

KAZIMIERZ KRAWIARZ, WŁADYSŁAW CHAŁUPKA

### FIZJOLOGIA WZROSTU I ROZWOJU

#### WSTĘP

Olsze wyróżniają się spośród innych roślin drzewiastych nie tylko swoistymi przemianami substancji azotowych, ale również odmiennymi przemianami na szlakach związków fenolowych i terpenoidów, co prowadzi do tworzenia się wielu swoistych dla olsz związków flawonoidowych i stillbenów, niespotykanych u innych roślin. Podobnie rzecz ma się ze związkami terpenoidowymi, które mogą służyć jako związki wskaźnikowe rodzaju *Alnus*. Fizjologiczna rola tych substancji nie jest jednak w pełni poznana.

Olsze tworzą w systemie korzeniowym symbiozę z mikroorganizmami, dzięki czemu mają zdolność wiązania azotu atmosferycznego, którą posiadają tylko nieliczne gatunki roślin wyższych. Na przykładzie olsz można prześledzić fizjologię wiązania atmosferycznego azotu, chociaż należy podkreślić, że wiedza na ten temat, szczególnie biochemiczna, jest nader skromna.

#### ROZNY CYKL ŻYCIOWY

##### WZROST WEGETATYWNY W OKRESIE AKTYWNOŚCI

Roczny cykl życiowy olsz obejmuje trzy zasadnicze fazy, wspólne dla wszystkich drzew strefy umiarkowanej: spoczynek zimowy, okres aktywności i spoczynek jesienny. Obie fazy spo-

czynku badał u *A. incana* w Finlandii Sarvas (1974), analizując ich przebieg opracowaną przez siebie metodą.

Obserwacje fenologiczne prowadzone są tylko w okresie aktywności, a więc wtedy gdy procesy życiowe drzew uzewnętrzniają się w zmianach morfologicznych. Pierwszym dającym się zauważyć pojawem fenologicznym jest u olsz pęknięcie pąków. W Arboretum Kórnickim (dane niepublikowane) *A. glutinosa* rozpoczyna tę fazę średnio około połowy kwietnia. Ten sam gatunek w okolicach Hradec Kralove (Czechosłowacja) zaczyna tę fazę o 3-4 dni wcześniej (Chalupe 1969), a w południowo-zachodniej Rumunii — pod koniec pierwszej dekady kwietnia (Tomescu i inni 1967). Rozchylenie się blaszek liściowych rozpoczyna się w podanych wyżej położeniach geograficznych o 1-2 tygodnie później. Równocześnie z tym rozpoczyna się wzrost pędów na długość trwający w Litewskiej SRR u *A. incana* około 95 dni, a u *A. glutinosa* — 109 dni (Kairiukštis, Juodval'kis 1972).

Obserwuje się znaczne różnice w trwaniu przyrostu na długość w obrębie korony. Pędy z górnej części korony *A. glutinosa* w Danii przyrastały średnio przez 92 dni, natomiast z dolnej — tylko 48 dni (Ladefoged 1952). Przyrost na długość u *A. glutinosa* na Litwie rozkłada się w sezonie wegetacyjnym następująco: maj — 8%, czerwiec — 29%, lipiec — 38% i sierpień — 25% (Kairiukštis, Juodval'kis 1972).

Dający się zmierzyć przyrost na grubość u *A. glutinosa* obserwuje się w kilka dni po pełnym ulistnieniu (Chalupe 1965a, Žumer 1969), jednak badania anatomiczne wykazały, że pierwsze podziały komórek miazgi odbywają się na 1-2 dni przed pęknięciem pąków (Ladefoged 1952). Uaktywnianie się komórek miazgi rozpoczyna się najpierw w górnych częściach korony drzewa. Przy podstawie pąków u *A. glutinosa* w Danii komórki te zaczynają się dzielić na początku kwietnia, na pnieniu na wysokości 1,3 m — około miesiąc później, a w korzeniach dopiero w drugiej połowie czerwca (Ladefoged 1952).

Czas trwania przyrostu grubości w Litewskiej SRR wynosi średnio dla *A. incana* 93 dni, a dla *A. glutinosa* — 84 dni (Ka-

Tabela 1

Średni procentowy rozkład przyrostu grubości w sezonie wegetacyjnym

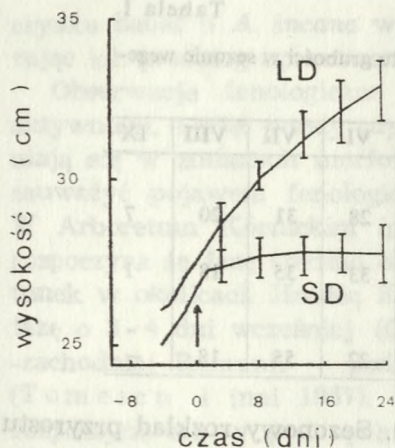
	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Dania (Ladefoged 1952)	—	14	28	31	20	7
Czechosłowacja (Chalupa 1965b)	1	12	33	35	18	1
Litewska SRR (Kairiukštis, Juodval'kis 1972)	—	5	22	55	18	—

riukštis, Juodval'kis 1972). Sezonowy rozkład przyrostu grubości w różnych położeniach geograficznych przedstawia tabela 1.

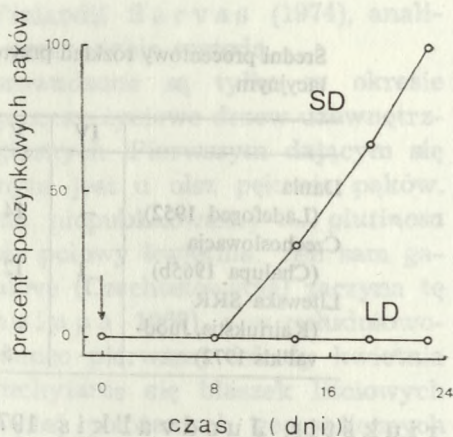
#### WPŁYW FOTOPERIODU NA WZROST

Wyniki doświadczeń Vaartaji (1954) nad wpływem fotoperiodu na wzrost siewek olszy wykazały, że w warunkach krótkiego dnia (8 godzin światła) wzrost siewek ustaje, tworzą się pąki spoczynkowe, a liście brązowieją i opadają. Siewki przeniesione do ciągłego światła rozpoczynają nieprzerwany wzrost. Użycie do doświadczeń ekotypów z północnych rejonów Finlandii, gdzie w okresie wegetacji dzień jest bardzo długi i z południowych, gdzie dzień jest krótszy wykazało, że w tych samych warunkach cieplnych przy ciągłym oświetleniu olsze z północnych proveniencji urosły wyższe, były również bardziej wrażliwe na skrócenie czasu oświetlenia i szybciej przestawały rosnąć.

Hocking i Hillman (1975) stwierdzili, że siewki olszy *A. glutinosa* umieszczone w warunkach krótkiego dnia (8 godzin oświetlenia) przestały rosnąć po 13 dniach i zaczynały wytwarzać pąki spoczynkowe (ryc. 1 i 2). Po 23 dniach w warunkach krótkiego dnia wszystkie pąki były w stanie spoczynku, nato-



Ryc. 1. Wpływ długiego dnia (LD) i krótkiego dnia (SD) na wzrost *A. glutinosa*. Strzałka pokazuje moment przeniesienia siewek do krótkiego dnia (wg Hockinga i Hillmana 1975)



Ryc. 2. Wpływ długiego dnia (LD) i krótkiego dnia (SD) na tworzenie się pąków spoczynkowych u *A. glutinosa*. Strzałka pokazuje moment umieszczenia siewek w warunkach krótkiego dnia (wg Hockinga i Hillmana 1975)

miast w warunkach oświetlenia 16-godzinnego (długi dzień) wzrost siewek olszy był nieprzerwany, a pąki spoczynkowe nie tworzyły się.

