie stwierdzonego w pracy niniejszej wpływu niskiego poziomu stymulatorów na proces zakwitania u rośliny dnia krótkiego, znajdujemy także w doświadczeniach, w których stosowano syntetyczne substancje wzrostowe. W wyniku tych doświadczeń wykazano, że proces ten jest hamowany przez egzogenne stymulatory wzrostu a stymulowany przez inhibitory. Szczególnie stosowanie stymulatorów, w optymalnych warunkach fotoperiodycznych wywołuje silne hamowanie rozwoju reproduktywnego roślin.
/H a r d e r i W i t s c h 1941, B o n n e r i T h u r -
l o w 1949 i ii./

Podobne efekty dały także doświadczenia z roślinami dnia długiego, u których uzyskano kwitnienie pod wpływem działania syntetycznymi stymulatorami wzrostu a zahamowanie tego procesu w następstwie działania inhibitorów, obniżających wydatnie poziom endogennych regulatorów wzrostu, warunkujący przejście rośliny do fazy generatywnej /L e o p o l d i T h i m a n n
1949 i ii./

Koncepcje uzależniająca proces kwitnienia roślin dnia

krótkiego od niskiego poziomu stymulatorów wzrostu potwierdzają również doświadczenia C o o c k a . Stwierdzają one, tworzenie się zawiązków kwiatowych u *Xanthium* i soi w warunkach sprzyjającego fotoperiodu, wskutek obniżenia się auksyn do pewnego poziomu. Jeżeli to obniżenie jest niedostateczne, w następstwie zbyt małej ilości indukujących fotoperiodów, to zawiązki kwiatowe przekształcają się w pączki wegetatywne.

Wyniki moich analiz zdają się potwierdzać także obserwacje W i t s c h a /1941/, C o o c k a /1954/, C z a j - ł a c h i a n a i Z d a n o w e j /1938/, którzy zauważyli wysoki poziom stymulatorów na dniu długim u wszystkich roślin niezależnie od ich reakcji fotoperiodycznej.

Trudności sformułowania jakiejś hipotezy, odnośnie roli regulatorów wzrostu w procesie kwitnienia, polegają głównie na dużych różnicach w reakcji poszczególnych gatunków roślin na regulatory. Niektórzy badacze są skłonni przyjąć, że reakcje te u wszystkich roślin zarówno dnia długiego jak i dnia krótkiego są jednakowe /L a n g i M e l c h e r s 1943/, albo klasyfikują wszystkie rośliny na podstawie pewnych określonych reakcji podobnej natury /H a m m e r 1948/.

Jak wiemy niektórzy autorzy postulują istnienie nawet tylko jednej jakiejś hipotetycznej substancji kwiatotwórczej u wszystkich roślin /C z a j ł a c h i a n 1937, W e n t 1938, M e l c h e r s 1939, S t r u c k m e y e r 1950 i ii inni bazują na istniejących w roślinie substancjach typu auksyn - pochodnych indolowych /C h o ł o d n y 1939, S b d i n g 1952 i ii./ lub giberelino-podobnych /W e s t i P h i n n e 1956, 1957, L a n g 1956 a, R i t z e l 1957, N e e l y i P h i n n e y 1957, B r i a n 1958 i ii./

Zagadnienie to komplikuje jeszcze fakt stwierdzenia w roślinach, obok IAA i jego pochodnych, bardzo wielu innych regulatorów wzrostu.

Jak podaje bowiem literatura, zastosowanie do analiz metody chromatograficznej, pozwoliło zidentyfikować w materiale roślinnym następujące regulatory wzrostu: kwas 3-indolilpirogronowy /IPyA/ *Stove i Thimann* /1954/, ester etylowy kwasu 3-indoliloctowego /BIA/ *Teubner* 1953/, kwas 3-indolilopropionowy /IPA/, skatol /SKT/ *Linsler i współprac.* 1954/, kwas 3-indolilokarboksylowy /ICA/ *Cartwright i współprac.* 1956/, tryptofan /Tr/, aldehyd 3-indolowy /IAH/ *Fischer* 1954/, aldehyd 3-indoliloctowy /IAAH/, tryptamina /Tra/ *Gordon i Sanchez-Nieva* 1949/. Oprócz nich, *Sen* /1959/ wymienia jeszcze około 60 stymulatorów i 30 inhibitorów chemicznie bliżej nie zidentyfikowanych.

Wielu badaczy *Yamaki i Nakamura* 1952, *Luckwill i Powell* 1956, *Hausley i Bentley* 1956, *Mimault* 1956, *Kefford i Helms* 1957, *Audus i Gunning* 1958/ dowodzi że związki te nie działają w roślinie pojedynczo lecz jako wielocząsteczkowe kompleksy auksynowo-proteinowe. Kompleksy te stanowią stałą rezerwę do syntezy auksyn *Gordon* 1946, *Moewus* 1949, *Galston* 1956/ wykrywanych zazwyczaj w roślinie jako auksyny wolne. Taki kompleks auksynowo-proteinowy według badań *Siegela i Galstona* /1953/ oraz *Leopolda i Guernsey* /1953 c/ tworzy grupę prostetyczną Co-enzymu. Dla procesów wzrostowych rośliny właśnie takie połączenie substancja wzrostowa - białko ma

szczególne znaczenie. /Skoog i Thimann 1940, Wildman i Bonner 1947, Bonner 1950/.

Różne formy regulatorów - stymulatory i inhibitory, łatwo przekształcają się pod wpływem różnych czynników zewnętrznych i wewnętrznych. /Bonde 1953, Raads i Söding 1957/. Proces uwalniania auksyn z ich kompleksowych połączeń następuje na drodze reakcji enzymatycznych /Skoog i Thimann 1940, Wildman i Gordon 1942, Thimann i Mahadevan 1958, Thimann i współprac. 1942, Judkins 1945 i ii./

Proces taki może zachodzić także w odwrotnym kierunku pod wpływem swoistych oksydaz /Tang i Bonner 1947, Gordon 1954, Galston i Backer 1951, Thimann i Mahadevan 1958 i ii./.

Typowym tego przykładem jest destrukcja enzymatyczna tryptofanu, którego źródłem w roślinie są związki proteinowe. Prowadzi ona przez szereg pośrednich związków do syntezy kwasu 3-indoliloctowego /Larsen 1951, Flaschenträger i Lehnartz 1951, Gordon 1954, Reinert 1954/. Tymi pośrednimi związkami są: kwas 3-indolilopirogronowy, tryptamina, tryptofol, aldehyd 3-indoliloctowy, nityl IAA i amid 3-indoliloctowy.

Jak widać z wyników niniejszej pracy o zawartości auksyn w roślinie decyduje także światło. Wpływ jego jest wielokierunkowy. Z jednej strony wpływa ono na ich syntezę /Went i Thimann 1937, Leopold 1955, Audus 1959/, z drugiej strony inaktywuje je a zwłaszcza kwas 3-indoliloctowy /Galston i Baker 1949, Larsen 1951, Brauner 1953, Fischer 1954, Melchior 1957/. Zjawisko to wiąże się z teorią Livermana -

n n a i B o n n e r a /1953/ dotycząca powstawania i rozkładu auksyn pod wpływem światła czerwonego i jego antagonisty podczerwonego.

