

ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE - SKŁODOWSKA
LUBLIN—POLONIA

VOL. XXIV, 26

SECTIO C

1969

Z Katedry Fizjologii Roślin Wydziału Rolniczego WSR w Lublinie
Kierownik: doc. dr Zofia Uziak

Eugeniusz GAWROŃSKI

**Wpływ kwasu huminowego (KH) na kiełkowanie światłoczułych nasion
sałaty. Część I. Przebieg kiełkowania w zależności od stężenia KH, czasu
nasywania i naświetlania, pH środowiska oraz działania kinetyny i kwasu
giberelowego (GA₃)**

Влияние гуминовой кислоты (ГК) на прорастание светочувствительных семян салата. Часть I. Ход прорастания в зависимости от концентрации ГК, времени насыщения и облучения, pH среды, а также от действия кинетина и гибберелиновой кислоты (гиббереллин А₃)

The Influence of Humic Acid (HA) on Germination of Photosensitive Lettuce Seeds. Part I. The Course of Germination in Dependence on HA Concentration, Time of Soaking and Irradiation, Environment pH, and the Action of Kinetin and Gibberellic Acid (GA₃)

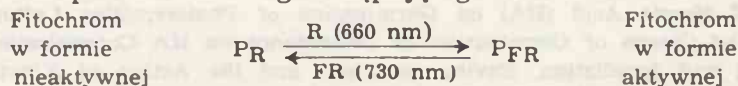
WSTĘP

Badania procesów fizjologicznych, zachodzących podczas kiełkowania nasion poddawanych działaniu różnych czynników natury chemicznej czy fizycznej, jest ważne ze względów teoretycznych i praktycznych. Również duże znaczenie ma poznanie mechanizmu kiełkowania w zależności od naturalnych czynników środowiska i wewnętrznych właściwości nasion. Jednak dla praktyki rolniczej najistotniejsze wydaje się przede wszystkim poznanie tych właściwości fizjologicznych procesu kiełkowania, które decydują o przydatności użytkowej nasion do reprodukcji i konsumpcji.

Niewątpliwie jednym z czynników chemicznych, działających na rośliny w ciągu całego okresu ich wegetacji są związki próchniczne, występujące niemal w każdym środowisku naturalnym. Zapoczątkowane przez Gumińską (13) badania nad wpływem związków humusowych na procesy kiełkowania nasion nie doprowadziły do jednoznacznych wy-

ników. W rezultacie tych badań stwierdzono, że humiany niejednakowo przyspieszały kiełkowanie nasion różnych gatunków roślin, a poza tym polepszały kiełkowanie nasion o częściowo osłabionej żywotności na skutek długotrwałego przechowywania i utrudnionego dostępu tlenu. Podczas kiełkowania nasion wyjałowionych antybiotykami lub chloraminą stymulujący wpływ humianu zanikał (14). Fakt ten interpretowano w ten sposób, że dodatnie działanie humianu na kiełkowanie ma charakter pośredni, poprzez wpływ na mikroorganizmy zasiedlające nasiona. Wyniki tych badań nie pozwoliły jednak wyjaśnić istoty stwierdzonych zależności. Jak można sądzić z przytoczonych danych, mechanizm działania związków humusowych na skomplikowane procesy kiełkowania jest mało udowodniony. Nie wiadomo na przykład, w jakiej fazie kiełkowania wpływ humianów jest istotny, decydujący o późniejszych efektach fizjologicznych.

Jednym z ważniejszych osiągnięć badań w zakresie fizjologii kiełkowania, uzyskanych w ostatnich latach, było stwierdzenie, że światło czerwone (R) i daleka czerwień (FR) odwracalnie regulują kiełkowanie fotoblastycznych nasion sałaty odmiany Grand Rapids (4, 6, 7, 16). Przerwanie spoczynku czerwonym światłem i rozpoczęcie procesu kiełkowania tych nasion jest bezpośrednio związane z fotokonwersją dwóch form pigmentu — fitochromu. Fotokonwersja układu fitochromu przebiega prawdopodobnie według następującego schematu:



Stwierdzono, że forma aktywna fitochromu (P_{FR}), wytwarzana działaniem światła czerwonego przy maksimum długości fali 660 nm stymuluje kiełkowanie, zaś forma nieaktywna (P_R), wytwarzana wolno w całkowitej ciemności lub szybko przez indukowanie daleką czerwiecią przy długości fali 730 nm, hamuje kiełkowanie (3, 9, 20). Wyrazem współdziałania światła czerwonego i dalekiej czerwieni z układem fitochromu jest stymulacja albo inhibicja kiełkowania.

Ikuma i Thimann (20) podają następującą fizjologiczną charakterystykę przebiegu poszczególnych faz procesu kiełkowania indukowanego czerwiecią i kontrolowanego układem fitochromu u fotoblastycznych nasion sałaty Grand Rapids.

Pierwszą fazę, przedindukcyjną, zależną od temperatury oraz czasu i stopnia nasycania nasion wodą, charakteryzuje brak procesów oksydacyjnych. Faza ta trwa 1,5 godz. od rozpoczęcia imbibicji.

Druga faza, indukcyjna, wymaga fitochromu w formie zdolnej do absorpcji światła czerwonego. W fazie tej nieaktywna forma fitochromu P_R zmienia się pod wpływem czerwieni do formy aktywnej P_{FR} . Opty-

malny czas indukcji i rewersji przypada do 1,5 godz. po rozpoczęciu nasycania.

Trzecią fazę, poindukcyjną, tlenową, cechuje wrażliwość na temperaturę i niedobór tlenu. Zapoczątkowanie jej prawdopodobnie determinuje fotoindukcja przy udziale fizjologicznie aktywnej formy fitochromu P_{FR} . Czas trwania 9 godz. po rozpoczęciu nasycania.

Czwarta faza, kiełkowanie właściwe, czyli widoczne, wyraża się przebicciem okrywy nasiennej przez korzeń zarodkowy (radikulę). Od tej chwili rozpoczyna się wzrost indywidualny siewki.

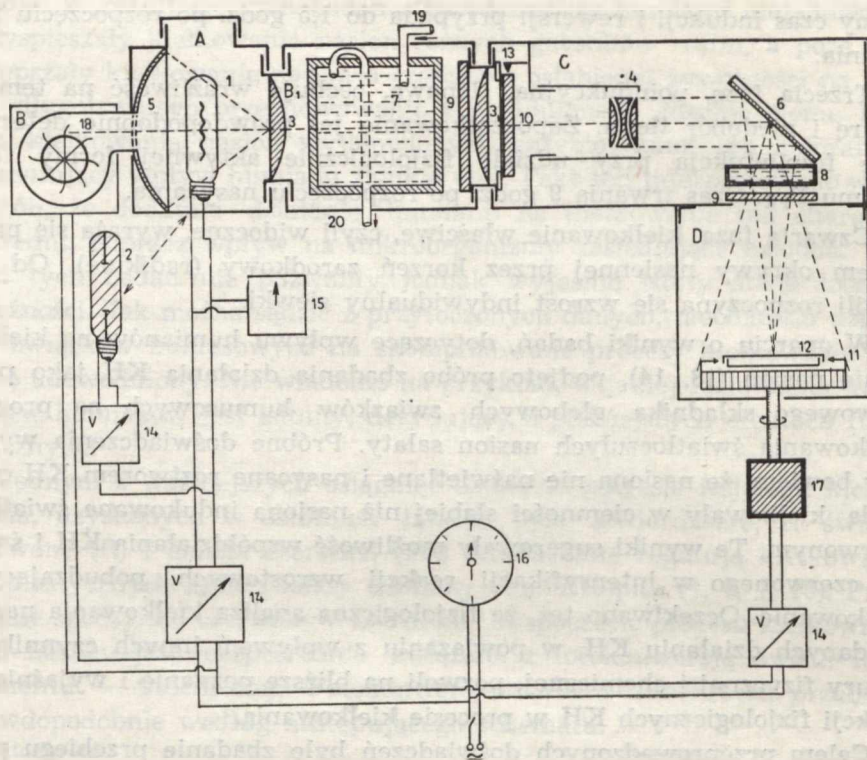
W oparciu o wyniki badań, dotyczące wpływu humianów na kiełkowanie nasion (13, 14), podjęto próbę zbadania działania KH jako podstawowego składnika glebowych związków humusowych na procesy kiełkowania światłoczułych nasion sałaty. Próbne doświadczenia wykazały bowiem, że nasiona nie naswietlane i nasycane roztworem KH oraz wodą kiełkowały w ciemności słabiej niż nasiona indukowane światłem czerwonym. Te wyniki sugerowały możliwość współdziałania KH i światła czerwonego w intensyfikacji reakcji wzrostowych, pobudzających kiełkowanie. Oczekiwano też, że fizjologiczna analiza kiełkowania nasion poddanych działaniu KH, w powiązaniu z wpływem innych czynników, natury fizycznej i chemicznej, pozwoli na bliższe poznanie i wyjaśnienie funkcji fizjologicznych KH w procesie kiełkowania.