#### WPŁYW SUBSTANCJI WZROSTOWYCH NA WZROST I SPOCZYNEK

Smirnov (1967) badał wpływ traktowania 0,01% roztworem kwasu giberelinowego ( $GA_3$ ) na wzrost *A. incana*. Giberelina powodowała stymulację wzrostu pędów olszy oraz wydłużenie się okresu aktywności. Pędy traktowane  $GA_3$  nie przechodziły w odpowiednim czasie w spoczynek i były uszkodzane przez mróz. Leike (1967), który również badał wpływ gibereliny na wzrost pędów *A. glutinosa* stwierdził, że w okresie aktywności stymulowała ona wzrost, natomiast w stanie spoczynku nie wywoływała żadnych zmian. Podobne rezultaty uzyskał on dla kinetyny.

Tabela 2

Procent przyrostu wysokości i liczby międzywęźli siewek olszy *A. glutinosa* rosnących w warunkach długiego dnia, po 24 dniach od oprysku kwasem abscysynowym (wg Hockinga i Hillmana 1975)

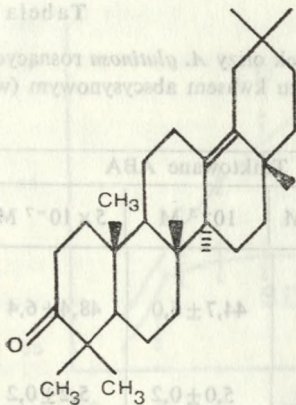
	Kontrola nie traktowana	Kontrola traktowana wodą	Traktowane ABA		
			$2 \times 10^{-4}$ M	$10^{-5}$ M	$5 \times 10^{-7}$ M
% przyrostu wysokości	$36,4 \pm 4,2$	$37,5 \pm 5,8$	$39,9 \pm 3,5$	$44,7 \pm 6,0$	$48,4 \pm 6,4$
Przyrost liczby międzywęźli	$4,3 \pm 0,2$	$5,1 \pm 0,4$	$4,4 \pm 0,3$	$5,0 \pm 0,2$	$5,2 \pm 0,2$

Zdolność indukowania spoczynku drzew przypisywano kwasowi abscysynowemu (ABA), wyizolowanemu ze spoczynkowych pąków drzew (Eagles, Wareing 1963). Hocking i Hillman (1975) stwierdzili, że kwas abscysynowy podawany do liści olszy nie indukuje ani nie stymuluje tworzenia się pąków spoczynkowych (tab. 2). Nie stwierdzili oni również istotnych różnic we wzroście siewek olszy traktowanych ABA, chociaż najniższe stężenie ABA powodowało nieznaczną stymulację wzrostu (tab. 2).

#### SUBSTANCJE SWOISTE

##### TERPENOIDY

Rodzina *Betulaceae*, do której należy rodzaj *Alnus* charakteryzuje się wysoką zawartością terpenoidów. Rodzaj *Betula* zawiera w korze trójterpen — betulinę, zaś dla rodzaju *Alnus* specyficzny jest trójterpen  $\delta$ -amyrenon (ryc. 3) wyizolowany z pąków *A. japonica* (Sieb. et Zucc.) przez Wollenwebera (1974a). Ta bezbarwna substancja, krystalizująca w etanolu, występuje prawie we wszystkich gatunkach olsz, natomiast nie wykryto jej u brzoź. Liście olszy zawierają 0,005%  $\delta$ -amyrenonu, pąki ok. 0,16% (Wollenweber 1974). Innymi trójterpenoidami

Ryc. 3.  $\delta$ -amyrenon

z liści *A. glutinosa* alnusfoliendiolon, 3- $\beta$ -hydroksyglutin-5-en,  $\delta$ -amyrenon, alnulinę i  $\beta$ -sitosterol, nie występuje zaś w nich protalnulina i alnusenon.

#### FLAWONOIDY

Związki te stanowią dużą grupę naturalnych substancji roślinnych pochodnych flawanu (ryc. 4). Typowy układ flawanu jest zazwyczaj modyfikowany większą liczbą wiązań podwójnych i podstawników, dając pochodne grupy: flawonole, flawanony, flawanonole, izoflawony i izoflawanony. Szczegółowe badania nad występowaniem flawonoidów u olsz prowadził Wollenweber (1974b, 1975), Wollenweber i in. (1974), który stwierdził, że garnitur flawonoidowy dla wielu gatunków olsz jest wysoce specyficzny. Zestawienie flawonoidów olsz przedstawiono w tabeli 3.

Flawonoidy, dzięki swojej budowie chemicznej mają zdolność absorpcji światła widzialnego, która w zależności od podstawionych grup funkcyjnych nadaje im charakterystyczne zabarwienie. Rola flawonoidów nie jest w pełni wyjaśniona. Przypuszcza się, że biorą udział w procesach fotosyntezy. Obecność flawonoidów wykazano w chloroplastach różnych gatunków olsz

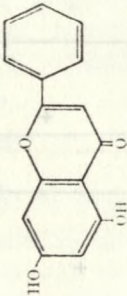
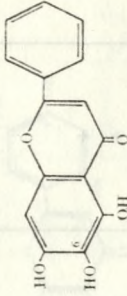
Występowanie flawonoidów w pąkach różnych gatunków olsz (na podstawie prac Asakawy 1971 i Wollenwebera 1974a, 1975)

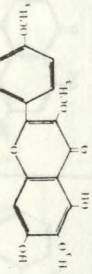
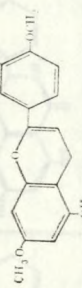
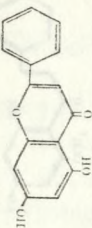
Gatunek	KEMPFEROL				6-OH KEMPFEROL				
	3-Me	7-Me	kempferid 4'-Me	kumatake- nina 3,7-Me	? Me	betuleol 6,4'-Me	3-metylbe- tuleol 3,6,4'-Me	6,7,4'-Me	3,6-Me
<i>A. vitidis</i> DC.	-								
<i>A. crispa</i> Pursh.				+					
<i>A. sinuata</i> (Reg.) Rydb.				+					
<i>A. cordata</i> Desf.				+					
<i>A. glutinosa</i> Gaertn.									
<i>A. subcordata</i> Mey.									
<i>A. koehnei</i> Call. (subc. x inc.)	+								
<i>A. incana</i> Moench									
<i>A. japonica</i> Sieb. et Zucc.									
<i>A. rubra</i> Bong.									
<i>A. maritima</i> Nutt									
<i>A. hirsuta</i> (Spach) Rupr.		+							
<i>A. rugosa</i> Spreng.	+								
<i>A. Sieboldiana</i> Matsum.									