Fotolityczne działanie światła na kwas 3-indoliloctowy wpływa na pojawienie się w roślinie całego szeregu związków - produktów fotolizy tego kwasu / G a l s t o n 1949, B r a u n e r i B r a u n e r 1954, F i s c h e r 1954, M a y r 1956, M e l c h i o r 1957 i ii./ Jako substraty tej fotolizy wymienia się: aldehyd 3-indolowy, kwas 3-indolilokarbonowy, kwas 3-indoliloglikolowy, indol, skatol.

Znalezienie w pracy niniejszej w analizowanym materiale roślinnym szeregu związków indole-pochodnych jako produktów enzymatycznej i fotolitycznej destrukcji tryptofanu a następnie kwasu 3-indoliloctowego, nie może budzić wątpliwości. Porównanie niektórych z nich np.: kwasu 3-indoliloctowego /IAA/, nitylu IAA /IAN/, estru etylowego IAA /EIA/ i aldehydu 3-indolowego /IAH/ z syntetycznymi substancjami potwierdza ich identyczność. O identyczności dalszych np.: tryptaminy i amidu 3-indoliloctowego, pomimo braku porównań ze wzorcami, świadczą charakterystyki elektroforetycznego i chromatograficznego rozdziału w różnych warunkach.

Wymienione powyżej związki są więc, stwierdzonymi analitycznie, endogennymi substancjami wzrostowymi, które w ontogenezie roślin, ulegają ilościowym i jakościowym zmianom, w zależności od stosowanych warunków świetlnych.

Należy zdać sobie sprawę, że metody stosowane w pracy niniejszej nie pozwoliły na identyfikację innych stymulatorów a między innymi i związków giberelino-podobnych. Dalsze badania tego zagadnienia wymagają opracowania nowszych metod,

które pozwoliłyby zidentyfikować pozostałe regulatory.

Wyniki badań, przedstawione w niniejszej pracy, wskazują na wyraźną zależność w ilościowych i jakościowych zmianach regulatorów wzrostu w ontogenezie rośliny dnia krótkiego i długiego w następstwie działania odpowiedniej długością okresu świetlnego.-

V. WNIOSKI

1. Wykazano ścisłą zależność pomiędzy długością okresu świetlnego a wzrostem i rozwojem rośliny. Długość okresu świetlnego wpływa wydatnie na szybkość wzrostu, przyrost świeżej masy i na pokrój rośliny oraz warunkuje zakwitanie.

2. Stwierdzono, że długość okresu świetlnego wywiera zasadniczy wpływ na ogólny poziom regulatorów wzrostu u rośliny dnia krótkiego i długiego.

a/ W optymalnych warunkach fotoperiodycznych, r o ś l i -
n ę d n i a k r ó t k i e g o cechuje niski poziom
stymulatorów natomiast wysoki inhibitorów a zwłaszcza
w okresie przed pojawieniem się pączków kwiatowych.

W doświadczeniu ze zmiennym fotoperiodes, w nastę-
pnie sadsiałania optymalną długością dnia, bezpośrednio
przed pojawieniem się pączków kwiatowych, obserwowano
podobne obniżenie poziomu stymulatorów i występowanie
aktywnych inhibitorów.

Na dniu długim, poziom stymulatorów jest znacznie
wyższy.

Warunkiem przejścia rośliny dnia krótkiego z fazy we-
getatywnej do reproduktywnej jest odpowiedni stosunek
poziomu stymulatorów do poziomu inhibitorów.

b/ R o ś l i n ę d n i a d ł u g i e g o cechuje ogólnie
wyższy poziom stymulatorów wzrostu. W warunkach op-
tymalnego fotoperiodu jest on wyższy niż na dniu krótkim.
Ten wysoki poziom stymulatorów warunkuje zakwitanie ro-
śliny.

3. Zmiana długości okresu świetlnego, w stosowanych wa-
runkach doświadczalnych, prowadzi jednorazowo do nagłego

podniesienia poziomu stymulatorów. Poziom ten u rośliny dnia krótkiego utrzymuje się przez krótki okres czasu a u długodniowej pozostaje bez zmiany.

4. W wyniku analiz elektroforetycznych, chromatograficznych, fluorescencyjnych i biologicznych w materiale zidentyfikowano endogenne substancje warostowe będące pochodnymi indolu: kwas 3-indoliloctowy, ester etylowy tego kwasu, jego nityl, aldehyd 3-indolowy. Przypuszcza się, że w badanym materiale występuje tryptamina i amid 3-indoliloctowy.
5. Wyniki pracy niniejszej pozwalają wnioskować, że długość okresu świetlnego wywiera zasadniczy wpływ na ilościowy i jakościowy skład regulatorów warostu w roślinach i że zakwitanie ich jest uwarunkowane od odpowiednich stosunków ilościowych pomiędzy stymulatorami i inhibitorami.-

VI. Literatura.

1. ADLER, R. /1940/. Das Wesen der Kurz- und Langtagpflanzen. Forschungsgienst, 9, 121-125.
2. AUDUS, L.J. /1959/. Plant Growth Substances. L.Hill Lmd. London. Intersci.Publ.Inc., New York.
3. AUDUS, L.J. and GUNNING B.E.S. /1958/. Growth substances in the roots of *Pisum sativum*. *Physiol.Plant.*, 2, 685-697.
4. BENNET-CLARK, F.A. KEFFORD, N.P. /1953/. Chromatography of the growth substances in plant extracts. *Nature*, 171, 645-647.
5. BENNET-CLARK, F.A., TAMBIACH, M.S. and KEFFORD, N.P./1952/. Estimation of plant growth substances by partition chromatography. *Nature*, 169, 452-453.
6. BENTLEY, J.A., FARRER, K.R., HOUSLEY, S., SMITH, G.F. and TAYLOR, W.C. /1956/. Some chemical and physiological properties of 3-indolylpyruvic acid. *Biochem Jour.*, 64, 44-49.
7. BITANCOURT, A.A. /1954/. Identification of auxins by paper chromatography and electrophoresis. *Rev.Bras.de Quim.*, 36, 217-225.
8. BONDE, E.K. /1953/. Auxins and auxin precursor in acid and non acid fraction of plant extracts. *Bot.Gaz.*, 115, 1-15.
9. BONNER, J. /1933/. The action of the plant growth hormone. *Jour. gen.Physiol.*, 17, 63-76.
10. BONNER, J. /1949/. Further experiments on flowering in *Xanthium*. *Bot.Gaz.*, 110, 625-627.