Celem przeprowadzonych doświadczeń było zbadanie przebiegu procesu kiełkowania światłoczułych nasion sałaty poddanych działaniu kwasu huminowego (KH) w różnych, ściśle kontrolowanych warunkach środowiska zewnętrznego: w ciemności, przy świetle czerwonym, zmieniającym się pH , a także przy współdziałaniu z kinetyną i kwasem gibberelowym (GA_3).

MATERIAŁ I METODY

W próbnym doświadczeniu zbadano kiełkowanie 15 partii różnych odmian sałaty, w tym 9 partii odmian gruntowych i 6 partii odmian inspektowych (tab. 1). Właściwe badania wykonano na nasionach sałaty *Lactuca sativa* L., odmiany gruntowej AS 44, partii 145, ze zbioru 1964 r. Nasiona stale przechowywano w temp. $3^{\circ}C$ ($\pm 0,5^{\circ}C$). Przed siewem dokładnie je przebierano, okazy nietypowe odrzucano, tak aby pod względem wielkości i jakości stanowiły jednolity materiał siewny. Porcje nasion po 100 szt. przechowywano co najmniej 48 godz. przed siewem w lodówce, w temp. $3^{\circ}C$ ($\pm 0,5^{\circ}C$), w ciemnej, szczelnie zamkniętej flaszcze, owiniętej w ciemny papier, umieszczonej w eksykatorze nad chlorkiem wapnia.

Nasiona poddawano kiełkowaniu na płytkach Petriego o średnicy 10 cm. Do płytek wyścielonych dwiema warstwami bibuły Whatman 1, którą nasycano badanymi roztworami w ilości $4,5\text{ cm}^3$, wysiewano po 100 szt. nasion. Każdą serię doświadczenia powtarzano co najmniej 4-krotnie. Jako kryterium kiełkowania przyjęto pęknięcie okrywy nasiennej (18, 20).



Ryc. 1. Schemat budowy i działania monochromatora, składającego się z 5 segmentów, tworzących osobne kamery: A — kamera oświetleniowa z lampą projekcyjną 1000 W, 110 V (1), z lustrem parabolicznym (5) i z układem soczewek kondensora (3); B — kamera wentylacyjna z wiatrakiem (18) służącym do tłoczenia strumienia chłodnego powietrza, studzącego lampę; B₁ — kamera z chłodzącym filtrem wodnym w kształcie sześciangu o boku 10 cm (7), będącym zbiornikiem zbudowanym z przezroczystych płyt pleksiglasu, zaopatrzoną w kran doprowadzający (19) i odprowadzający (20) wodę; C — kamera z wbudowaną oprawką suwnicową (13) z filtrami interferencyjnymi (10) i układem optycznym, składającym się z zestawu soczewek projekcyjnych (4) oraz lustra płaskiego (6), zmieniającego kierunek wiązki światła z poziomego w pionowy; D — kamera mieszcząca naświetlany obiekt (12) i pulpit wirujący (11) o regulowanej prędkości obrotów, zasilany motorem (17); części uzupełniające: lampa rtęciowa (2) z dławikiem (14₁), filtry rozтворowe (8), filtry korekcyjne i uzupełniające (9), oprawka suwnicowa do filtrów interferencyjnych różnej średnicy (13), transformatory do prądu zmiennego z regulacją napięcia w zakresie 0—250 V (14); mierniki napięć prądu zasilającego lampę z automatycznym wyłącznikiem zegarowym (15, 16)

The scheme of construction of monochromator composed of 5 segments: A — cameras — safelight equipped with projection lamp 1000 W, 110 V (1), parabolic mirror (5), and condenser lens system (3); B — ventilation camera equipped with a ventilator (18) pressing a stream of cold air for chilling the lamp; B₁ — camera equipped with cooling aqueous filter in form of cube of 10 cm length (7), constructed from transparent metacrylate plastic and equipped with taps-bring to (19)

Do naświetlania nasion stosowano monochromator własnej konstrukcji, działający na zasadzie filtrów interferencyjnych. Przyrząd ten zbudowano wzorując się na schemacie podanym przez Withrowa (39). Monochromator wyposażony w lampę projekcyjną 1000 W, 110 V, dostarcza energii promienistej, monochromatycznej w zakresie dowolnych długości fal (od 5 nm do 25 nm), w zależności od filtru interferencyjnego. Schemat budowy monochromatora i jego działanie ilustruje ryc. 1.

Po upływie odpowiedniego czasu nasycania badanymi roztworami, nasiona naświetlano czerwienią (R), 664 nm, $3,4 \cdot 10^8$ erg/cm² · s⁻¹, lub daleką czerwienią (FR), 725 nm, $2,5 \cdot 10^8$ erg/cm² · s⁻¹. Stosowano filtry interferencyjne firmy Carl Zeiss Jena, według katalogu 1964 r. (22). Pomiar energii promienistej wykonano aktywnym metrem. W celu zapewnienia maksymalnego wysycenia nasion energią promienistą podczas naświetlania pokrywkę płytek zdejmowano. W tym czasie płytki z odpowiednimi próbkami nasion kontrolnych, pozostających w ciągłej ciemności, były również odkryte. Doświadczenia przeprowadzono w specjalnym pomieszczeniu, dostosowanym do badań w całkowitej ciemności. Wszelkie niezbędne czynności wykonywano w silnie przyćmionym, zielonym świetle, nie mającym wpływu na kiełkowanie.

Nasycanie i kiełkowanie nasion odbywało się w temp. 25°C, natomiast naświetlanie przy temp. 21° (± 0,5°C).

Metodę otrzymywania, oczyszczania i stosowania naturalnego preparatu KII opisano w poprzedniej pracy (11). Używano stężeń od 0,00003 do 0,3 mg/cm³.

Wpływ KH na kiełkowanie w zależności od pH środowiska (pH od 3,6 do 9) badano w buforze fosforanowym 1/30 M (23).

W celu porównania wpływu KH na kiełkowanie z regulatorami wzrostu zastosowano kinetynę (6-furfuryloaminopurynę) w stężeniu 0,032 mg/cm³ oraz kwas gibe-relowy (GA₃) w stężeniu 0,000032, 0,00032, 0,0032, 0,032 i 0,32 mg/cm³.

Do sporządzania wszystkich roztworów nasycających nasiona służyła woda podwójnie destylowana.

Wyniki liczbowe opracowano statystycznie (37).