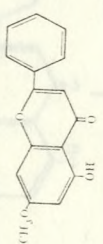
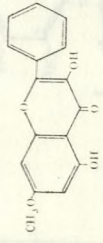
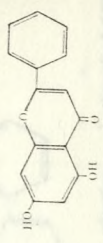


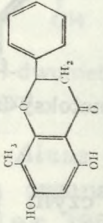
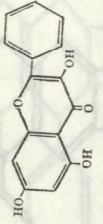
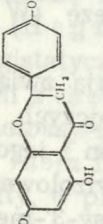
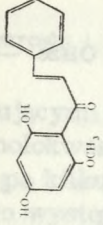


Gatunek	APIGENINA		SKUTELARINA (6-OH apigenina)	
	genkwamina 7-Me	acetina 4'-Me	7,4'-Me	pectolarigenina 6,4'-Me
<i>A. viridis</i> DC.	-			+
<i>A. crispata</i> Pursh.	+			+
<i>A. sinuata</i> (Reg.) Rydb.	+			+
<i>A. cordata</i> Desf.				+
<i>A. glutinosa</i> Gaertn.				+
<i>A. subcordata</i> Mey.				+
<i>A. koehnei</i> Cull. (subc. x inc.)				+
<i>A. incana</i> Moench				+
<i>A. japonica</i> Sieb. et Zucc.				+
<i>A. rubra</i> Bong.				+
<i>A. maritima</i> Nutt				+
<i>A. hirsuta</i> (Spach) Rupr.				+
<i>A. rugosa</i> Spreng.				+
<i>A. Sieboldiana</i> Matsum.				+

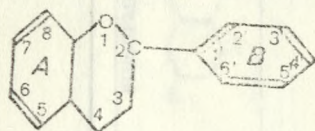
	GALANGINA		6-OH GALANGINA		
		3-Me		alnetina 5-OH, 6,7,8-Me	alnutinol 6-Me (pinobanksin)
<i>A. viridis</i> DC.	-	+			
<i>A. crispa</i> Pursh.					
<i>A. sinuata</i> (Reg.) Rydb.					
<i>A. cordata</i> Desf.					
<i>A. glutinosa</i> Gaertn.					
<i>A. subcordata</i> Mey.					
<i>A. koehnei</i> Call. (subc. x inc.)					
<i>A. incana</i> Moench					
<i>A. aponica</i> Sieb. et Zucc.					
<i>A. rubra</i> Bong.					
<i>A. maritima</i> Nutt					
<i>A. hirsuta</i> (Spach) Rupr.					
<i>A. rugosa</i> Spreng.					
<i>A. Stebbelliana</i> Matsum.					

	CENTAUREIDINA	LUTEOLINA 7,4'-Me (Pillotin)	CHRYZYNA
<p>Gatunek</p>			
<p><i>A. viridis</i> DC.</p>			
<p><i>A. crispata</i> Pursh.</p>			
<p><i>A. sinuata</i> (Reg.) Rydb.</p>			
<p><i>A. cordata</i> Desf.</p>			
<p><i>A. glutinosa</i> Gaertn.</p>			
<p><i>A. subcordata</i> Mey.</p>			
<p><i>A. koehnei</i> Call. (subc. × inc.)</p>			
<p><i>A. incana</i> Moench</p>			
<p><i>A. japonica</i> Sieb. et Zucc.</p>			
<p><i>A. rubra</i> Bong.</p>			
<p><i>A. maritima</i> Nutt</p>			
<p><i>A. hirsuta</i> (Spach) Rupr.</p>			
<p><i>A. rugosa</i> Spreng.</p>			
<p><i>A. Sieboldiana</i> Matsum.</p>			

	TECTOCHRYZYNA	IZALPININA	PINOCEMBRYNA
<p><i>A. viridis</i> DC.</p> <p><i>A. crispa</i> Fusch.</p> <p><i>A. sinuata</i> (Reg.) Rydb.</p> <p><i>A. cordata</i> Desf.</p> <p><i>A. glutinosa</i> Gaertn.</p> <p><i>A. subcordata</i> Mey.</p> <p><i>A. koehnei</i> Call. (<i>subc. x inc.</i>)</p> <p><i>A. incana</i> Moench</p> <p><i>A. japonica</i> Sieb. et Zucc.</p> <p><i>A. rubra</i> Bong.</p> <p><i>A. maritima</i> Nutt</p> <p><i>A. hirsuta</i> (Spach) Rupr.</p> <p><i>A. rugosa</i> Spreng.</p> <p><i>A. Sieboldiana</i> Matsum.</p>	<p>CH<sub>3</sub>O</p>  <p>OH</p>	<p>CH<sub>3</sub>O</p>  <p>OH</p> <p>OH</p>	 <p>OH</p>

Gatunek	STROBOPININA 	PINIBANKSINA 	NARINGENINA 	2,4'-DWUHYDROKSY-6'-METOKSYCHALKON 
<p><i>A. viridis</i> DC.  <i>A. crispa</i> Pursb.  <i>A. sinuata</i> (Reg.) Rydb.  <i>A. cordata</i> Desf.  <i>A. glutinosa</i> Gaertn.  <i>A. subcordata</i> Mey.  <i>A. koelnei</i> Call. (<i>subc. x inc.</i>)  <i>A. incana</i> Moench  <i>t. japonica</i> Sieb. et Zucc.  <i>A. rubra</i> Bong.  <i>A. maritima</i> Nutt  <i>A. hirsuta</i> (Spach) Rupr.  <i>A. rugosa</i> Spreng.  <i>A. Sieboldiana</i> Matsum.</p>	+	+	+	+

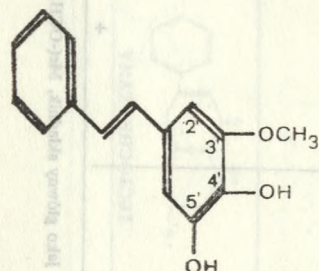
(+) występuje w małych ilościach, + występuje jako główny składnik, Me(OCH<sub>3</sub>) rodnik metoksyowy, ? brak pewności struktury



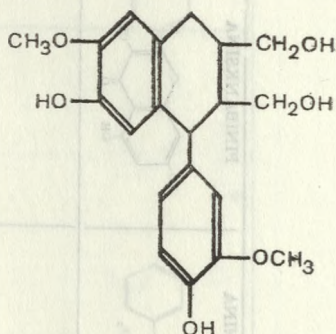
Ryc. 4. Flawan

stwierdzając, że światło stymuluje ich syntezę (Wollenweber i in. 1971).