11. BONNER, J. /1950/. Arsenate as a selective inhibitor of growth substance action. *Plant Physiol.*, 25, 181-184.
12. BONNER, J. and BONNER, D. /1948/. Note of induction of flowering in *Xanthium*. *Bot.Gaz.*, 110, 154-156.
13. BONNER, J. and THURLOW, J. /1949/. Inhibition of photoperiodic induction in *Xanthium* by applied auxin. *Bot.Gaz.*, 110, 613-624.
14. BORTHWICK, H.A., HENDRICKS, S.B. and PARKER, M.W. /1952 a/. The reaction controlling floral initiation. *Proc.Natl.Acad. Sci., U.S.*, 38, 929-934.
15. BORTHWICK, H.A., HENDRICKS, S.B., PARKER, M.W., TOOLE, E.H. and TOOLE, V.K. /1952 b/. A reversible photoreaction controlling seed germination. *Proc.Natl. Acad.Sci., U.S.*, 38, 662-666.
16. BORTHWICK, H.A., HENDRICKS, S.B., TOOLE, E.H. and TOOLE, V.K. /1954/. Action of light on lettuce - seed germination. *Bot.Gaz.*, 115, 205-225.
17. BORTHWICK, H.A. and PARKER, M.W. /1938/. Photoperiodic perception in Bilioxi soybeans. *Bot.Gaz.*, 100, 374-387.
18. BORTHWICK, H.A., PARKER, M.W. and HEINZE, P.H. /1941/. Influence of localized low temperature on Bilioxi soybean photoperiodic induction. *Bot.Gaz.*, 102, 792-800.
19. BORTHWICK, H.A., PARKER, M.W. and HENDRICKS, S.B. /1948/. Wave length dependance and the nature of photoperiodism. *Lotsya.*, 1, 71-78.
20. BRAUNNER, L. /1953/. Untersuchungen über die Photolyse des Heteroauxins. I. *Mitteilg., Zeitschr.f.Bot.*, 41, 291-342.

21. BRAUNNER, L. und BRAUNNER, M. /1954/. Untersuchungen über die Photolyse des Heteroauxins. II Mitteilg., Zeitschr.f.Bot., 42, 83-93.
22. BRIAN, P.W. /1958/. Role of gibberellin-like hormones in regulation of plant growth and flowering. Nature, 181, 1122-1123.
23. BRIGGS, W.R., MOREL, G., STEEVES, T.A., SUSSEX, I.M. and WETMORE, R.H. /1955/. Enzymatic auxin inactivation by extracts of the fern *Osmunda Cinnamomea* L. Plant Physiol., 30, 143-147.
24. BÜNNING, E. /1956/. Handbuch der Pflanzenphysiologie. Bd.II. Springer Verl. Berlin/Göttingen.
25. BÜNSOW, R. and HARDER, R. /1956/. Blütenbildung von Bryophyllum durch Gibberellin. Naturwissenschaften, 43, 479-480.
26. CARTWRIGHT, P.M., SYKES, T.J., WAIN, R.L. /1956/. The distribution of natural hormones in germinating seeds and seedling plants. - The Chemistry and Mode of Action of Plant Growth Substances. R.L. Wain and F. Wightman. Butterworths Sci.Publ. London. 32-39.
27. CATHEY, H.M. and BORTHWICK, H.A. /1957/. Photoreversibility of floral initiation in *Chrysanthemum*. Bot.Gaz., 119, 2.
28. CHOŁODNY, N.G. /1939/. Pfitzhormony. Oczerki po fizjologii hormonalnych jawlonij w rastitelnom organizmie. Kijew. Izd. Akad. Nauk USSR.
29. CLAES, H. /1952/. Wirkung von IAA und TIBA auf die Blütenbildung von *Nyctagynus niger*. Zeitschr.f.Naturforsch., 7 b, 50-55.

30. COOKE, A.R. /1954/. Changes in free auxin content during photoinduction of shortday plants. *Plant Physiol.* 29, 440-444.
31. CZAJBACHIAN, M.Ch. /1936/. Nowyje fakty k obosnowaniju gormonalnoj teorii razwitija rastienij. *DAN. /SSSR/*. 4, 54-57.
32. CZAJBACHIAN, M.Ch. /1937/. Gormonalnaja teorija razwitija rastienij. *Izd. Akad. Nauk SSSR. Moskwa.*
33. CZAJBACHIAN, M.Ch. /1956/. Fotoperiodizm i osnovije fizjologičeskie procesy rastienij. *Žurnak Obszcz. Biok.*, 17, 2-7.
34. CZAJBACHIAN, M.Ch. /1958/. Wlijanije gibberellinow na rost i razwitije rastienii. *Bot. Žurn.*, 43, 942-952.
35. CZAJBACHIAN, M.Ch., ZDANOWA, D.P. /1938/. Poky hormonow rosta w formoobrazowatielnych processach. I. Fotoperiodizm i obrazowanije rostowych hormonow. *DAN. SSSR.* 19, 107-111.
36. DENFFER, D., BEHRENS, M. und FISCHER, A. /1952 a/. Papierelektrophoretische Trennung von Indolderivaten aus Pflanzenextrakten. *Naturwissenschaften*, 39, 258-259.
37. DENFFER, D., BEHRENS, M. und FISCHER A. /1952 b/. Papierchromatographischer und Papierelektrophoretischer Nachweis des b-Indolacetonitril und des b-Indolaldehyd in extracten aus Kohlpflanzen. *Naturwissenschaften*, 39, 550-551.
38. DENFFER, D., und GRÜNDLER, H. /1950/. Über Wachstoffsstoffinduzierte Blühhemmung bei Langtagpflanzen. *Biol. Zentralblatt.*, 69, 272-282.

39. DOROSZENKO, A.W., RAZUMOW, W.I. /1929/. Fotoperiodizm niekotorych kulturnych form w swiazii z ich geograficznym sroczhozdieniem. Trudy po prikladnoj botanikie, 22, 1-40.
40. EGISZ, S.A. /1928/. K'woprosu o fotoperiodizmu u soi i kukury. Trud.Dietskosielsk.aklimat.stac., 9, 12-28.
41. FABIAN, L. /1938/. Beiträge zum Lang- und Kurstags problem. Zeitschr.f.Bot., 33, 84-100.
42. FEUCHT, J.R., WATSON, O.P. /1958/. The effect of gibberellin on internodal tissues of *Phaseolus vulgaris* L. Amer.Jour.Bot., 45, 520-522.
43. FISCHER, A. /1954/. Über die Papierchromatographische und Papierelektrophoretische Trennung von Indolderivaten. Planta, 43, 288-914.
44. PLASCHENTRÄGER, B. und LEHNHARTZ, E. /1951/. Physiologische Chemie. Bd.I. Springer Verl. Berlin/Cöttingen.
45. FUNKE, G.L. /1943/. Observation on the flowering periodicity. Rec.trav.botan.neel., 40, 393-412.
46. GALSTON, A.W. /1947/. The effect of 2,3,5-triodobenzoic acid on the growth on flowering of soybeans. Amer.Jour.Bot., 34, 356-360.
47. GALSTON, A.W. /1949/. Riboflavin - sensitized photooxydation of indoleacetic acid and related compounds. Proc.Nat.Akad.Sci.U.S., 35, 10-14.
48. GALSTON, A.W. /1956/. Same metabolic consequences of the administration of indoleacetic acid to plant cells. - The Chemistry and Mode of Action of Plant Growth Substances. R.L.Wain and F.Wightman. Butterworths Sci.Publ. London. 219-233.