WYNIKI I DYSKUSJA

Fotowrażliwość nasion różnych odmian sałaty. We wstępnych doświadczeniach poszukiwano światłoczułych nasion sałaty, nasycając je przez 5 godz. wodą w całkowitej ciemności, a następnie naświetlając w ciągu 3 min. czerwienią i pozostawiając do kiełkowania. Procent skiełkowanych nasion liczono po 29 godz. od rozpoczęcia nasy-

and drain off (20); C — camera with a fixed traveller holder (13) with interference filters (10) and optical system composed of projecting lamps (4), plane mirror (6); D — camera containing light upon the investigated object (12) with a rotating desk (11) having regulated rotary velocity, fed by motors. Supplementary parts: mercury lamp (2) with mercury arc lamp ballast (14) solution filters (8), correction and supplementary filters (9) traveller holder (13), variable transformers with a voltage regulation in a range 0—250 V (14), voltmeters with automatic time switch (15, 16).

cania. Okazało się, że krótkotrwałe działanie światła czerwonego stymulowało w różnym stopniu kiełkowanie nasion badanych odmian sałaty gruntowej (tab. 1). Najmniej wrażliwe na działanie światła były 2 odmiany: AS 44, partia 643 i Cud Vorburgu. Średnią wrażliwość wyka-

Tab. 1. Wpływ krótkotrwałego naświetlania czerwienią (R) na kiełkowanie nasion różnych odmian sałaty *
The influence of short red light (R) treatment on the germination of seeds of lettuce of different varieties *

Nasiona sałaty — Lettuce seeds			Powtórzenia Replicates	Kiełkowanie — Germination %	
Odmiana — Variety	Partia Lot	Zbiór Harvest		Ciemność Darkness	R
Odmiany gruntowe: Ground varieties:					
AS 44	145	1964	8	64,2 ± 0,252	97,3 ± 0,876
AS 44	643	1964	6	96,3 ± 0,730	97,3 ± 0,966
Cud Vorburgu	1062	1963	4	17,5 ± 0,796	23,3 ± 1,483
Dippe	401	1963	6	24,0 ± 1,586	34,0 ± 4,342
Meisterstück	430	1963	6	48,5 ± 2,089	59,9 ± 1,354
Nansena (zimowa - Winter)		1964	6	35,0 ± 2,309	57,5 ± 2,373
Nochowska	1062	1963	6	38,5 ± 2,811	51,3 ± 1,240
Rakowiecka	1987	1963	6	51,5 ± 2,041	80,6 ± 1,888
Stuttgarter Sommer		1963	6	39,5 ± 0,244	83,5 ± 1,722
Odmiany inspektowe: Hotbed varieties:					
Böttnera	306	1964	8	32,8 ± 3,591	67,8 ± 0,500
Brillant	1795	1963	6	70,5 ± 1,016	76,1 ± 1,197
Bronowicka	496	1963	6	63,3 ± 1,693	86,5 ± 1,538
Bronowicka	481	1964	6	67,1 ± 3,564	90,3 ± 0,639
Królowa majowych	495	1963	6	33,3 ± 2,408	32,0 ± 1,526
Vitessa Presto	1932	1963	6	28,8 ± 1,992	26,3 ± 1,844

* Kiełkowanie badano w r. 1965. Czas nasycania 5 godz. przed naświetlaniem. Naświetlanie 3 min. Procent skiełkowanych nasion liczono po 29 godz. od rozpoczęcia nasycania.

* Germination was investigated in 1965. Time of soaking — 5 hrs. before irradiation. Light treatment 3 min. The percentage of germinated seeds was determined 29 hrs following the beginning of soaking.

zywały 3 odmiany: Dippe, Meisterstück i Nochowska. Pozostałe odmiany: AS 44, partia 145, Stuttgarter Sommer, Rakowiecka i Nansena charakteryzowała najwyższa wrażliwość. Z odmian sałaty inspektowej nie reagowały na światło czerwone: Królowa Majowych i Vitessa Presto. Bardzo słabą wrażliwość wykazywała odmiana Brillant. Wysoce światło-

czule okazały się odmiany Böttnera i obie odmiany Bronowickiej. Warto dodać, że wśród tej samej odmiany różne partie nasion reagowały niejednakowo na działanie czerwieni. Jako przykład można przytoczyć odmianę AS 44 i Bronowicką. Zaznaczył się również wpływ wieku na zdolność kiełkowania nasion. Nasiona odmiany Bronowickiej ze zbioru 1963 r. miały słabszą zdolność kiełkowania niż młodsze o rok nasiona ze zbioru 1964 r., prawdopodobnie z powodu starzenia się. Jednakże nasiona starsze nie traciły całkowicie zdolności reagowania na światło czerwone. Podobne wyniki doświadczeń uzyskano z nasionami maku (12). Niejednakowa wrażliwość na światło czerwone nasion różnych odmian sałaty zależy od zdolności wytwarzania fizjologicznie aktywnej formy fitochromu P_{FR} , jej trwałości i poziomu w tkankach nasion (20). Wydaje się, że ten sposób tłumaczenia stymulacji kiełkowania pobudzanego czerwienią nie pozostaje w sprzeczności z danymi innych autorów (3, 20, 34).

Zależność kiełkowania od stężenia KH. 60 mg powietrznie suchego, sproszkowanego preparatu KH rozpuszczano w 100 cm³ 0,01 N NaOH. Alkaliczny roztwór KH odsalano na żywicach jonowymiennych (11). Odpowiednie stężenia KH otrzymywano przez rozcieńczenie wodą odsolonego roztworu. Do doświadczeń użyto sałaty grun-

Tab. 2. Wpływ stężenia KH na kiełkowanie nasion sałaty nie indukowanych i indukowanych światłem czerwonym (R) *
The influence of HA concentration on the germination of lettuce seeds uninduced and induced by red light (R) *

Roztwór Solution	Kiełkowanie — Germination %	
	Ciemność - Darkness	R 3 min.
Woda (kontrola) Water (control)	54,3 ± 0,803	74,2 ± 0,842
KH mg/cm ³		
0,00003	55,0 ± 0,557	75,8 ± 0,601
0,0003	58,7 ± 0,422	80,2 ± 0,543
0,003	66,0 ± 0,730	88,2 ± 0,654
0,01	69,8 ± 0,654	94,0 ± 0,755
0,03	72,7 ± 0,803	97,8 ± 0,402
0,09	70,5 ± 0,500(0,9)	98,7 ± 0,667(0,3)
0,15	67,5 ± 0,428(3,4)	89,7 ± 0,334(2,3)
0,3	66,7 ± 1,016(6,0)	87,8 ± 1,424(4,2)

* Naświetlanie po 5 godz. od rozpoczęcia nasycania. Liczenie skiełkowanych nasion po 29 godz. od rozpoczęcia nasycania. W nawiasach podano średni procent nietypowo kiełkujących nasion.

* Light treatment after 5 hrs from the beginning of soaking. Counting of germinated seeds after 29 hrs following the beginning of soaking. The mean percent of nontypical germination seeds is in brackets.

towej AS 44, partii 145. Wybór nasion tej odmiany podyktowany był znaczną jej wrażliwością na światło czerwone, wysoką energią kiełkowania i dobrą żywotnością, nie zmieniającą się w ciągu dłuższego okresu przechowywania.

W wyniku doświadczenia (tab. 2) stwierdzono, że wraz ze wzrostem stężenia KH, od 0,0003 do 0,03 mg/cm³, procent skielkowanych nasion nie indukowanych światłem stopniowo podwyższa się, zaś przy wyższych stężeniach KH (od 0,09 do 0,3 mg/cm³) — maleje. Dawka KH 0,03 mg/cm³ jest optymalna do uzyskania maksymalnej stymulacji kiełkowania.

Podobne zależności wykazują nasiona naświetlane czerwienią, z tą różnicą, że wartości procentowe skielkowanych nasion są znacznie wyższe od wartości prób kontrolnych nie indukowanych czerwienią. Na uwagę zasługuje fakt, że poziom stymulacji kiełkowania nasion pozostawionych w ciemności (72,7%), wywołany dawką optymalną KH, dorównuje niemal poziomowi kiełkowania nasion nasycanych wodą i naświetlanych czerwienią (74,2%). Skuteczność przyspieszania kiełkowania nasion sałaty nasycanych roztworem KH oraz poddawanych działaniu światła czerwonego, zależy od stężenia KH. Wyższe stężenia stopniowo obniżają procent nasion skielkowanych zarówno nie indukowanych, jak indukowanych światłem czerwonym. Ponadto przy wyższych stężeniach KH, począwszy od 0,09 mg/cm³, niektóre nasiona kiełkowały w sposób nietypowy, okrywę nasienną przebijały najpierw liścienie, a nie korzeń zarodkowy (radikula), natomiast wyższe hamują jego wzrost, lecz nie hamują wzrostu części podliścieniowej. Dlatego też pojawiły się formy nasion kiełkujących liścieniami i liczba ich wahała się przy stężeniu 0,09 mg/cm³ ok. 1%, a przy stężeniu 0,3 mg/cm³ ok. 6%. Nasiona indukowane czerwienią wykazywały niższy procent nietypowego kiełkowania, co może świadczyć, że KH współdziała ze światłem czerwonym w stymulowaniu wzrostu korzeni zarodkowych. Należy wspomnieć, że podobne anomalie w kiełkowaniu nasion sałaty w obecności kinetyny (1, 5 i 10 ppm) i gibbereliny (10 i 20 ppm) obserwowali I k u m a i T h i m a n n (18). Godny uwagi jest fakt, że wyższe stężenia KH w porównaniu z dawką optymalną wykazywały zahamowanie kiełkowania, jednak nie obniżały żywotności nasion, które pozostawione na dalsze 48 godz. w termostacie kiełkowały w ciemności niemal w 100%.