W okrywkach pąków *A. pendula* występują związki z klasy stilbenów, o silnych właściwościach grzybobójczych. Jest to wydzielony przez Asakawę (1971) pinosylwin i jego eter metylowy. Favre-Bonvin i in. (1978) wyizolowali z pąków *A. viridis* nowy stilben 4',5'-dihydroksi-3'-metoksytilben (ryc. 5). Stilbeny, podobnie jak flawonoidy powstają na szlaku



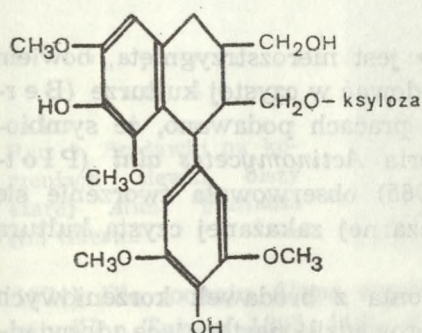
Ryc. 5. 4',5'-dihydroksi-3'-metoksytilben



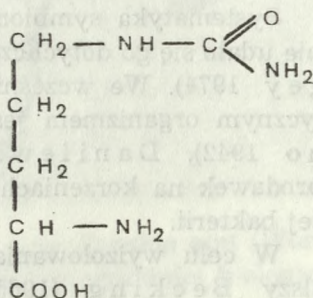
Ryc. 6. Dwumetoksy-izo-laricirezinol

metabolicznym kwasu szikimowego, przy czym prekursorem pierścienia B jest kwas szikimowy, natomiast pierścień A powstaje wskutek wytworzenia się wiązań między trzema cząsteczkami kwasu octowego. Naturalnie występujące stilbeny mają przeważnie podstawniki w pozycjach 2',4' w pierścieniu A. Wyjątkiem od tej reguły jest 4-hydroksystilben, którego obecność spowodowana jest wtórną hydroksylacją mogącą prowadzić do powstania 6-hydroksyflawonoidów, występujących u olsz (Wollenweber 1975).

Interesującymi związkami występującymi w drewnie olszy są dimery fenolokwasów. Drewno olszy bezpośrednio po ścięciu jest białe, lecz po kilku godzinach pod wpływem działania tlenu atmosferycznego występujące w nim fenolokwasy ulegają kondensacji tworząc dimery, np. dwumetoksy-izo-laricirezinol (ryc. 6) i powodując zmianę zabarwienia drewna na kolor czerwono-pomarańczowy (Hegnauer 1964). Związek ten ma silne właściwości fungistatyczne. Freudenberg i Weinges (1959) wyizolowali z drewna połączenie dimeru z ksylozą (ryc. 7). Ten (+)-dwumetoksy-izo-laricirezinolkpsylozyd występuje w drewnie i korze *A. rubra* i może być stosowany jako wskaźnik pH (w pH 4,5 jest żółty, w pH 4,8 czerwony, a w pH 8,0 głęboko czerwony). Substancja ta nadaje drewnu tej olszy czerwoną barwę.



Ryc. 7. (+)-dwumetoksy-izo-laricirezinolkpsylozyd



Ryc. 8. Cytrulina

Rodzaj *Alnus* wyróżnia się spośród innych obecnością we wszystkich organach znacznych ilości aminokwasu cytruliny (Hegnauer 1964). Największe ilości tego aminokwasu (ryc. 8) zawierają jednak brodawki korzeniowe, które spełniają rolę centrów wiązania azotu atmosferycznego przez olsze. Według Reutera i Wolfganga (1954) cytrulina stanowi główny składnik soku płaczu wiosennego, a Ziegler i Schnabel (1961) wykazały również obecność tego aminokwasu we floemie. Reuter i Wolfgang (1954) stwierdzili, że azot zawarty w cytrulinie stanowi ponad 50% azotu ogólnego u olszy.

## FIZJOLOGIA WIĄZANIA AZOTU ATMOSFERYCZNEGO

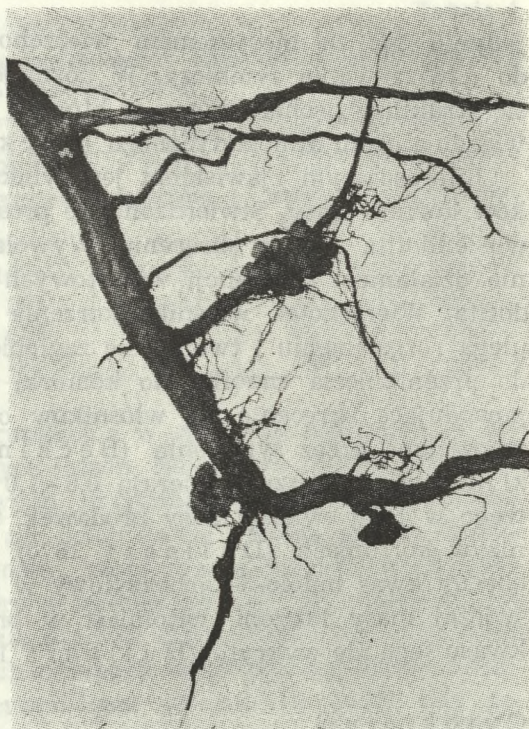
Zjawisko wiązania atmosferycznego azotu u roślin pomimo licznych badań jest w dalszym ciągu słabo poznane. Zagadnieniem tym interesuje się dzisiaj inżynieria genetyczna. Przeniesienie genów odpowiedzialnych za wiązanie azotu atmosferycznego z mikroorganizmów do roślin wyższych mogłoby przynieść olbrzymie korzyści człowiekowi. Olsze są nielicznymi gatunkami roślin drzewiastych posiadającymi zdolność wiązania wolnego azotu w symbiozie z bakteriami w brodawkach korzeniowych (ryc. 9).

## SYSTEMATYKA SYMBIONTA

Systematyka symbionta olszy jest nierozstrzygnięta, bowiem nie udało się go dotychczas wyhodować w czystej kulturze (Bergey 1974). We wcześniejszych pracach podawano, że symbiotycznym organizmem jest bakteria *Actinomyces alni* (Plotko 1942). Danilewicz (1965) obserwowała tworzenie się brodawek na korzeniach olszy czarnej zakażanej czystą kulturą tej bakterii.

W celu wyizolowania symbionta z brodawek korzeniowych olszy Becking (1965) przeprowadził następujące doświadczenie. Wysterylizowane fragmenty brodawek korzeniowych olszy *A. glutinosa* umieścił na pożywce agarowej zawierającej wszystkie składniki pokarmowe dla wzrostu kultur tkankowych. Po kilku tygodniach z inokulum o średnicy 1-2 mm wyrastała tkanka kalusowa brodawek korzeniowych o średnicy 4-5 cm, z endofitem zdolnym do wywołania brodawek na korzeniach olszy. Jednakże w dłuższej hodowli endofit wycofywał się. Również nawiązywanie symbiozy na tkankach *in vitro* zachodzi bardzo słabo (Becking 1975). Nie jest wykluczone, że hodowla endofita wymaga specjalnych warunków oświetlenia, podobnie jak to ma miejsce z mikoryzami. Ostatnio zaproponowano zaliczenie endofita olszy do rodzaju *Frankia*, wyróżniając dla każdego gatunku rośliny gospodarza odpowiedni gatunek (Bergey





Ryc. 9. Brodawki na korzeniach siewki olszy szarej *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.

1974). Dla rodzaju *Alnus* wyróżnia się więc *Frankia alni* (Woromin, Von Tubeuf 1895, 118), chociaż nie ma zgodności biologicznej między endofitami poszczególnych gatunków olszy. Zostało to również stwierdzone wcześniej przez Rodriguesa-Barrucco i Bonda (1968).

#### ROLA SUBSTANCJI WZROSTOWYCH W NAWIĄZYWANIU SYMBIOZY OLSZY Z ENDOFITEM

##### Auksyny

Tworzenie się brodawek korzeniowych u olszy następuje w różnych porach roku. Endofit występuje jedynie w komórkach parenchymatycznych kory pierwotnej, a nigdy nie ma go w komórkach kory i endodermy. W komórkach kory spotyka się go

jedynie tuż za merystemem wierzchołkowym, gdzie dochodzi do nawiązywania symbiozy. W późniejszych stadiach pojawiają się struktury pęcherzykowe, w których zachodzą główne procesy wiązania azotu atmosferycznego (Becking 1975).