49. GALSTON, A.W. and BECKER, R.S. /1949/. Studies on the physiology of light action. II. The photodynamic action of riboflavin. Amer.Jour.Bot., 36, 773-780.
50. GALSTON, A.W. and BECKER, R.S. /1951/. Studies on the physiology of light action. III. Light activation of a flavoprotein enzyme by reversal of naturally occurring inhibition. Amer.Jour.Bot., 38, 190-195.
51. GARDNER, F.P. and ICOMIS, W.E. /1953/. Floral induction and development on orchard grass. Plant Physiol., 28, 211.
52. GARNER, W.W. and ALLARD, H.A. /1920/. Effect of the relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction in plants. Jour.Agric.Res., 18, 553-606.
53. GARNER, W.W. and ALLARD, H.A. /1923/. Further studies in photoperiodism the response of the plant to relative length of day and night. Jour.Agric.Res., 23, 871-920.
54. GARNER, W.W. /1936/. Photoperiodism. Biological effect of radiation. ed.B.M.Duggar. vol.II. chap.9, Mc. Graw-Hill Book Comp.Inc., New York.
55. GILSON, M. /1957/. Evolution quantitative de l'acide β -indolacétique chez *Hyoscyamus niger* en rapport avec la sexualisation et la floraison. Akad.roy. Belg.Bull., classe sci.Série 3, 43, 778-798.
56. GOODWIN, R.H. and OVENS, O.V. /1951/. The effectiveness of the spectrum in *Avena* internode inhibition. Bull. Torrey Botanical Club., 78, 11-21.
57. GORDON, S.A. /1946/. Auxin - protein complexes of the wheat grain. Amer.Jour.Bot., 33, 160-169.

58. GORDON, S.A. /1954/. Occurance, formation and inactivation of auxins. *Ann.Rev.Plant Physiol.*, 5, 341-378.
59. GORDON, S.A. and SANCHEZ-NIEVA, F. /1949/. The biosynthesis of auxin in the vegetative pineapple. II. The precursors of indoleacetic acid. *Arch.Biochem.*, 20, 267-285.
60. GRAINGER, J. /1938/. Studies upon the time of flowering of plants. The relation of nocturnal translocation to the time of flowering. *Ann.Appl.Biol.*, 25, 1-8.
61. GREEN, M. and FULLER, H.J. /1948/. Indole-3-acetic acid and flowering. *Science*, 108, 415-416.
62. GREGORY, F.G. /1948/. The control of flowering in plants. *Symp.Soc.Exp.Biol.*, 2, 75-103.
63. GREULACH, V.A. and HAESLOOP, J.G. /1958/a/. The influence of gibberellic acid in cell division and cell elongation in *Phaseolus vulgaris*. *Amer.Jour. Bot.*, 45, 566-570.
64. GREULACH, V.A. and HAESLOOP, J.G. /1958 b/. Influence of gibberellin on *Xanthium* flowering as related to number of photoinductive cycles. *Science*, 127, 646-647.
65. GUERN, J. /1959/. Observation sur les méthodes de separation et d'extraction des substances de croissance, a l'occasion de l'étude de la baie du gui. *Rev.Gen.Bot.*, 66, 489-529.
66. GUSTAFSON, F. /1941/. The extraction of growth hormones from plants. *Amer.Jour.Bot.*, 28, 947-951.
67. GUSTAFSON, F.G. /1946/. Influence of external and internal factor on growth hormone in green plants. *Plant Physiol.*, 21, 49-62.

68. HAIS, I.M. und MACEK, K. /1958/. Handbuch der Papierchromatographie. Bd.I. Grundlagen und Technik. Fischer Verl.Jena.
69. HAMNER, K.C. /1948/. Hormones in relation to vernalization and photoperiodism. *Lotsya*, 1, 63-70.
70. HAMNER, K.C. and BONNER, J. /1938/. Photoperiodism in relation to hormones as factors in floral initiation and development. *Bot.Gaz.*, 100, 388-431.
71. HAMNER, K.C. and LONG, E.M. /1939/. Localization of photoperiodic perception in *Helianthus tuberosus*. *Bot.Gaz.*, 101, 81-90.
72. HARADA, J. and NITSCH, J.P. /1959/. Changes in endogenous growth substances during flower development. *Plant. Physiol.*, 34, 409-414.
73. HARDER, R. /1944/. Notiz über die Abhängigkeit der Ausbildung der Blütenstände von der Grösse der photoperiodisch behandelten Blattfläche bei *Kalanchoe Blossfeldiana*. *Flora*, 38, 1-10.
74. HARDER, R. /1948/. Vegetative and reproductive development of *Kalanchoe Blossfeldiana* as influenced by photoperiodism. *Symp.Soc.Exp.Biol.*, 2, 117-138.
75. HARDER, R. und BODE, O. /1943/. Über die Wirkung von Zwischenbelichtungen während der Dunkelperiode auf das Blühen, die Verlaubung und die Blattsukkulenz bei der Kurztagspflanze *Kalanchoe Blossfeldiana*. *Planta*, 33, 469-504.
76. HARDER, R., FABIAN, I. und DENFFER, D. /1937/. Lichtintensität und Photoperiodismus. *Züchter*, 9, 18-24.
77. HARDER, R. und van SENDEN, H. /1949/. Antagonistische Wirkung von Wuchsstoff und Blühormon. *Naturwissenschaften*, 36, 348.

78. HARDER, R. und WITSCH, H. /1941/. Über die Bedeutung der Kohlensäure und der photoperiodischen Belichtung für die Blütenbildung der Kalanchoe Bloesfeldiana. Naturwissenschaften, 29, 770-771.
79. HEATH, C.V.S. /1943/. Studies in the physiology of the onion plant. II. Effects of day length and temperature on onions grown from sets, and general discussion. Ann.Appl.Biol., 30, 308-319.
80. HOUSLEY, G. and BENTLEY, J.A. /1956/. Studies on plant growth hormones. IV. Chromatography of hormones and hormone precursors in cabbage. Jour.Exp.Bot., 20, 219-238.
81. HUSSEY, G. and GREGORY, P. /1954/. The effect of auxin on the flowering behavior of Wintex barley and Petkus rye. Plant Physiol., 29, 292-296.
82. JUDKINS, W.P. /1945/. The extraction of auxin from tomato fruit. Amer.Jour.Bot., 32, 242-249.
83. KATUNSKIJ, W.M. /1937/. Zawisimost' fotoperiodiczeskoj reakcji ot spektralnego sostawa swieta. DAN SSSR, 15, 501-505.
84. KEFFORD, N.P. and HELMS, K. /1957/. Indoleacetic acid in two species of Nicotiana. Nature, 179, 678.
85. KHUDAIRI, A.K. and HAMNER, K.C./1954/. The relative sensitivity of Xanthium leaves of different ages to photoperiodic induction. Plant Physiol., 29, 251-257.
86. KLEIN, W.H. and LEOPOLD, A.C. /1953/. The effect of mallic hydrazide on flower initiation. Plant Physiol., 28, 293-298.