Kiełkowanie przy zmiennym pH. Stwierdzone przy wyższych stężeniach KH hamowanie kiełkowania nasunęło przypuszczenie, że przyczyny tego zjawiska należy szukać w odczynie środowiska. W związku z tym, w osobnym doświadczeniu prześlędzono przebieg kiełkowania w różnych zakresach pH buforu fosforanowego. W porównaniu z próbami nasion kontrolnych, kiełkujących w obecności wody i roztworu KH, bufor fosforanowy 1/30 M hamował kiełkowanie we wszyst-

kich badanych zakresach pH (tab. 3). Odczyn kwaśny (pH 3,6) słabiej hamował kiełkowanie niż odczyn zasadowy (pH 9). Najlepiej kiełkowały nasiona przy pH 6. Dodanie KH do buforu fosforanowego podwyższało procent kiełkowania nasion zależnie od pH środowiska, przy czym maksimum kiełkowania przy pH 6 nie zmieniło się. Indukcja nasion czer-

Tab. 3. Wpływ KH i odczynu buforu fosforanowego na kiełkowanie nasion sałaty indukowanych światłem czerwonym (R) *
The influence of HA and pH of phosphate buffer on the germination of lettuce seeds induced by red light (R) *

pH	Kiełkowanie — Germination %			
	W buforze fosforanowym In phosphate buffer		W buforze fosforanowym +KH In phosphate buffer +HA	
	Ciemność Darkness	R	Ciemność Darkness	R
3,6	30,3 ± 0,730	45,0 ± 2,595	44,7 ± 1,633	56,7 ± 0,441
5,0	48,0 ± 1,366	63,7 ± 1,825	55,8 ± 0,658	59,0 ± 1,527
6,0	52,0 ± 1,949	71,8 ± 2,702	65,8 ± 0,748	78,7 ± 0,683
7,0	46,5 ± 1,643	67,0 ± 2,239	60,7 ± 1,414	74,7 ± 1,000
8,0	24,5 ± 1,426	50,7 ± 1,236	53,3 ± 1,915	67,3 ± 1,897
9,0	19,0 ± 1,673	31,0 ± 1,000	28,3 ± 0,577	52,0 ± 3,178
Kiełkowanie nasion prób kontrolnych: Germination of control seeds:			Woda Water	Roztwór KH HA solution
Darkness Ciemność			68,8 ± 0,306	84,8 ± 0,750
R			87,9 ± 0,825	95,6 ± 1,674

* Bufor fosforanowy 1/30 M. Stężenie KH 0,04 mg/cm³. Naświetlanie 3 min. po 2,5 godz. nasycania. Liczenie skiełkowanych nasion po 30 godz. od rozpoczęcia nasycania.

* 1/30 M phosphate buffer, HA concentration 0.04 mg/cm³. Light treatment 3 min. after 2,5 hrs of soaking. Counting of germinated seeds after 30 hrs following the beginning of soaking.

wienią stymuluje kiełkowanie. W każdym z badanych zakresów pH stwierdzono współdziałanie krótkotrwałej indukcji czerwieni z KH w stymulowaniu kiełkowania. Nasiona nie traciły wrażliwości na indukcję światłem czerwonym.

Warto zaznaczyć, że do badania wpływu odczynu środowiska na kiełkowanie nasion używano 1/30 M buforu fosforanowego, ponieważ stosowanie wyższych stężeń jest niekorzystne dla tkanek roślin (23).

W obecności buforu fosforanowego obserwuje się hamowanie kiełkowania. Wydaje się prawdopodobne, że ten hamujący wpływ jest spowodowany podwyższonym ciśnieniem osmotycznym roztworu fosforanów, jeśli przyjmiemy, że inhibicja kiełkowania jest zjawiskiem natury osmotycznej. Podobne hamowanie kiełkowania w obecności podwyższonych stężeń substancji osmotycznie czynnych i częściowe jego znoszenie działaniem czerwieni obserwował Kahn (21). Osłabienie bowiem ujemnego wpływu na kiełkowanie w obecności buforu fosforanowego sugeruje możliwość regulowania przez KH przepuszczalności tkanek nasion i obniżania ciśnienia osmotycznego roztworu fosforanów.

Wpływ czasu nasycania. W celu znalezienia optymalnego czasu nasycania roztworem KH przed indukcją światłem czerwonym, niezbędego do uzyskania maksymalnej stymulacji kiełkowania, wykonano osobne doświadczenie (tab. 4). Stwierdzono, że nasycanie w ciągu 2,5 godz. okazało się najbardziej korzystne — uzyskano bowiem wówczas maksymalne kiełkowanie nasion. Wyniki potwierdziły ponadto dane poprzednich doświadczeń, że KH pobudza kiełkowanie w ciemności. W porównaniu z kontrolą wodną próby nasion nasycane roztworem KH i pod-

Tab. 4. Zależność kiełkowania nasion sałaty od czasu nasycania roztworem KH przed indukcją światłem czerwonym *

The dependence of lettuce seeds germination on the time of HA soaking before red light induction *

Czas nasycania nasion przed indukcją czerwienią godz. Time of soaking before red light induction in hrs	Kiełkowanie — Germination %	
	Woda — Water	KH — HA
0	57,7 ± 0,854	69,5 ± 0,288
0,5	59,5 ± 0,500	72,2 ± 0,629
1,0	64,0 ± 1,154	77,3 ± 0,854
2,5	78,0 ± 2,000	85,7 ± 0,480
5,0	67,2 ± 0,854	72,5 ± 0,500
7,5	60,7 ± 0,480	71,7 ± 0,251

* Stężenie KH 0,04 mg/cm³. Naświetlanie czerwienią 3 min. Procent skielkowanych nasion liczono po 24 godz. od rozpoczęcia nasycania.

* HA concentration 0.04 mg/cm³. Light treatment 3 min. The percentage of germinated seeds was counted 24 hrs following the beginning of soaking.

dawane działaniu światła czerwonego w wyższym procencie kiełkowały niż nasiona nie naświetlane.

Wpływ czasu naświetlania. Nasiona nasycano 2,5 godz. przed indukcją czerwienią. Stosowano stężenie KH 0,04 mg/cm³. Procent skielkowanych nasion liczono po 24 godz. od rozpoczęcia nasycania. Uży-

skane wyniki wskazują, że czas indukcji czerwienią wpływa na kiełkowanie (tab. 5). Naświetlanie w ciągu 0,5 min. jest niewystarczające dla pełnego nasycenia nasion energią promienistą. Naświetlanie czerwienią w ciągu 1 min. daje podobny procent kiełkowania jak stosowanie 2-, 3- i 5-minutowego naświetlania. Na tej podstawie w dalszych doświadczeniach przyjęto 1 min., jako czas naświetlania optymalny dla kiełkowania. Należy zwrócić uwagę, że w porównaniu z kontrolą wodną nasiona nasycane roztworem KH, zarówno nie indukowane jak indukowane czerwienią, kiełkują w wyższym procencie.

Tab. 5. Kiełkowanie nasion sałaty w zależności od czasu naświetlania czerwienią
The dependence of lettuce seeds germination on the time of red light treatment

Czas naświetlania czerwienią min. Time of red light in min.	Kiełkowanie — Germination %	
	Woda — Water	KH — HA
0	56,8 ± 0,751	66,3 ± 0,480
0,5	64,7 ± 0,751	76,2 ± 0,704
1,0	82,5 ± 0,645	93,2 ± 0,883
2,0	78,5 ± 0,645	93,3 ± 1,492
3,0	82,0 ± 1,230	91,5 ± 1,500
5,0	79,8 ± 0,854	93,0 ± 1,443

Wpływ okresowego naświetlania czerwienią i daleką czerwienią. Wielu autorów wykazało, że stymulowany czerwienią i hamowany daleką czerwienią proces kiełkowania fotowrażliwych nasion sałaty jest kontrolowany układem fitochromu (3, 5, 6, 19, 20, 24, 34, 38). Pozostało więc do wyjaśnienia, czy stwierdzone w poprzednich doświadczeniach współdziałanie KH ze światłem czerwonym w stymulowaniu kiełkowania jest determinowane interferencją KH z układem fitochromu. Dla sprawdzenia tej zależności przeprowadzono nowe serie doświadczenia. W tym celu nasiona najpierw nasycano w roztworze KH lub w wodzie w ciągu 2,5 godz., a następnie naświetlano czerwienią (1 min.) albo daleką czerwienią (3 min.). Osobne serie nasion indukowano czerwienią i natychmiast daleką czerwienią lub odwrotnie. Próby kontrolne nasion przetrzymywano stale w ciemności, albo działano ciągle światłem białym, czerwienią lub daleką czerwienią.