Interesującym zjawiskiem jest wnikanie endofita do włóśników korzeni olszy. Stwierdzono, że proste włóśniki w towarzystwie endofita ulegają skręceniu. Wywołane jest to przypuszczalnie działaniem substancji wzrostowych wydzielanych przez endofita. Wierzchołek włóśnika korzenia przy obecności endofita ulega rozgałęzieniu i tworzy się zagłębienie, w którym dochodzi do przeniknięcia endofita do komórki włóśnikowej. Substancją powodującą skręcenie się włóśników olszy może być auksyna, wydzielana przez symbionta (Becking 1966, 1975). Brodawki korzeniowe olszy zawierają 0,6-1,0 mg kwasu indoliloctowego w 1 kg świeżej masy brodawek, tj. ok. 5-10 razy więcej niż w korzeniach (Dullaart 1970). W korzeniach olszy jest obecny kwas indolo-3-karboksylowy w ilości 0,05-0,15 mg/1 kg świeżej masy korzeni, natomiast w brodawkach korzeniowych kwasu tego nie wykryto (Dullaart 1970).

## Cytokininy

Cytokininy niewątpliwie odgrywają ważną rolę w procesie nawiązywania mikoryzy u olszy. Rodrigues-Barrueco i Bermudes de Castro (1973) stwierdzili, że kinetyna lub 2-izopentenyloadenina podane do podłoża dla sterylnych pozbawionych brodawek siewek olszy powodują tworzenie się pseudo-brodawek.

Obszerne badania nad cytokininami w brodawkach korzeniowych olszy prowadzili Henson i Wheeler (1977a, b, c, d). Stosując do oznaczeń ilości cytokinin biotest wzrostu kalusa soi stwierdzili, że najwyższy poziom cytokinin w ciągu roku przypada w kwietniu, tuż przed rozwijaniem się pąków i w czasie rozwoju pąków (tab. 4).

Wysoki wzrost zawartości cytokinin w brodawkach korzeniowych obserwowano w okresie pękania pąków w dojrzałych drze-

Tabela 4

Zawartość cytokinin w różnych organach olszy w ciągu roku w  $\mu\text{g}$  kinetyny/1 kg świeżej masy tkanki (wg Hensona i Wheelera 1977a)

Część rośliny	Terminy analiz			
	28 I spoczynek	25 II spoczynek	7 III pęknięcie pąków	2 IV rozwój liści
Brodawki korzeniowe	107,9	110,5	614,0	97,0
Korzenie	23,1	26,3	37,8	16,5
Pęd	67,2	16,8	64,5	72,3
Pączki (liście)	19,0	19,0	34,0	17,3

wach w naturalnych warunkach i w siewłkach rosnących w doniczkach w dwóch kolejnych latach. Najwyższy poziom cytokinin w brodawkach korzeniowych, przypadający na okres, gdy rozwinęła się połowa pąków nie pokrywa się z wystąpieniem maksimum aktywności nitrogenazy, którą można wykryć w brodawkach korzeniowych dopiero w miesiąc później, gdy rozwinęło się 100% pąków na siewce lub drzewie olszy. Najwyższa aktywność nitrogenazy w brodawkach przypada w okresie najintensywniejszej wegetacji, tj. w czerwcu-lipcu (Pizzele 1975), gdy poziom cytokinin w brodawkach i liściach olszy jest stosunkowo niski (Henson, Wheeler 1977a, Henson 1978). Wysoki poziom cytokinin, poprzedzający wzrost aktywności wiązania azotu w brodawkach korzeniowych olszy, spełnia jak się wydaje funkcję czynnika uruchamiającego sam proces, w sensie mobilizacji substancji zapasowych, inicjacji biosyntezy właściwych enzymów i aktywności merystematycznej korzeni olszy (Henson, Wheeler 1977a).

Henson i Wheeler (1977b, c) wykazali również, że w brodawkach korzeniowych i w liściach olszy występuje glukozyd zeatyny i glukozyd rybozydu zeatyny, nieobecne w soku parcia korzeniowego, w którym dominuje rybozyd zeatyny obecny również w korzeniach. Zeatyna jest obecna we wszystkich badanych organach olszy, lecz w największej ilości występuje w liściach (Henson 1978). Najwięcej związanych form cyto-

kinin występuje w brodawkach korzeniowych olszy (Henson, Wheeler 1977b), skąd są one transportowane do pędu strumieniem transpiracyjnym w ksylemie; po 24 godzinach od momentu iniekcji zeatyny znakowanej  $^{14}\text{C}$ , można ją wykryć we wszystkich organach olszy (Henson, Wheeler 1977d). Cytokininy mają zdolność regulacji szybkości fotosyntezy i aktywności pewnych enzymów. Istnieje więc duże prawdopodobieństwo korelacji między zawartością cytokinin w brodawkach korzeniowych, jej transportem do liści a intensywnością fotosyntezy w liściach oraz szybkością wiązania azotu w brodawkach, która zależy od ilości dostarczonych do nich węglowodanów z liści (Wheeler 1969, 1971). Cytokininy w brodawkach korzeniowych spełniają funkcję mobilizatorów asymilatów z liści, w analogiczny sposób jak to robią w transporcie składników pokarmowych w pędzie do takich miejsc, jak owoce, nasiona i pąki wierzchołkowe.

Badania przeprowadzone przez Hensona i Wheelera (1977c) i Hensona (1978) wykazały, że zeatyna znakowana  $^{14}\text{C}$  jest metabolizowana w brodawkach korzeniowych olszy do adeniny, adenozyiny, rybozydu zeatyny, glukozydu zeatyny i glukozydu dehydrozeatyny. Zeatyna podana do brodawek korzeniowych olszy ulega wiązaniu z glukozą oraz jest rozkładana. Procesy te odbywają się z mniej więcej jednakową szybkością w brodawkach zarówno w okresie spoczynku, jak i w okresie aktywności. Tkanki brodawek korzeniowych posiadają bardzo aktywną  $\beta$ -glukozydazę. Endogenny poziom glukozydu zeatyny w brodawkach korzeniowych olszy wynosi 0,1 ng/l brodawkę. Po 24 godz. od podania  $^{14}\text{C}$ -zeatyny poziom glukozydu wzrasta do 137 ng/l brodawkę. Wiązanie substancji wzrostowych z glukozą jest ważnym mechanizmem regulacji poziomu wolnych substancji wzrostowych u olszy.

#### WPLYW WIĄZANIA AZOTU ATMOSFERYCZNEGO NA WZROST OLSZY

Wiązanie azotu atmosferycznego przez olsze ma bezpośredni wpływ na wzrost (Danilewicz 1965, Becking 1975). Siewki olszy *A. glutinosa* hodowane w piaskowych i wodnych

kulturach bez nawożenia azotem, zakażone czystą kulturą bakterii *Streptomyces alni* Plotho (Danilewicz 1965) wytwarzały brodawki korzeniowe i były tak samo duże jak siewki olszy nawożone azotem. Rośliny nie inokulowane, hodowane na pożywce bez azotu, wykazywały objawy głodu i ginęły.