87. KLESZNIN, A.F. /1943/. K'woprosu o roli spektralnogo sostawa swieta w fotoperiodiczeskoj reakcii. DAN SSSR, 40, 208-211.
88. KLESZNIN, A.F. /1946/. Znaczenije spektralnogo sostawa swieta dla fotoperiodiczeskogo i formoobrazowatielnogo procesa na razlicznych fazach razwitija. DAN SSSR, 53, 813-816.
89. KLESZNIN, A.F. /1950/. Znaczenije razlicznych obklastiej spektra fizjologiczeskoj radiacii dla rosta i razwitija rastienij. DAN SSSR, 70, 891-894.
90. KNOTT, J.E. /1934/. Effect of a localized photoperiod on spinach. Proc.Am.Soc.Hort.Sci., 31, 152-154.
91. KONISHI, M. /1956/. Studies on development of flowering stalks in long-day plants in relation to auxin metabolism. Mem.Coll.Agr.Kyoto Univ., 75, 1-70.
92. KUBRIAWCEW, W.A. /1948/. Otnoszenije jaczmenia k intjensiwnosti oswieszczenija posle okonczenija swietowej stadii. DAN SSSR, 60, 112-116.
93. KUTÁČEK, M., ROKOSOVÁ, K., RETOVSKÝ, R. /1959/. A study of metabolism of exogenous tryptophane and b-indoleacetic acid in extirpated wheat embryos. Biol. Plant., 1, 54-62.
94. LAIBACH, F. /1943/. Zur Ätiologie der Blütenbildung. Naturwissenschaften, 31, 21-22.
95. LAIBACH, F. und KRIBBEN, F.J. /1951/. Die Bedeutung des Wuchsstoffs für die Bildung und Geschlechtsbestimmung der Blüten. Beitr.Biol.der Pflanzen, 28, 138-144.

96. LANG, A. /1941/. Über die Bedeutung von Licht und Dunkelheit in der photoperiodischen reaction von Langtagpflanzen. Biol.Zentrbl., 61, 427-438.
97. LANG, A. /1949/. Entwicklungsphysiologie. Fortschr. Bot., 12, 340-441.
98. LANG, A. /1956 a/. Stem elongation in a rosette plant induced by gibberellic acid. Naturwissenschaften, 43, 257-258.
99. LANG, A. /1956 b/. Induction of flower formation in biennial *Hyoscyamus* by treatment with gibberellin. Naturwissenschaften, 43, 284-285.
100. LANG, A. /1956 c/. Gibberellin and flower formation. Naturwissenschaften, 43, 455.
101. LANG, A. /1957/. The effect of gibberellin upon flower formation. Proc.Natl.Acad.Sci.U.S., 43, 709-717.
102. LANG, A. /1959/. The influence of gibberellin and auxin on photoperiodic induction. Photoperiodism and related phenomena in plants and animals. Amer.Ass.for the Adv.of Sci. Washington D.C. 329-350.
103. LANG, A. /1960/. Gibberellin-like substances in photoinduced and vegetative *Hyoscyamus* plants. Planta, 54, 498-504.
104. LANG, A. und MELCHERS, G. /1941/. Über den hemmenden Einfluss der Blätter in der photoperiodischen Reaction der Pflanzen. Naturwissenschaften, 29, 82-83.
105. LANG, A. und MELCHERS, G. /1943/. Die photoperiodische Reaction von *Hyoscyamus niger*. Planta, 33, 653-702.
106. LANG, A. SANDROVAL, J.A. and BEDRI, A. /1957/. Induction of bolting and flowering in *Hyoscyamus* and *Samolus* by a gibberellin-like material from a seed plant. Proc.Natl.Acad.Sci.U.S., 43, 960-964.

107. LARSEN, P. /1951/. Formation, occurrence and inactivation of growth substances. *Ann.Rev.Plant Physiol.*, 2, 169-198.
108. LARSEN, P. /1955 a/. Growth Substances in Higher Plants. - *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*. K.Paech und H.V.Tracey. bd.III. Springer Verl. Berlin. 565-625.
109. LARSEN, P. /1955 b/. On the separation of acidic and non-acidic auxins. *Physiol.Plant.*, 8, 343-357.
110. LEJSLE, P.F. /1950/. Wljanje swietowowo i temperaturunowo faktora na rascielecje rastienji i ich izmianowost w swietle stadijnowo razwitja. *Soob.I. Eksp.Bot.* 7, 59-71.
111. LEOPOLD, A.C. /1955/. Auxins and plant growth Univ.of Calif. Press Berkeley and Los Angeles.
112. LEOPOLD, A.C. and GUARNSEY, F.C. /1953 a/. Modification of floral initiation with auxins and temperatures. *Amer.Jour.Bot.*, 40, 603-607.
113. LEOPOLD, A.C. and GUARNSEY, F.C. /1953 b/. Interaction of auxin and temperatures in floral initiation. *Science*, 118, 215-217.
114. LEOPOLD, A.C. and GUARNSEY, F.C. /1953 c/. Flower initiation in Alaska pea. I.Evidence as to the role of auxin. *Amer.Jour.Bot.*, 40, 46-50.
115. LEOPOLD, A.C. and THIMANN, K.V. /1949/. The effect of auxin on flower initiation. *Amer.Jour.Bot.*, 36, 342-347.
116. LINCOLN, R.G. and HAMNER, K.C. /1958/. An effect of gibberellic acid on the flowering of *Xanthium* a short-day plant. *Plant Physiol*, 33, 101-104.

117. LINDSTROM, R.S. and WITWER, S.H. /1958/. Gibberellin and plants. IX. Flowering in geranium. Quart. Bull. Mich. Agric. Exp. Stat., 40, 225-231.
118. LINSER, H. und KIERMAYER, O. /1957/. Methoden zur Bestimmung pflanzlicher Wachstoffs. Springer Verl. Wien.
119. LINSER, H., MAYR, H. und MASCHEK, F. /1954/. Papierchromatographie von Zellstreckung wirksamen Indolkörpern aus Brassica-arten. Planta, 44, 103-120.
120. LIVERMAN, J.L. /1952/. The physiology and biochemistry of flowering Doct. thesis Calif. Inst. of Technology - wg. Salisbury F.B. Plant Physiol., 30, 327-334. 1955.
121. LIVERMAN, J.L. /1955/. The physiology of flowering. Ann. Rev. Plant Physiol., 6, 177-205.
122. LIVERMAN, J.L. and BONNER, J. /1953/. The interaction of auxin and light in the growth responses of plants. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S., 39, 905-916.
123. LIVERMAN, J.L. and LANG, A. /1952/. Flowering on long-day plants as a result of auxin treatment. Abstr. Amer. Soc. Plant Physiol. Ann. Meeting, Ithaca-New York.
124. LOCKHART, J. and HANNER, K. /1954/. Partial reaction in the formation of the floral stimulus in Xanthium. Plant Physiol., 29, 509-513.
125. LONA, P. /1956/. L'azione dell'acido gibberellico sull'accrescimento caulinare di talune piante erbacee in condizioni esterne controllate. Nuovo giorn. botan. ital., 63, 61-76. Ref. Zurnal. Bioł., 4, 15222, 1958.