Otrzymane wyniki (tab. 6) świadczą, że efekt stymulującego działania roztworu KH i czerwieni na kiełkowanie nasion ulega rewersji pod wpływem dalekiej czerwieni. Wyklucza to zatem destrukcyjne działanie KH na aktywną formę fitochromu P_{FR}, bowiem hamowane daleką czerwienią

kiełkowanie po naświetleniu nasion czerwienią przebiega bez zakłóceń. Należy jednak podkreślić, że u nasion nasycanych roztworem KH daleka czerwien nie dokonuje pełnej rewersji efektu kiełkowania stymulowanego czerwienią do poziomu kiełkowania nasion kontrolnych, nasycanych wodą. Kwas huminowy więc, jak można sądzić, poza współdziałaniem ze światłem czerwonym, uczestniczy również w innych reakcjach, przyspieszających kiełkowanie.

Tab. 6. Porównanie stymulowanego czerwienią (R) i hamowanego daleką czerwienią (FR) kiełkowania nasion sałaty nasycanych wodą i roztworem KH *
The comparison of the germination of lettuce seeds soaked with water and HA, stimulated by red light (R) and inhibited by far-red (FR) *

Światło — Light	Kiełkowanie — Germination %	
	Woda — Water	KH — HA
O (ciemność — darkness)	58,5 ± 0,957	67,8 ± 0,645
R (1 min.) 3,4 · 10 ⁸ erg/cm ² · s ⁻¹	80,5 ± 0,645	92,0 ± 0,817
FR (3 min.) 2,5 · 10 ⁸ erg/cm ² · s ⁻¹	56,8 ± 0,854	60,0 ± 0,707
R+FR	54,5 ± 0,645	62,3 ± 0,480
FR+R	82,8 ± 1,260	94,7 ± 0,854
Ciągłe białe światło Continuous white light 2,75 · 10 ⁸ erg/cm ² · s ⁻¹	94,2 ± 0,251	95,2 ± 0,614
Ciągła czerwień Continuous red light 0,87 · 10 ² erg/cm ² · s ⁻¹	95,7 ± 3,464	94,0 ± 2,415
Ciągła daleka czerwień Continuous far-red 0,55 · 10 ² erg/cm ² · s ⁻¹	59,3 ± 1,778	74,7 ± 1,779

* Stężenie KH 0,04 mg/cm³. Procent skiełkowanych nasion liczono po 24 godz. od rozpoczęcia nasycania. Inne szczegóły doświadczenia podano w tekście.

* HA concentrations 0.04 mg/cm³. The percentage of germinated seeds was counted after 24 hrs following the beginning of soaking. Details in the text.

Porównanie kiełkowania w obecności KH, kinetyny i GA₃. Uzyskane w poprzednich doświadczeniach wyniki świadczą, że KH podwyższa wywołaną światłem czerwonym stymulację kiełkowania. Fakt ten sugeruje możliwość przynajmniej częściowego zastępowania przez KH światła czerwonego, pobudzającego procesy wzrostowe, prowadzące do kiełkowania. Z tych względów interesujące wydaje się przeanalizowanie i porównanie fizjologicznego działania KH na proces kiełkowania światłoczułych nasion sałaty z działaniem kinetyny i GA₃.

Bowiem kinetyna (15, 17, 28, 29) i GA_3 (15, 17) zastępują światło czerwone konieczne do inicjacji procesu kiełkowania fotoblastycznych nasion sałaty.

Uzyskane wyniki wykazują, że KH ($0,04 \text{ mg/cm}^3$) stymulował kiełkowanie nasion przetrzymywanych bez przerwy w ciemności i okresowo naświetlanych czerwienią w mniejszym stopniu niż kinetyna (tab. 7).

Tab. 7. Wpływ KH i kinetyny na kiełkowanie nasion sałaty stymulowane światłem czerwonym (R) i hamowane daleką czerwienią (FR) *

The influence of HA and kinetin on the lettuce seeds germination stimulated by red light (R) and inhibited by far-red (FR) *

Światło Light	Kiełkowanie — Germination %			
	Woda — Water	KH — H A	Kinetyna Kinetin	KH+kinetyna HA+kinetin
Ciemność Darkness	$59,5 \pm 0,707$	$70,2 \pm 0,251$	$83,5 \pm 0,577$	$87,5 \pm 0,408$
R	$76,8 \pm 0,751$	$82,0 \pm 2,000$	$95,5 \pm 2,101$	$96,5 \pm 0,645$
FR	$53,5 \pm 0,500$	$74,2 \pm 2,250$	$82,8 \pm 0,854$	$86,0 \pm 0,707$
R+FR	$62,5 \pm 1,919$	$80,8 \pm 2,136$	$85,5 \pm 0,486$	$88,3 \pm 1,426$
FR+R	$79,6 \pm 1,024$	$84,3 \pm 0,276$	$94,8 \pm 0,953$	$95,2 \pm 0,244$

* Stężenie KH $0,04 \text{ mg/cm}^3$, kinetyny $0,032 \text{ mg/cm}^3$. Czas nasycania 2,5 godz. przed naświetlaniem. Naświetlanie: R — 1 min., FR — 3 min. Działanie FR następowało natychmiast po R lub odwrotnie. Liczenie procentu skiełkowanych nasion po 24 godz. od rozpoczęcia nasycania.

* HA concentration $0,04 \text{ mg/cm}^3$. Kinetin concentration $0,032 \text{ mg/cm}^3$. Time of soaking — 2.5 hrs before irradiation. Light treatment: R — 1 min., FR — 3 min. FR treatment immediately after R irradiation, or inversely. Counting of germinated seeds after 24 hrs following the beginning of soaking.

Najlepsze efekty kiełkowania wykazywały nasiona nasycane mieszaniną KH i kinetyny. W przypadku poddawania ich działaniu dalekiej czerwieni obserwowano słabsze hamowanie kiełkowania. Brak pełnej rewersji można tłumaczyć tym, że uprzednie działanie stymulujące światła czerwonego jest nieodwracalne. Podobne zjawisko „ucieczki” przed hamującym kiełkowanie działaniem dalekiej czerwieni obserwowali u nasion sałaty I k u m a i T h i m a n n (20). Warto dodać, że kinetyna wykazuje właściwości uwadniające protoplast (27). Działanie więc KH i kinetyny na przyspieszenie kiełkowania tym bardziej wzrasta, że obie te substancje wpływają korzystnie na przepuszczalność komórek i tkanek nasion, a przez to naświetlenie czerwienią jest efektywniejsze.

Wielu autorów przytacza obserwacje i wyniki badań, które wykazują wzmoczenie wzrostu korzeni (35), podziałów komórkowych oraz biosyntezy

chlorofilu i białka, a także poprawę stosunków wodnych u roślin poddawanych działaniu związków humusowych (10, 31, 32, 33, 36). Ponieważ podobne właściwości wykazuje również kinetyna (26, 30), stąd wynika zbieżność w fizjologicznym działaniu na rośliny tych substancji. Nie jest wykluczone, że pozostaje to w związku z obecnością w KH zasad purynowych (1, 2).