W doświadczeniu Beckinga (1975) 11-tygodniowe siewki *A. glutinosa* hodowane na pożywce bez azotu zakażano inokulum z brodawek korzeniowych. Po 8 tygodniach na siewkach tych wykształcały się brodawki korzeniowe, a w ciągu 48 tygodni hodowli siewki wyprodukowały 30 g suchej masy zawierającej 500 mg azotu, z czego połowę zawierały liście.

### Ilość związanego azotu

Ilości związanego azotu atmosferycznego przez olsze w symbiozie z mikroorganizmami uzależnione od gatunku (tab. 5) można zmierzyć kilkoma sposobami. Najprostszym z nich jest pomiar zawartości azotu w tkankach metodą Kjeldhala (Becking 1975). Bardziej skomplikowaną i kosztowniejszą metodą jest ekspozycja siewek lub brodawek korzeniowych olszy w atmosferze zawierającej ciężki izotop azotu  $^{15}\text{N}$ . Pomiar ilości pobranego izotopu  $^{15}\text{N}$  w tkankach przeprowadza się w spektrometrze masowym lub spektrometrze emisyjnym (Becking 1975). Tą metodą wykazano, że bardzo młode brodawki korzeniowe olszy nie wiążą azotu, bowiem do funkcjonowania procesu konieczne jest wytworzenie odpowiednich struktur biologicznych, co wymaga pewnego czasu. Dojrzałe brodawki korzeniowe po odcięciu od korzeni zachowują zdolność wiązania azotu przez około 12 godz. Trzecią metodą jest pomiar aktywności nitrogenazy brodawek korzeniowych metodą redukcji acetyleny opracowaną niezależnie przez Dilwortha (1966) i Schölhorna i Burisa (1966). Nitrogenaza redukuje acetylen, podobnie jak atmosferyczny azot, według następującego schematu:

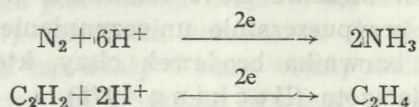


Tabela 5

Wiązanie azotu ( $N_2$ ) w warunkach polowych przez różne gatunki olsz

Gatunek	Wiązanie $N_2$ w kg/ha/rok	Autor
<i>A. glutinosa</i> (7-letnia)		
1 roślina/m <sup>2</sup>	28	Virtanen 1957
5 roślin/m <sup>2</sup>	100	Virtanen 1957
<i>A. glutinosa</i> (12-letnia)	26 - 48	Virtanen 1962
<i>A. glutinosa</i>	56	Becking 1975
<i>A. incana</i>	40	Ovington 1956
<i>A. crispa</i> (5-letnia)	157	Lawrence 1958
<i>A. crispa</i> (50-letnia)	61,5	Crocker, Major 1955
<i>A. rubra</i> (7-letnia)	140	Zavitkowski, Newton 1968
(30-letnia)	209	Zavitkowski, Newton 1968
<i>A. rugosa</i> (siewka)	155 - 165	Daly 1966
<i>A. rugosa</i> (z naturalnego stanowiska)	85	Voigt, Steucek 1969

Stężenie acetyleny i etyleny mierzy się chromatografem gazowym, a metoda ta jest 1000 razy czulsza niż metoda z zastosowaniem izotopu  $^{15}N$ .

#### Wpływ stężenia różnych gazów na wiązanie azotu

Wiązanie azotu w brodawkach korzeniowych olszy odbywa się z optymalną szybkością w atmosferze zawierającej 12% tlenu (Bond 1961). Zwiększenie ilości wodoru w atmosferze do 20% powoduje zmniejszenie wiązania azotu o połowę w stosunku do kontroli, a podwyższenie stężenia wodoru do 60% hamuje wiązanie azotu w 80% (Bond 1960).

Tlenek węgla w stężeniu 1,0% całkowicie hamuje wiązanie azotu, powodując przypuszczalnie unieczynnienie układu hemowego czerwonego barwnika brodawek olszy, który uczestniczy w procesie wiązania azotu (Becking 1975).

## MIKROELEMENTY A WIĄZANIE AZOTU

## Molibden

Molibden jest niezbędnym mikroelementem w reakcjach enzymatycznych związanych z wiązaniem azotu i azotanów. W procesie wiązania azotu w brodawkach korzeniowych poziom molibdenu musi być wyższy aniżeli w innych reakcjach metabolizmu azotowego (Becking 1962). Molibden jest więc bardzo potrzebny dla wzrostu olszy, które korzystają jedynie z azotu atmosferycznego (Becking 1961a, b, Hewitt, Bond 1961). Siewki olszy rosnące na ubogim w azot podłożu i bez molibdenu są o połowę mniejsze od siewek kontrolnych. Dane uzyskane przez Beckinga (1961a, b, 1975) przedstawione w tabeli 6

Tabela 6

Wpływ molibdenu na wzrost i wiązanie azotu przez siewki olszy *A. glutinosa* (wg Beckinga 1975)

Stężenie molibdenu $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $\mu\text{g}/1$ doniczkę	Wysokość pędu cm	Świeża wa- ga pędów g/1 doni- czkę	Sucha wa- ga pędów g/1 doni- czkę	Azot całko- wity pędów mg/1 doni- czkę
0	18,2	11,2 ± 2,0	2,38 ± 0,64	46,4 ± 8,8
150	33,7	34,4 ± 0,1	7,58 ± 0,25	218,0 ± 8,6

pokazują, że siewki rosnące z dodatkiem molibdenu ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) produkują ponad 3 razy więcej azotu niż siewki pozbawione tego pierwiastka. Deficyt molibdenu powoduje wytwarzanie się dużej ilości małych brodawek rozmieszczonych na całym systemie korzeniowym.

Oznaczenia zawartości molibdenu w siewkach olszy wykazały, że większość tego pierwiastka znajduje się w brodawkach korzeniowych (tab. 7). Brodawki korzeniowe *A. glutinosa* z naturalnego stanowiska zawierały 6 razy więcej molibdenu aniżeli korzenie, na których te brodawki wyrosły. Najwięcej molibdenu

Tabela 7

Zawartość molibdenu w organach *A. glutinosa* rosnących bez dodatku i z dodatkiem molibdenu ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) (wg Beckinga 1975)

Organ roślinny	Zawartość molibdenu (ppm/1 g suchej masy)	
	0 Mo	150 µg Mo
Brodawki korzeniowe	2,00	17,30
Korzenie	0,24	2,62
Pęd	0,14	1,89
Liście	0,01	0,27

zawierają nasiona olszy — około 10 razy więcej niż liście, pędy i korzenie. Podobne wyniki uzyskał Hewitt i Bond (1961) w doświadczeniach z wodnymi kulturami olszy.

#### Kobalt i miedź

Znaczenie kobaltu dla wzrostu i asymilacji azotu w korzeniach olszy badali Bond i Hewitt (1962) oraz Hewitt i Bond (1966). Deficyt kobaltu wywołuje silne symptomy niedoboru azotowego.