126. LUBIMIENKO, W.W. i SZCZEGŁOWA, O.A. /1927/. O fotoperiodycznej adaptacji roślin. Żurnal Russ. Bot. Obczestwa, 12, 1-2.
127. LUBIMIENKO, W.W., SZCZEGŁOWA, O.A. /1931/. O fotoperiodycznej indukcji w procesie rozwoju roślin. Izw. Bot. Sada. Akad. Nauk SSSR., 30, 1-52.
128. LUCKWILL, L.C. /1952/. Application of paper chromatography to the separation and identification of auxins and growth-inhibitors. Nature, 169, 375-376.
129. LUCKWILL, L.C. and POWELL, L.E. Jr. /1956/. Absence of indoleacetic acid in the apple. Science, 123, 225.
130. MADAN, C.L. /1956/. Die Verteilung der freien Aminosäuren in der Pflanze und ihre Beeinflussung durch photoperiodische Induction. /Untersuchungen an Kalanchoë Blossfeldiana/. Planta, 47, 53-80.
131. MAKSIMOW, M.A. /1930/. Wlijanije dliny dnia na razwitiye roślin /fotoperiodizm/. Priroda. 41-48.
132. MARTH, P.C., AUDIA, W.V. and MITCHELL, J.W. /1956/. Effects of gibberellic acid on growth and development of plants of various genera and species. Bot. Gaz., 118, 106-111.
133. MAYR, H. /1956/. Zur Photolyse von Indol-3-Essigsäure bei papierchromatographischen Arbeiten. Planta, 46, 512-515.
134. MEIJER, G. /1958/. The influence of light quality on the photoperiodic response of *Salvia occidentalis*. Acta Bot. Neerl., 7, 801-806.
135. MELCHERS, G. /1939/. Die Blühormone. Ber. deut. botan. Ges. 57, 29-48.

136. MELCHERS, G. und LANG, A. /1941/. Weitere Untersuchungen zur Frage der Blühormone. Biol.Zentrbl., 61, 16-39.
137. MELCHERS, G. und LANG, A. /1942/. Die Physiologie der Blütenbildung. Biol.Zentrbl., 67, 105-174.
138. MELCHIOR, H.G. /1957/. Über den Abbau von Indolderivaten. I. Photolyse durch Ultraviolettes Licht. Planta, 50, 262-290.
139. METZNER, H. /1955/. Veränderungen der Blattproteine bei photoperiodischer Induction. Planta, 45, 493-534.
140. MICHALSKI, L. /1958/. Próba chromatograficznej i biologicznej analizy regulatorów wzrostu w ekstraktach z pyłku leszczyny /Corylus avellana L./. Acta Soc. Bot.Pol. 27, 75-82.
141. MICHALSKI, L. /1960/. Zmiany zawartości regulatorów wzrostu roślin w organach generatywnych żubinu żółtego w różnych fazach ich rozwoju. Zeszyty Nauk.UMK., IV, 6, 73-81.
142. MICHALSKI, L., CHROMINSKI, A. /1960/. Bioautograficzna analiza regulatorów wzrostu w kielkującym pyłku leszczyny /Corylus avellana L./. Zeszyty Nauk.UMK., IV, 6, 65-71.
143. MICHNIEWICZ, M. /1957/. Czy istnieją hormony kwitnienia? Wied.Bot., 1, 175-186.
144. MICHNIEWICZ, M., MICHALSKI, L. /1960/. Zmiany zawartości regulatorów wzrostu roślin w liściach i organach reprodukcyjnych rzodkiewki /Raphanus sativus L./ w różnych fazach jej rozwoju. Acta Agrobot., 9, 99-111.

145. MIMAUT, J. /1956/. Mise en évidence et variation d'activité d'auxines et de substances inhibitrices de croissance dans les extraits de graines de quelques variétés de fruits. Jour.rech.Centr.Nat.Rech.Scient 37, 339-347.
146. MOEWUS, F. /1949/. Gebundener und freier Wuchstoff in fleischigen Früchten. Planta, 37, 413-420.
147. MOSZKOW, B.S. /1936/. O roli listiew w fotoperiodycznej reakcji rośnięcia. Socjal. rośniewod., 17, 25-30.
148. MOSZKOW, B.S. /1937/. Fotoperiodizm i hipoteza o hormonach cwieta. DAN.SSSR., 15, 211-214.
149. MOSZKOW, B.S. /1939/. O minimalnych etriożkach swieta i tiemnoty wiziwajuszczich cwieta i tiemnoty rośniewod. DAN.SSSR., 22, 7-12.
150. MOSZKOW, B.S. /1950/. Znaczenije oddzielnych uczastkow spiekttra fizjologicznej obłasti izkuczenija dla rosta i rozwitija niekotorych rośniewod. DAN.SSSR., 71, 18-22.
151. MOSZKOW, B.S. /1952/. Fizjologiczna natura fotoperiodycznej reakcji liścia. /tłum./ Problemy rozwoju stadialnego roślin. - Postępy Wiedzy Roln., 5, 97-143. PWRiL. W-wa.
152. MURNEEK, A.E. /1948/. History of research in photoperiodism. Lotsya, 1, 39-61.
153. NAYLOR, A.W. /1950/. Some effects of growth substances on floral initiation and development in *Xanthium*. Amer.Jour.Bot., 37, 681-683.

154. NEELY, P.M. and PHINNEY, B.O. /1957/. The use of mutant dwarf 1 of maize as a quantitative bioassay for gibberellin activity. *Plant Physiol.*, 32, suppl. xxxi.
155. NEVINS, R.B. and NEMPHILL, D.O. /1956/. Auxin in flower buds of the Peach. *Plant Physiol.*, 31, suppl. xxviii.
156. NITSCH, J.P. /1956/. Methods for the investigation of natural auxins and growth inhibitors. - *The Chemistry and Mode of Action of Plant Growth Substances*. R.L. Wain and P. Wightman. Butterworths Sci. Publ. London. 3-31.
157. NITSCH, J.P. and NITSCH, C. /1955/. The separation of natural plant growth substances by paper chromatography. *Beitr. Biol. Pfl.*, 31, 387-408.
158. NITSCH, J.P. and NITSCH, C. /1956 a/. Separation chromatographique des auxines de l'ovule fécondé de haricot à différents stades de son développement. *Bull. Soc. Bot. France.*, 102, 528-532.
159. NITSCH, J.P. and NITSCH, C. /1956 b/. Studies the growth of coleoptile and first internode sections. A new, sensitive, straight-growth test for auxins. *Plant Physiol.*, 31, 94-111.
160. NUERNBERGK, E.L. /1959/. Die Technik der Kunstlichtbeleuchtung. *Angew. Bot.*, 33, 71-92.
161. OVERBEEK, van J. /1946/. Control of flower formation and fruit size in pineapple. *Bot. Gaz.*, 108, 64-73.
162. OVERBEEK, van J., VAZGNER, E.S.de, and GORDON, S.A. /1947/. Free and bound auxin in the vegetative pineapple plant. *Amer. Jour. Bot.*, 34, 266-270.