W przeprowadzonym doświadczeniu, w którym stosowano stężenia GA_3 0,05 mg/cm³, nastąpiło całkowite zahamowanie kiełkowania. Było to sprzeczne z danymi I k u m y i T h i m a n n a (18), którzy wykazali, że GA_3 stymuluje kiełkowanie nasion w stężeniu 100 ppm. Wobec tego

Tab. 8. Wpływ KH i różnych stężeń GA_3 na kiełkowanie nasion sałaty indukowanych czerwienią (R) *

The influence of HA and different concentrations of GA_3 on the lettuce seeds germination induced by red light (R) *

Roztwór — Solution	Kiełkowanie Germination %		Różnica Difference
	Ciemność Darkness	R	
H ₂ O (kontrola — control)	58,3	82,5	41,5
KH — HA 0,04 mg/cm ³	70,0	89,5	27,9
GA_3			
I — 0,32 mg/cm ³	0	0	0
II — 0,032 mg/cm ³	0	0	0
III — 0,0032 mg/cm ³	19,5 (8)	37,5 (12)	87,2
IV — 0,00032 mg/cm ³	61,2 (14)	75,4 (10)	23,2
KH+ I — HA+ I	0	0	0
KH+ II — HA+ II	13,4 (9)	37,6 (20)	180,6
KH+III — HA+III	70,0 (17)	82,0 (16)	17,1
KH+IV — HA+IV	75,0	86,0	14,7

* Naświetlanie: R — 3 min. po 2,5 godz. nasycania. Procent skielkowanych nasion liczono po 24 godz. od rozpoczęcia nasycania. Liczby w nawiasach oznaczają nietypowe kiełkowanie.

* Light treatment: R — 3 min. after 2.5 hrs of soaking. The percentage of germinated seeds was counted after 24 hrs following the beginning of soaking. Figures in brackets represent atypical germination.

można przypuszczać, że nasiona badanej odmiany sałaty charakteryzuje wysoka wrażliwość na działanie kwasu gibberelowego. W następnym doświadczeniu stwierdzono, że nasiona nasycane roztworem GA_3 o stężeniu 0,32 i 0,032 mg/cm³ nie kiełkowały po 24 godz. od rozpoczęcia nasycania (tab. 8). W obecności stężenia 0,0032 mg/cm³ GA_3 nasiona kiełkują i wykazują silną reakcję na światło czerwone. Jednakże dopiero stężenie

0,00032 mg/cm³ GA₃ nie hamuje kiełkowania. Dodanie KH podwyższa tolerancję nasion na zwiększone stężenie GA₃ oraz wzmacnia efektywność czerwieni w stymulowaniu kiełkowania. Przy niższych stężeniach GA₃ wpływ ten wyraźnie słabnie. Warto dodać, że w obecności wyższych stężeń GA₃ wiele nasion wykazywało anomalie w kiełkowaniu, polegające na tym, że okrywę nasienną przebijały liścienie, a nie korzeń zarodkowy (radikula). Działanie GA₃ (0,0032 mg/cm³) silnie hamowało wzrost korzeni zarodkowych w końcowej fazie kiełkowania. Natomiast w obecności KH, hamujący wpływ GA₃ na wzrost korzeni zarodkowych był częściowo znoszony, ponieważ nasiona kiełkowały lepiej i nie wykazywały tak licznych anomalii. Wyniki doświadczenia wskazują, że KH, GA₃ i światło czerwone działają synergicznie na stymulowanie procesu kiełkowania nasion. Jeśli zatem KH i GA₃ działają niezależnie od światła czerwonego, to otrzymany efekt stymulacji kiełkowania kontrolowanego

Tab. 9. Wpływ KH i GA₃ na kiełkowanie nasion sałaty stymulowane światłem czerwonym (R) i hamowane dawką czerwieni (FR) *
The influence of HA and GA₃ on lettuce seeds germination stimulated by red light (R) and inhibited by far-red (FR) *

Światło Light	Kiełkowanie — Germination %			
	Woda — Water	KH — HA	GA ₃	KH + GA ₃ HA + GA ₃
Ciemność Darkness	55,2 ± 1,400	65,8 ± 1,471	76,5 ± 0,763	79,3 ± 0,854
R	76,3 ± 1,250	87,2 ± 1,031	84,3 ± 0,873	89,2 ± 1,436
FR	57,5 ± 0,646	70,0 ± 0,251	76,7 ± 0,854	87,0 ± 0,756
R + FR	59,8 ± 0,479	69,5 ± 0,500	78,7 ± 0,479	84,5 ± 0,646
FR + R	84,0 ± 0,912	89,0 ± 0,816	86,8 ± 0,629	92,2 ± 1,031

* Stężenie KH 0,04 mg/cm³, GA₃ 0,00032 mg/cm³. Czas nasycania 2,5 godz. przed naświetlaniem. Naświetlanie: R — 1 min., FR — 3 min. Działanie FR następowało natychmiast po R lub odwrotnie. Procent skielkowanych nasion liczono po 24 godz. od rozpoczęcia nasycania.

* HA concentration 0.04 mg/cm³, GA₃ 0.00032 mg/cm³. Time of soaking — 2.5 hrs before irradiation. Light treatment: R — 1 min., FR — 3 min. FR treatment immediately after R irradiation or inversely. The percentage of germinated seeds was counted after 24 hrs following the beginning of soaking.

układem fitochromu, a nie innym mechanizmem, powinien być znoszony dawką czerwieni.

Celem uzyskania potwierdzenia tego przypuszczenia stosowano GA₃ w stężeniu 0,00032 mg/cm³, przy zachowaniu pozostałych warunków kiełkowania nasion jak poprzednio. W porównaniu z kontrolą wodną nasiona

nasycane w całkowitej ciemności roztworami KH, GA₃ i KH+GA₃ wykazywały wyższy procent kiełkowania (tab. 9). Najlepiej kiełkowały nasiona nasycane mieszaniną roztworów KH+GA₃.

Światło czerwone stymulowało kiełkowanie wszystkich badanych serii nasion. Natomiast hamujące działanie dalekiej czerwieni na kiełkowanie nasion w obecności KH i GA₃ było osłabione. Również i w tym przypadku daleka czerwień nie odwracała efektu stymulacji kiełkowania wywołanego czerwiecią do poziomu prób kontrolnych, nasycanych wodą. Sumowanie się i nakładanie efektów kiełkowania uzyskanych działaniem KH i GA₃ potwierdza, jak się zdaje, wyrażone przypuszczenie, że substancje te działają synergicznie w regulowaniu reakcji wzrostowych inicjujących kiełkowanie.

Na podstawie uzyskanych pod wpływem KH, kinetyny i GA₃, różnych efektów kiełkowania można powiedzieć, że działanie tych substancji na proces kiełkowania nie jest identyczne. Powodowane przez GA₃ zahamowanie kiełkowania i jego częściowe znoszenie przez KH, jak się wydaje, może być tłumaczone istnieniem konkurencji KH z GA₃ o miejsce działania GA₃. Z kolei współdziałanie KH ze światłem czerwonym w stymulowaniu kiełkowania światłoczułych nasion sałaty dokonuje się prawdopodobnie pośrednio — poprzez układ fitochromu.

Otrzymane wyniki sugerują potrzebę kontynuacji dalszych badań, w celu wyjaśnienia zależności mechanizmu działania KH w różnych fazach kiełkowania od właściwości fizycznych i chemicznych preparatów KH oraz zmian warunków środowiska.

WNIOSKI

1. Skonstruowany monochromator jest przydatny do badań fotofizjologicznych w zakresie widma światła widzialnego.

2. Sądząc z efektów kiełkowania, niejednakowa wrażliwość na światło czerwone nasion rozmaitych odmian sałaty zależy od wytwarzania aktywnej formy fitochromu P_{FR}, jej trwałości i poziomu występowania w tkankach nasion.

3. Stwierdzono zależną od stężenia KH stymulację kiełkowania w ciemności nasion sałaty odmiany gruntowej AS 44 partii 145 nie indukowanych i indukowanych światłem czerwonym. Indukcja nasion światłem czerwonym podwyższała efekt kiełkowania przyspieszającego działaniem KH.

4. W różnych zakresach pH nasiona zachowują wrażliwość na indukcję czerwieni i działanie KH. Maksymalne kiełkowanie uzyskano przy pH 6. Odczyn alkaliczny silniej hamuje kiełkowanie niż odczyn kwaśny.

Stwierdzone hamowanie kiełkowania 1/30 M buforem fosforanowym prawdopodobnie jest natury osmotycznej. Hamowanie to jest częściowo znoszone przez KH i indukcję światłem czerwonym.