W brodawkach korzeniowych olszy nawożonych kobaltem wykryto zwiększoną zawartość witaminy  $\text{B}_{12}$ . Brodawki korzeniowe *A. glutinosa* zawierały około 130 - 300 µg witaminy  $\text{B}_{12}$  na 1 g świeżej masy, zaś w korzeniach wykryto tylko śladowe ilości witaminy. Kliewer i Evans (1962) wykazali obecność witaminy  $\text{B}_{12}$  w korzeniach *A. rubra*, które zawierają 62 nmole  $\text{B}_{12}$  na 1 g świeżej masy brodawek. Russell i inni (1968) stwierdzili, że dodatek soli kobaltu do roztworu (0,05 ppm) powoduje wzrost suchej masy i zawartości azotu u siewek *A. rubra*, a także wzrost zawartości  $\text{B}_{12}$  w brodawkach.



Traktowanie siewek olszy roztworem  $\text{Cu}(\text{SO}_4)_2$  również stymuluje wzrost i wiązanie azotu w brodawkach korzeniowych (Bond, Hewitt 1967).

#### CZYNNIKI GLEBOWE I ZWIĄZKI AZOTOWE A ROZWOJ BRODAWEK KORZENIOWYCH

Olsza rośnie często na glebach zakwaszonych. Doświadczalnie wykazano (Bond, Fletcher 1954), że zawiązywanie brodawek u olszy zachodzi przy  $\text{pH}=4,2$ , a przy nieznacznym nawożeniu azotem nawet przy  $\text{pH}=3,3$ . Optymalne  $\text{pH}$  dla zawiązywania symbiozy w pierwszym sezonie wzrostu, w środowisku ubogim w azot, wynosi w przypadku *A. glutinosa* 4,2 - 5,4 (Bond, Fletcher 1954).

Dodatek związków amonowych w stężeniu 10 mg  $\text{NH}_4$  — N/1 l zwiększa wagę brodawek korzeniowych olszy, zaś dawki 50 i 100 mg  $\text{NH}_4$  — N/1 l powodują hamowanie rozwoju brodawek (MacConnell, Bond 1957).

Asymilacja atmosferycznego azotu w brodawkach korzeniowych zależy od poziomu soli amonowych w korzeniach. Zwiększone dawki azotanów hamowały tworzenie się brodawek korzeniowych i wiązanie azotu, lecz dawały lepszy wzrost siewek (Pizzelle 1965). Zanikanie zdolności wiązania atmosferycznego azotu obserwowane przez Beckinga (1975) w kulturze *in vitro* mogło być spowodowane obecnością łatwo dostępnymi związków azotowych znajdujących się w zbyt dużym stężeniu w podłożu.

Istnieje kilka hipotez tłumaczących hamujące działanie nawożenia azotem mineralnym na wiązanie azotu atmosferycznego w brodawkach korzeniowych olszy. Według Maze (Nowotny-Mieczyska 1976) wolny azot pobrany przez brodawki korzeniowe i zredukowany tam do poziomu  $\text{NH}_3$  łączy się z produktami częściowego rozpadu węglowodanów, które z nadziemnych części roślin przemieszczają się do korzeni. Jeżeli jednak roślinie dostarczy się równocześnie azot w postaci związków mineralnych (np.  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ), wtedy łączy się on z produktami roz-

padu węglowodanów, pozbawiając w ten sposób organizm symbiotyczny energii. W zjawisku hamowania symbiotycznego wiązania  $N_2$  przez azot związany najważniejszą rolę odgrywa stosunek C : N w roślinie. Gdy stosunek ten jest duży, wtedy roślina może korzystać z azotu związanego bez szkody dla symbiozy. W miarę zmniejszania się tego stosunku (np. na skutek słabej fotosyntezy lub zbyt dużej dawki mineralnego azotu) proces wiązania wolnego azotu ulega zahamowaniu.

#### WYMIANA ZWIĄZKÓW AZOTOWYCH POMIĘDZY BRODAWKAMI KORZENIOWYMI A LIŚCIAMI

Sprawność układu symbiotycznego olszy zależy od eksportu produkowanych przez bakterie związków azotowych z brodawek korzeniowych do pędu i liści oraz węglowodanów produkowanych w liściach do brodawek korzeniowych. Pierwszym stabilnym produktem wiązania azotu w brodawkach korzeniowych jest amoniak, który z ornityną tworzy karbomylo-N-cytrulinę przekształcaną następnie w cytrulinę, która jest nośnikiem grup aminowych (Leaf i in. 1958). W okresie intensywnego wiązania azotu 80–90% związanego azotu przechodzi z brodawek do korzeni gospodarza (Stewart 1962). Po 6 godzinach od momentu podania gazowego  $^{15}N$  można go już wykryć w pędach. Obrączkowanie pędu nie hamuje transportu znakowanych  $^{15}N$  produktów asymilacji azotu; przypuszcza się na tej podstawie, że transport odbywa się w drewnie z prądem transpiracyjnym (Bond 1956). W naturalnym oświetleniu jak stwierdził Wheeler (1969), najintensywniejsze wiązanie azotu ma miejsce w południe, gdy fotosynteza w liściach osiąga najwyższe natężenie i transport asymilatów w roślinie jest najszybszy.

Jak podaje Pate (1976) import węglowodanów (głównie sacharozy) do brodawek korzeniowych jest czynnikiem regulującym szybkość wiązania w nich azotu. Wskazują na to następujące dane:

1. Zaciemnienie roślin lub odcięcie pędu powoduje zmniejszenie się szybkości wiązania azotu — w dzień gdy transport wę-

glowodanów do brodawek jest szybszy, wiązanie azotu jest wyższe aniżeli w nocy, gdy szybkość transportu zmniejsza się;

2. Czynniki zwiększające ilość węglowodanów w pędzie (wzrost intensywności światła, opryskiwanie liści roztworem cukru, wzrost stężenia CO<sub>2</sub> wokół fotosyntetyzującego liścia) stymulują proces wiązania azotu w brodawkach. Gdy wiązanie azotu w brodawkach osiąga maksimum, poziom cukrów w liściach obniża się (Wheeler 1969). Autor ten wykazał również że komórki wokół tkanki zawierającej symbionta spełniają rolę rezerwuarów <sup>14</sup>C — znakowanych asymilatów (Wheeler 1971).

Jak z powyższego widać asymilacja azotu w brodawkach korzeniowych uzależniona jest od aktywności fotosyntezy w liściach i odwrotnie — wzrost olszy oraz produkcja materii organicznej zależą od sprawności symbiozy w brodawkach korzeniowych.

## FAZA GENERATYWNA W ONTOGENEZIE

### OKRES MŁODOCIANY I DOJRZAŁOŚĆ

Olsze zaliczane są do gatunków jednopiennych, chociaż Sokolov (1964) znalazł u *A. viridis* w Karelii osobniki żeńskie, męskie i hermafrodytyczne. Faza generatywna w ontogenezie olsz rozpoczyna się dość wcześnie. *A. glutinosa* w Wielkiej Brytanii zaczyna kwitnąć w wieku 5 - 10 lat (Matthews 1955). W Polsce osobniki olszy czarnej rosnące na otwartej przestrzeni kwitną pierwszy raz w wieku około 10 lat, natomiast w drzewostanie — w wieku 25 - 30 lat (Tomanek 1966). *A. incana* w europejskiej części Związku Radzieckiego zaczyna kwitnąć w wieku 7 - 10 lat (Šimanjuk 1964, Misnik 1976), a *A. viridis* w Karelii — w wieku 25 - 30 lat, przy czym faza generatywna u poszczególnych pędów głównych krzewu trwa 15 - 30 lat (Koliščuk 1965).