163. PARKER, M.W. and BORTHWICK, H.A. /1943/. Influence of temperature on photoperiodic reactions in leaf blades of *Biliexi* soybean. *Bot.Gaz.*, 104, 612-619.
164. PARKER, M.W., HENDRICKS, S.B., BORTHWICK, H.A. and SCULLY, N.J. /1946/. Action spectrum for the photoperiodic control of floral initiation of short-day plants. *Bot.Gaz.*, 108, 1-26.
165. PARKER, M.W., HENDRICKS, S.B., BORTHWICK, H.A. and WENT, F.W. /1949/. Spectral sensitivities for leaf and stem growth of etiolated pea seedlings and their similarity to action spectra for photoperiodism. *Amer.Jour.Bot.*, 36, 194-204.
166. POST, K. /1934/. Temperature as a factor in bud differentiation and flowering of plants /*Matthiola incana*/. *Proc.Amer.Soc.Hort.Sci.*, 32, 631-638.
167. RAADTS, E. und SÖDING, H. /1957/. Chromatographische Untersuchungen über die Wuchsstoff der Haferkoleoptilen. *Planta*, 49, 47-60.
168. RAZUMOW, W.I. /1933/. Znaczenije kaczestwiennogo sostawa swieta w fotoperiodiczeskoj reakcii. *Trudy po prikladnoj.bot.*, ser.III. 3, 217-251.
169. RAZUMOW, W.I. /1960/. Uskorienie cwietienije rastienij krotkowo dnia pri obrabotkie ich gibberellinom. *Fizj.Rast.*, 7, 354-357.
170. REINERT, J. /1954/. Wachstum und Bewegung. *Fortschr.Bot.*, 16, 230-345.
171. RESENDE, F. /1949/. Auxin and antiauxin, the hormones responsible for the change of the vegetative into floral phenotypes. *Boll.Soc.Port.Cienc.Nat.*, ser.II. 17, 174-188.

172. RIETSEMA, J. /1950/. On the influence of pH on the growth of *Avena coleoptile* sections. Proc.Kon.Need.Akad. Wetensch., 52, 1194-1204.
173. RITZEL, M.B. /1957/. The distribution and time of occurrence of gibberellin-like substances from flowering plants. Plant Physiol., 32, suppl.xxxi.
174. ROBERTS, R.H. /1951/. The induction of flowering with a plant extract. - Plant Growth Substances. Ed. Skeog P. Univ.Wisconsin Press. 347-350.
175. ROBERTS, R.H. and STRUCKMEYER, B.E. /1938/. The effect of temperature and other environmental factors upon the photoperiodic responses of some of the higher plants. Jour.Agr.Res., 56, 633-677.
176. RUGE, U. /1958/. Die lichtphysiologischen Grundlagen der Pflanzenbeleuchtung. Angew.Bot., 32, 207-220.
177. RYLKA, T. /1958 a/. Z zagadnień fizjologii kwitnienia. Wiad.Bot. 2, 193-209.
178. RYLKA, T. /1958 b/. Wpływ pory doby nasświetlania na efekt indukcji fotoperiodycznej u rośliny krótkiego dnia *Perilla ocimoides* L. Acta Soc.Bot.Pol., 27, 649-674.
179. RYLKA, T. /1959/. Rola skracania się lub wydłużania dnia przy indukcji fotoperiodycznej rośliny krótkiego dnia *Perilla ocimoides* L. Acta Soc.Bot.Pol., 28, 65-73.
180. RYLKA, T., WISŁOCKA, W. /1956/. Badania nad fotoperiodyzmem pachnotki /*Perilla ocimoides* L./. Acta Agrobot., 4, 13-43.
181. SAMYGIN, G.A. /1948 a/. Wlijanije sootnoszenija czisła czasow silnego i słabego swieta na rozwitija Rudbeckii. DAN SSSR., 60, 942-949.
182. SAMYGIN, G.A. /1948 b/. O dziejstwie silnego i słabowo swieta

dawajomowo od ili posle teiesnogo pierioda na razwitije pierikky i rudbeckii. DAN SSSR., 60. 1110-1114.

183. SAMYGIN, G.A. /1948 c/. Znaczenije intensiwnosti swieta pri niebłogoprijatnych dla rozwitija rudbeckii i pierikky fotopieriodach. DAN SSSR., 60, 1433-1436.
184. SCHAW, M.D., SAMBORSKI, J., and OAKS, A. /1958/. Some effects of indoleacetic acid and maleic hydrazide on the respiration and flowering of wheat. *Canad. Jour. Bot.*, 36, 233-237.
185. SCHICK, R. /1932/. Photoperiodismus. /Sammelreferat/. *Der Züchter.*, 4, 284-292.
186. SCHNEIDER, G. und SPARMANN, G. /1955/. Über ein verfahren zur Durchführung der Papier-Hochspannungselektrophorese ohne Kühlung. *Naturwissenschaften*, 42, 156.
187. SEN, S.P. /1959/. Wachstumregulatoren und verwandte Stoffe. - Papierchromatographie in der Botanik. H.F. Linskens. II Auf. Springer Verl. Berlin/Göttingen. 248-281.
188. SEN, S.P. and LEOPOLD, A.C. /1954/. Paper chromatography of plant growth regulators and allied compounds. *Physiol. Plant.* 7, 98-108.
189. SIEGEL, S.M. and GALSTON, A.W. /1953/. Experimental coupling of indoleacetic acid to pea root protein in vivo and in vitro. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.*, 39, 1111-1118.
190. SIVORI, E. and WENT, F.W. /1944/. Photoperiodicity of *Baeria chrysostoma*. *Bot. Gaz.*, 105, 321-329.
191. SKOOG, F. and THIMANN, K.V. /1940/. Enzymatic liberation of auxin from plant tissues. *Science*, 92, 64.
192. SÖDING, H. /1952/. Die Wuchsstofflehre. G.Thieme Verl. Stuttgart.

193. STEEVES, F.A., MOREL, G. and WETMORE, R.H. /1953/. A technique for preventing inactivation at the cut surface in auxin diffusion studies. Amer. Jour. Bot., 40, 534-538.
194. STEINBERG, R.A. and GARNER, W.W. /1936/. Responses of certain plants to length of day and temperature under controlled conditions. Jour. Agr. Res., 52, 943-960.
195. STOWE, B.B. and THIMANN, K.V. /1954/. The paper chromatography of indole compounds and some indole-containing of plant tissues. Arch. Biochem. Biophys., 51, 499-516.
196. STOWE, B.B., THIMANN, K.V. and KEFFORD, N.P. /1956/. Further studies of some plant indoles and auxins by paper chromatography. Plant Physiol., 31, 162-165.
197. STOLWIJK, J.A. /1954/. Wavelength dependence of photomorphogenesis in plants. Diss. Wageningen. - Licht und Pflanzen, van der Veen and G. Meijer, Philips' Techn. Bibl. /1958/.
198. STOLWIJK, J.A. and ZEEWART, J.A. /1955/. Wave length dependence of different light reaction governing flowering in *Nyctagynon niger*. Proc. Koninkl. Ned. Akad. Wetenschap., 58, 368-396.
199. STREBEJKO, P. /1956/. Woda i światło w życiu rośliny. PWN. W-wa.
200. STRUCKMEYER, B.G. /1950/. Biology of flowering in plants. Sci. Monthly, 70, 262-267.
201. SZCZEPOTIEW, F.B. /1950/. Wlijanije rozlicznych uczastkow spektra solnecznego oswieszczenija na rost i rozwitije gledirii. /*Gleditschia tricanthos* L./. DAN SSSR, 73, 2-7.