5. Stymulujące działanie czerwieni na kiełkowanie zależało od czasu nasycania i naświetlania nasion. Stwierdzono, że nasycanie w ciągu 2,5 godz. w ciemności, a następnie naświetlanie przez 1 min. czerwienią jest optymalne dla kiełkowania. Wyraźny wpływ KH na kiełkowanie światłoczułych nasion sałaty zaznaczył się po 24 godz. od rozpoczęcia nasycania.

6. Działanie KH podwyższa efekt stymulacji kiełkowania indukowanego czerwienią i osłabia hamowanie kiełkowania daleką czerwienią. W obecności KH daleka czerwień nie dokonuje pełnej rewersji efektu stymulacji kiełkowania indukowanego czerwienią.

7. Roztwory KH ($0,04 \text{ mg/cm}^3$), kinetyny ($0,032 \text{ mg/cm}_3$) i GA_3 ($0,00032 \text{ mg/cm}^3$) w warunkach ciemności w różnym stopniu pobudzają kiełkowanie światłoczułych nasion sałaty nie indukowanych i indukowanych czerwienią. Prawdopodobnie wpływ mieszanin: KH + kinetyna i KH + GA_3 na intensyfikację kiełkowania ma charakter synergiczny. Podobieństwo fizjologicznego działania KH z kinetyną na kiełkowanie nasion może być związane z obecnością w stosowanym preparacie KH zasad purynowych.

8. Przyspieszane działaniem KH kiełkowanie w ciemności nasion nie indukowanych światłem zależy prawdopodobnie od wpływu KH na przepuszczalność tkanek nasion, ich uwodnienie i wzmożenie procesów wzrostowych w korzeniu zarodkowym (radikuli), co w konsekwencji prowadzi do podwyższenia efektywności indukcji czerwienią.

9. Współdziałanie KH ze światłem czerwonym w kontrolowaniu procesu kiełkowania światłoczułych nasion sałaty sugeruje możliwość interferencji KH z układem fitochromu.

10. Przedstawione badania nie wyjaśniają ostatecznie mechanizmu działania KH na kiełkowanie światłoczułych nasion sałaty. Działanie to jest bowiem kompleksowe i wielokierunkowe, stymulujące w różnym stopniu proces kiełkowania.

PIŚMIENNICTWO

1. Anderson G.: Identification of Derivatives of Deoxyribonucleic Acid in Humic Acid. *Soil Sci.*, **86**, 169—174 (1958).
2. Anderson G.: Estimation of Purines and Pyrimidines in Soil Humic Acid. *Soil Sci.*, **91**, 156—161 (1961).
3. Berrie A. M. M.: The Effect of Temperature and Light on Germination of Lettuce Seeds. *Physiol. Plant.*, **19**, 429—436 (1966).

4. Bonner B. A.: *In vitro* Dark Conversion and Other Properties of Phytochrome. *Plant Physiol.*, **37** Suppl., 27 (1962).
5. Borthwick H. A., Hendricks S. B., Toole E. H., Toole V. K.: A Reversible Reaction Controlling Seed Germination. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **38**, 262—266 (1952).
6. Borthwick H. A., Hendricks S. B., Toole E. H., Toole V. K.: Action of Light on Lettuce Seed Germination. *Botan. Gaz.*, **115**, 205—225 (1954).
7. Borthwick H. A., Hendricks S. B.: Photoperiodism in Plants. *Science*, **132**, 1223—1228 (1960).
8. Evenari M.: Seed Germination. *Radiation Biol.*, **3**, 519—549 (1956).
9. Evenari M.: Light and Seed Dormancy [w:] *Handbuch der Pflanzenphysiologie*, Bd. **15**, 2, Springer, Berlin—Heidelberg—New York, 804—847 (1965).
10. Flaig W., Saalbach E.: Zur Kenntnis der Huminsäuren. X. Mitt. Über den Einfluss des Thymohydrochinons als Modellschubstanz von Vorstufen bzw. Abbauprodukten von Huminsäuren auf das Wurzelwachstum von Sommerweizen. *Z. Pfl.-Ernähr. Düng. Bodenk.*, **71**, 116 (3), 200—215 (1955).
11. Gawroński E.: Aktywność biologiczna preparatów kwasów huminowych z ekskrementów dżdżownic *Allolobophora caliginosa* Sav., *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska*, sectio C, **18** (1963), 189—215, Lublin (1964).
12. Gawroński E., Kowalczyk C.: The Influence of CCC and Red Light on Seed Germination and Seedling Growth of Poppy. III Symposium on Plant Growth Regulators (Sept. 11—14, 1968), 34—35, Toruń 1968.
13. Gumińska Z.: Utlenione związki próchniczne jako stymulatory kiełkowania nasion. *Acta Soc. Bot. Pol.*, **27**, 501—522 (1958).
14. Gumińska Z., Sulej J.: Wpływ humianu sodowego i wersenianu sodowego na kiełkowanie nasion. *Biuletyn IHAR*, **3** (60), 29—31 (1964).
15. Haber A. H., Tolbert N. E.: Effects of Gibberellic Acid, Kinetin, and Light on the Germination of Lettuce Seed [w:]. *Photoperiodism and Related Phenomena in Plants and Animals*. R. B. Withrow ed. *Publ. Amer. Assoc. Advan. Sci.*, Washington, D. C., 197—206 (1959).
16. Hendricks S. B., Butler W. L., Sigelman H. W.: A Reversible Photoreaction Regulating Growth. [w:] (Abstr.) *Symposium on Reversible Photochemical Processes*. U. S. Army Research Office (Durham), Duke Univ., 651—661 (1962).
17. Ikuma H., Thimann K. V.: Action of Gibberellic Acid on Lettuce Seed Germination. *Plant Physiol.*, **35**, 557—566 (1960).
18. Ikuma H., Thimann K. V.: Action of Kinetin on Photosensitive Germination of Lettuce Seed as Compared with that of Gibberellic Acid. *Plant and Cell Physiol.*, **4**, 113—128 (1963).
19. Ikuma H.: The Effects of Temperature on the Germination and Radicle Growth of Photosensitive Lettuce Seed. *Plant and Cell Physiol.*, **5**, 429—439 (1964).
20. Ikuma H., Thimann K. V.: Analysis of Germination Processes of Lettuce Seed by Means of Temperature and Anaerobiosis. *Plant Physiol.*, **39**, 756—767 (1964).
21. Kahn A.: An Analysis of "Dark-Osmotic Inhibition" of Germination of Lettuce Seeds. *Plant Physiol.*, **35**, 1—7 (1960).
22. Metallinterferenzfilter, VEB Carl Zeiss Jena, 1964, 14—15.
23. Katsumi M.: Physiological Effects of Kinetin Effect on the Thickening of Etiolated Pea Stem Sections. *Physiol. Plant.*, **15**, 115—121 (1962).

24. Koller D., Mayer A. M., Poljakoff-Mayber A., Klein S.: Seed Germination. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **13**, 437—464 (1962).
25. Khan A. A., Tolbert N. E.: Reversal of Inhibitors of Seed Germination by Red Light plus Kinetin. *Physiol. Plant.*, **18**, 41—43 (1965).
26. Letham D. S.: Chemistry and Physiology of Kinetin-Like Compounds. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **18**, 349—364 (1967).
27. Maciejewska-Potapczykowa W., Keller Z.: Wpływ kinetyny na stopień uwodnienia i zawartość azotu całkowitego u niektórych roślin. *Acta Soc. Bot. Pol.*, **26**, 161—177 (1958).
28. Miller C. O.: Similarity of some Kinetin and Red Light Effects. *Plant Physiol.*, **31**, 318—319 (1956).
29. Miller C. O.: Relationship of the Kinetin and Red Light Promotions of Lettuce Seed Germination. *Plant Physiol.*, **35**, 115—117 (1958).
30. Miller C. O.: Kinetin and Related Compounds in Plant Growth. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **12**, 395—405 (1961).
31. Niklewski B., Wojciechowski J.: Wpływ związków próchnicznych na rozwój roślin. *Acta Soc. Bot. Pol.*, **15**, 61—109; 111—151 (1938).
32. Prát S.: Permeability of Plant Tissues to Humic Acids. *Biol. Plantarum*, **5**, 279—283 (1963).
33. Rypáček V.: Der Einfluss isolierter Humusstoffe auf einige Physiologische Äusserungen der Pflanzenzelle. *Sympos. Humus und Pflanze*, Praha 1961.
34. Scheibe J., Lang A.: Lettuce Seed Germination: Evidence for a Reversible Light-Induced Increase in Growth Potential and for Phytochrome Mediation of the Low Temperature Effect. *Plant Physiol.*, **40**, 485—492 (1965).
35. Schnitzer M., Poapst P. A.: Effects of a Soil Humic Component on Root Initiation. *Nature*, **213**, 598—599 (1967).
36. Sladký Z.: Über den Einfluss einiger Humusfraktionen auf den anatomischen Bau der Pflanzen. *Sympos. Humus und Pflanze*, Praha 1961.
37. Snedecor G. W.: *Statistical Methods Applied to Experiments in Agriculture and Biology*. 5th ed. Iowa State College Press, Ames 1956, 37.
38. Toole E. H., Hendricks S. B., Borthwick H. A., Toole V. K.: Physiology of Seed Germination. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **7**, 299—324 (1956).
39. Withrow B. B.: Interference-Filter Monochromator System for the Irradiation of Biological Material. *Plant Physiol.*, **32**, 355—360 (1957).