202. TANG, J.W. and BONNER, J. /1947/. The enzymatic inactivation of indoleacetic acid. I. Some characteristics of the enzyme contained in pea seedlings. Arch.Biochem.Biophys., 13, 11-25.
203. TEUBNER, F.G. /1953/. Identification of the auxin present in the apple endosperm. Science, 118, 418.
204. THIMANN, K.V. /1947/. Plant Hormones. The hormones /Pincus and Thiman/. New York, Academic Press Inc. 75-119.
205. THIMANN, K.V. and MAHADEVAN, S. /1958/. Enzymatic hydrolysis of indoleacetonitrile. Nature, 181, 1466-1467.
206. THIMANN, K.V. and SKOOG, F. /1940/. The extraction of auxin from plant tissues. Amer.Jour.Bot., 27, 951-960.
207. THIMANN, K.V., SKOOG, F. and DYER, A.C. /1942/. The extraction of auxin from plant tissues. II. Amer.Jour.Bot., 29, 598-606.
208. THOMPSON, H.C. /1933/. Temperature as a factor affecting flowering of plants. Proc.Soc.Hort.Sci., 30, 440-446.
209. TUMANOW, I.I. /1947/. Razwitiye issledowanij po fotoperiodizmie rastienij i ich sawriemiennoje sostojanije. Trudy Inst.Fizjoł.Rast.Timiriazewa., 5, 2-16.
210. ULBRICH, H. /1939/. Photoperiodismus und Blühormone. Ber. Deut.Bot.Ges. - Generalversammlungen - 57, 40-52.
211. VEEN, R. van der und MEIJER, G. /1958/. Licht und Pflanzen. Philips' Technische Bibliothek.
212. VEGIS, A. /1953/. The significance of temperature and the daily light-dark-period in the formation of rest buds. Experientia, 9, 462-463.
213. VLIPOS, A.J. and BRUDT, W. /1954/. The role of auxin in plant flowering. III. Free indole acids in short-day plant grown under photoinductive and nonphotoinductive day lengths. Contr. Boyce Thompson Inst., 17, 413-417.

214. WAGENKNECHT, A.C. and BURRIS, R.H. /1950/. Indoleacetic acid inactivating enzymes from bean roots and pea seedlings. Arch.Biochem.Biophys., 25, 30-53.
215. WASSINK, E.C., SLUIJSMANS, C.N.J. and STOLWIJK, A.J./1950/. On some photoperiodic and formative effects of coloured light in Brassica rapa. F.oleifera, subf. annua. Koninkl. Ned.Akad.Weteschap.Proc., 53, 1466-1475.
216. WASSINK, E.C. and STOLWIJK, J.A. /1956/. Effects of light quality on plant growth. Ann.Rev.Plant Physiol., 7, 373-400.
217. WALLENSIEK, S.J. /1952/. Photoperiodism and temperature in Perilla. Proc.Koninkl.Ned.Akad.Wetenschap., 55, 701-707.
218. WENT, F.W. /1928/. Wuchsstoff und Wachstum. Rec.Trav.Bot. Neerl. 25, 1-116.
219. WENT, F.W. /1938/. Specific factors other than auxin affecting growth and root formation. Plant Physiol., 13, 55-80.
220. WENT, F.W. /1945/. Plant growth under controlled conditions. V.Relation between age, light, variety and thermo-periodicity of tomatoes. Amer.Jour.Bot., 31, 597-618.
221. WENT, F.W. and THIMANN, K.V. /1937/. Phytohormones. Macmillian Comp. New York.
222. WEST, C.A. and PHINNEY, B.O. /1956/. Properties of gibberellin-like factors from extracts of higher plants. Plant Physiol, 31, suppl.xx.

223. WEST, C.A. and PHINNEY, B.O. /1957/. Purification and properties of gibberellic-like substances from flowering plants. *Plant Physiol.*, 32, suppl. xxxii.
224. WILDMAN, S.G. and BONNER, J. /1947/. The proteins of green leaves. I. Isolation enzymatic properties and auxin content of spinach cytoplasmic proteins. *Arch.Biochem.Biophys.*, 14, 381-413.
225. WILDMAN, S.G. and GORDON, S.A. /1942/. The release of auxin from isolated leaf proteins of spinach by enzymes. *Proc.Nat.Akad.Sci.U.S.*, 28, 217-228.
226. WITHROW, R.B. and BENEDICT, H.M. /1936 a/. Photoperiodic responses of certain greenhouse annuals as influenced by intensity and wave length of artificial light used to lengthen the daylight period. *Plant Physiol.*, 11, 225-249.
227. WITHROW, R.B. and BIEBEL, J.P. /1936 b/. Photoperiodic response of certain long - and short-day plants to filtered radiation applied as a supplement to daylight. *Plant Physiol.*, 11, 807-819.
228. WITHROW, R.B. and WITHROW, A.P. /1940/. The effect of various wave bands of supplementary radiation on the photoperiodic response of certain plants. *Plant Physiol.*, 15, 609-624.
229. WITSCH, von H. /1941/. Über den Zusammenhang zwischen Membranbau, Wachstoffs Wirkung und der Sukkulenzannahme von *Kalanchoë Blossfeldiana* in Kurstag. *Planta*, 31, 638-652.

230. WITTWER, S.H. and BUKOWAC, M.J. /1957 a/. Gibberellin new chemical for crop production. Quart. Bull. Mich.Agric.Exp.Stat., 39, 469-494.
231. WITTWER, S.H. and BUKOWAC, M.J. /1957 b/. Gibberellin and higher plants. VIII. Seed treatment for beans, peas and sweet corn. Quart.Bull.Mich.Agric. Exp.Stat. 40, 215-224.
232. WITTWER, S.H., BUKOWAC, M.J., SELL, H.M. and WELLER, L.E. /1957 c/. Some effects of gibberellin on flowering and fruit setting. Plant Physiol., 32, 39-51.
233. WYCHERLEY, P.R. /1952/. Temperature and photoperiod in relation to flowering in three perennial grass species. Med. Landbonwhogescholl Wageningen., 52, 75-86.
234. YAMAKI, T. and NAKAMURA, K. /1952/. Formation of indoleacetic acid in maize embryo. Scient.Pap.Gen.Educ. Tokyo., 2, 81-98.
235. ZEKUW, D.de /1952/. A study into the literature on the application of artificial illumination in horticulture Med.Landbonwhogescholl Wageningen, 52, 129-166.

230. WITWER, S.H. and BURKOW, M.J. \1957\ a. Glucosylase and chemical for crop production. Amer. Bull. Agr. Exp. Sta., 32, 402-424.

231. WITWER, S.H. and BURKOW, M.J. \1957\ b. Glucosylase and higher plants. VII. Seed treatment for beans, peas and sweet corn. Amer. Bull. Agr. Exp. Sta., 32, 219-224.

232. WITWER, S.H., BURKOW, M.J., GILL, H.M. and WELLS, J.R. \1957\ a. Some effects of gibberellin on flowering and fruit setting. Plant Physiol., 32, 39-51.

233. WITWER, S.H. \1957\ b. Temperature and photoperiod in relation to flowering in three perennial grass species. Med. Landbouwhogesch. Wageningen, 32, 73-88.

234. YAMAKI, T. and HAKAMURA, K. \1957\ c. Formation of indole-3-acetic acid in maize embryo. Bot. Mag. Tokyo, 2, 31-38.

235. ZHANG, D. de \1957\ d. A study into the literature on the action of artificial illumination in horticulture. Med. Landbouwhogesch. Wageningen, 32, 159-166.