РЕЗЮМЕ

Исследовалось влияние гуминовой кислоты (ГК), индукции красным светом (КС), 665 нм, $3,4 \cdot 10^3$ эрг/см² · сек⁻¹ и дальним красным светом (ДКС), 725 нм, $2,5 \cdot 10^3$ эрг/см² · сек⁻¹ на прорастание светочувствительных семян грунтового салата AS 44, зависящее от концентрации ГК, времени насыщения, времени индукции светом и реакции среды. Для проведения физиологических исследований был сконструирован монохроматор. Для исследования реакции на КС анализировалось прорастание 15 партий семян разных сортов салата. Сравнивался процесс прорастания индуцированных и неиндуциро-

ванных светом семян, а также семян, находящихся под действием ГК, кинетина и гибберелловой кислоты. Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы.

1. Сконструированный монохроматор, пригоден к фотофизиологическим исследованиям в пределе видимого спектра.

2. Судя по эффектам прорастания, неодинаковая чувствительность семян разных сортов салата к КС зависит от способности создания активной формы фитохрома, её устойчивости и уровня содержания в тканях семян.

3. Установлена зависящая от концентрации ГК стимуляция прорастания в темноте семян салата AS 44 (партия 145), индуцированных и неиндуцированных КС. Концентрация ГК 0,03—0,04 мг/см³ была оптимальной для получения максимальной стимуляции прорастания. Индукция семян КС увеличивает эффект прорастания, стимулированного ГК.

4. В разных пределах рН семена сохраняют чувствительность к индукции КС и к действию ГК. Максимальное прорастание было получено при рН 6. Щелочная среда сильнее тормозит прорастание, чем кислая. Установленное торможение прорастания 1/30 М фосфатным буфером, возможно, носит осмотический характер. Это торможение частично снимает действие ГК и индукцию красным светом.

5. Эффективность индуцированной КС стимуляции прорастания зависела от времени насыщения и от времени облучения семян. Установлено, что время насыщения, равное 2,5 час., перед индукцией красным светом, а также 1 мин. индукции были оптимальными для получения максимального эффекта прорастания. Отчетливое влияние ГК на прорастание светочувствительных семян салата наблюдалось спустя 24 час. после начала насыщения.

6. Насыщенные раствором ГК семена по сравнению с семенами, насыщенными водой, обнаруживают разный эффект прорастания, стимулированного КС, а задерживаемого ДКС. Под действием ГК увеличивается эффект индуцированной КС стимуляции прорастания и уменьшается торможение ДКС. В присутствии ГК ДКС не осуществляет полной реверсии эффекта стимуляции прорастания, индуцированного КС.

7. Растворы ГК (0,04 мг/см³), кинетина (0,032 мг/см³) и гиббереллина А₃ (0,00032 мг/см³) стимулируют в темноте прорастание светочувствительных, индуцированных и неиндуцированных красным светом семян не одинаково. Возможно, что влияние смеси ГК с кинетином и ГК с гиббереллином А₃ на стимулирование прорастания носит синергический характер. Сходство физиологического воздействия смеси ГК с кинетином на прорастание семян может быть связано с присут-

ствием в применяемом препарате пуриновых оснований — производных нуклеиновых кислот.

8. Стимулированное воздействием ГК прорастание в темноте неиндуцированных светом семян, возможно, зависит от влияния ГК на проницаемость тканей семян, их гидратацию и ускорение процессов роста зародышевых корешков. В результате воздействия ГК на проницаемость эффективность индукции КС увеличивается.

9. Взаимодействие ГК с красным светом при контроле процесса прорастания светочувствительных семян салата дает нам право предположить о возможности интерференции ГК с системой фитохрома.

10. Проведенные исследования не дают нам ясного ответа и не выясняют механизма действия ГК в процессе стимулирования прорастания светочувствительных семян салата. Результаты исследований говорят о том, что действие ГК на процесс прорастания является комплексным и происходит в разных направлениях.

S U M M A R Y

The influence of humic acid (HA), induction by red light (664 nm, $3.4 \cdot 10^3$ erg/cm⁻² · s⁻¹) and far-red (725 nm, $2.5 \cdot 10^3$ erg/cm⁻² · s⁻¹) on the germination of the photosensitive lettuce seeds, ground variety AS 44, in dependence on HA concentration, time of soaking, time of light induction and environment pH was investigated. In the methodical part of the paper a monochromator for the physiological determinations was constructed. To determine the reaction of the seeds to red light, the germination of 15 lots of seeds of different varieties was analysed, in the introductory part of the paper. Besides, the course of the germination of seeds induced and uninduced by light and exposed to the action of HA, kinetin and gibberellic acid (GA₃) was compared. The results of the research showed that:

1. The monochromator constructed can be used in photophysiological studies within the spectrum of visible light.

2. The sensitivity of lettuce seeds of different lots to red light depended on their ability to produce an active form of phytochrome P_{FR}, on its stability and its level in the tissues of seeds.

3. It was noted that the stimulation of dark-germination of lettuce seeds AS 44 lot 145 induced and uninduced by red light, depended on HA concentration. The HA concentration between 0.03—0.04 mg/cm³ was the optimal one for stimulation of germination. Red light induction enhanced the effect of germination stimulated by HA.

4. The seeds preserve their sensitivity to red light induction and HA in different ranges of pH. Maximum germination was obtained at pH 6. The germination process was inhibited more by alkaline than by acid reaction. Probably the inhibition of germination by 1/30 M phosphate buffer was of osmotic character. That inhibition was partly reversed by HA and red light induction.

5. The effectiveness of red light induced germination depended on the time of soaking and light exposure. The time of soaking 2.5 hrs. before red light induction, and 1 minute induction were optimal and caused maximum stimulation of germination. The marked influence of HA on the germination of photosensitive lettuce seeds was shown 24 hrs. after the beginning of soaking. After 48 hrs. the differences in germination were not distinct.

6. HA raised the effect of stimulation induced by red light and decreased the inhibition caused by far-red. In the presence of HA the action of far-red did not produce a full reversion of the effect of stimulation of germination induced by red light.

7. HA solutions (0.04 mg/cm³), kinetine (0.032 mg/cm³) and GA₃ (0.00032 mg/cm³) stimulate dark-germination of photosensitive lettuce seeds induced and uninduced by red light in various degrees. The influence of the mixture of HA and kinetine, and HA and GA₃ on the germination probably has a synergic nature. The resemblance of the physiologic action of HA on the germination of seeds to that of kinetine may be associated with the presence in the HA used of purine bases.

8. Stimulation of germination of non-irradiated seeds by HA in darkness depended probably on the influence of HA on the permeability of the tissue of seeds, on their water degree of soaking, and on the acceleration of growth processes in the radicle. In consequence of the action of HA on the permeability, the effectiveness of red light induction increases.

9. The synergism of HA with red light in the regulation of germination of photosensitive lettuce seeds suggests the existence of interference between HA and the phytochrome system.

10. The presented results of investigations do not explain fully the stimulatory action of HA on the germination process of photosensitive lettuce seeds. The influence of HA on the germination process is manifold and has a complex character.