Zapoczątkowanie kwitnienia powoduje u *A. viridis* zmiany morfologiczne i fizjologiczne. Kwiaty męskie i żeńskie rozwijają się z pąków wierzchołkowych długopędów, co prowadzi do zmia-

ny typu wzrostu z monopodialnego na sympodialny. Zawiązywanie kwiatów powoduje również zmniejszenie liczby liści na długopędach i tym samym osłabienie fotosyntezy, co roślina kompensuje zwiększeniem liczby liści na krótkopędach (K o l i ś c u k 1965).

#### OKRESOWOŚĆ KWITNIENIA I OBRADZANIA NASION

Między kolejnymi latami występują znaczne różnice w obfitości pylenia. W Wielkiej Brytanii w ciągu wieloletnich obserwacji chwymano od 44 do 1307 ziaren pyłku *A. glutinosa* na 5 cm<sup>2</sup> w ciągu roku (H y d e 1963). Równocześnie jednak stwierdzono, że wahania te nie były wyraźnie skorelowane z wielkością urodzaju nasion (H y d e 1963).

Zdaniem niektórych autorów olsze kwitną i obradzają nasiona corocznie i obficie (Sokołowski 1921, la Bastide, van Vredenburg 1970). Obserwacje innych badaczy wskazują jednak, że mimo corocznego obradzania obfite urodzaje nasion zdarzają się co 2-3 lata (Matthews 1955, Kapustinskaite 1960, Tomanek 1966). Zdaniem Šimanjuka (1964) o ile *A. incana* obradza nasiona obficie co roku, o tyle u *A. glutinosa* obfite urodzaje nasion występują co 1-3 lata.

Stwierdzono, że podobnie jak i u innych gatunków drzew, również u olsz warunki klimatyczne wywierają wpływ na obradzanie nasion. W Holandii urodzaj nasion u *A. glutinosa* był wyraźnie skorelowany z pogodą sierpnia i września roku poprzedzającego kwitnienie oraz pogodą sierpnia na dwa lata przed kwitnieniem (la Bastide, van Vredenburg 1970).

#### SEZONOWY PRZEBIEG KWITNIENIA

Zawiązywanie i formowanie kwiatów u olsz odbywa się w roku poprzedzającym kwitnienie. Ustinova (1958) podaje, że u *A. glutinosa* w Moskwie kwiaty męskie zawiązują się w drugiej połowie czerwca, a w końcu lipca odbywają się już mejozy

w komórkach macierzystych pyłku. Zarówno u *A. glutinosa*, jak i u *A. incana* kwiaty męskie i żeńskie wykształcają się w pełni i są dobrze widoczne już jesienią (Tomaneck 1966).

Nieco inaczej przebiega rozwój kwiatów u *A. viridis*. Kwiaty męskie u tego gatunku są również widoczne jesienią, natomiast kwiaty żeńskie ukazują się z pąków dopiero wiosną, w czym gatunek ten upodabnia się do brzoź (Tomaneck 1966).

*A. glutinosa* i *A. incana* kwitną wczesną wiosną, przed rozwojem liści, a pora rozpoczynania kwitnienia związana jest wyraźnie z temperaturą okresu poprzedzającego (Scamoni 1956) i położeniem geograficznym. Najwcześniej, bo na przełomie lutego i marca, obserwuje się kwitnienie u *A. glutinosa* w Wielkiej Brytanii (Matthews 1955). W Eberswalde (NRD) kwitnienie zaczyna się średnio na początku trzeciej dekady marca, przy czym w niektórych latach występują znaczne odchyłki od tego terminu: w ciągu 21 lat obserwacji najwcześniej notowano kwitnienie 11 lutego, a najpóźniej 15 kwietnia (Scamoni 1956). Również w marcu kwitnie *A. glutinosa* w Rumunii (Tomescu i in. 1967) oraz w Polsce (Bremówna, Sobolewska 1938). Później na przełomie marca i kwietnia oraz w kwietniu kwitną *A. glutinosa* i *A. incana* w Związku Radzieckim (Ustinova 1958, Šimanjuk 1964, Misnik 1976).

Pewną odmiennością procesu kwitnienia charakteryzuje się *A. viridis*, która kwitnie równocześnie z rozwojem liści, tzn. na przełomie maja i czerwca, podobnie jak brzozy (Tomaneck 1966).

Instytut Dendrologii PAN  
ul. Parkowa 5  
63-120 Kórnik

#### LITERATURA

- Asakawa Y. 1971. Chemical constituents of *Alnus sieboldiana* (*Betulaeae*). Isolation and structure of flavonoids and stilbenes. Bull. Chem. Soc. Jap. 44(10): 2761 - 2766.

- Bastide la J. G. A., van Vredenburch C. L. M. 1970. The influence of weather conditions on the seed production of some forest trees in the Netherlands. Meded. Bosbouwproefstation, nr 102.
- Becking J. H. 1961a. Molybdenum and symbiotic nitrogen fixation by alder (*Alnus glutinosa* Gaertn.). Nature 192: 1204 - 1205.
- Becking J. H. 1961b. A requirement of molybdenum for the symbiotic nitrogen fixation in alder (*Alnus glutinosa* Gaertn.). Plant and Soil 12: 217 - 228.
- Becking J. H. 1962. Species differences in molybdenum and vanadium requirements and combined nitrogen utilization by *Azotobacteriaceae*. Plant and Soil 16: 171 - 201.
- Becking J. H. 1965. In vitro cultivation of alder root nodule tissue containing the endophyte. Nature 207: 885 - 887.
- Becking J. H. 1966. Interactions nutritionnelles plantes-actino-mycetes. Rapport General Ann. Inst. Pasteur (Paris), Suppl. 111: 295 - 302.
- Becking J. H. 1975. Root nodules in non-legumes. In the development and functions of roots. Ed. Torrey and Clarkson, Academic Press: 508 - 558.
- Bergey 1974. Manual of Determinative Bacteriology. 8th ed. Williams and Wilkins Co., Baltimore: 701 - 706.
- Bond G. 1956. Some aspects of translocation in root nodule plants. J. Exp. Bot. 7: 387 - 394.
- Bond G. 1960. Inhibition and nitrogen fixation in non legume root nodules by hydrogen and carbon monoxide. J. Exp. Bot. 11: 91 - 97.
- Bond G. 1961. The oxygen relation of nitrogen fixation in root nodules. Z. All. Mikrobiol. 1: 93 - 99.
- Bond G., Fletcher W. M. 1954. The development and function of the root ovules of *Alnus*, *Myrica* and *Hippophae*. Plant and Soil 5 (4): 309 - 323.
- Bond G., Hewitt E. J. 1962. Cobalt and the fixation of nitrogen nodules of *Alnus* and *Causarina*. Nature 195: 94 - 95.
- Bond G., Hewitt E. J. 1967. The significance of copper for nitrogen fixation in nodulated *Alnus* and *Causarina* plants. Plant and Soil 27: 447 - 449.
- Bremówna M., Sobolewska M. 1938. Studia nad opadem pyłków drzew leśnych w Puszczy Białowieskiej. Sylwan 56 (3 - 4): 121 - 139.
- Chalupa V. 1965a. Influence of the reduction of leaves on the beginning and course of radial growth. Comm. Inst. For. Czechoslov. 4: 61 - 73.
- Chalupa V. 1965b. Prubéh tloustkoveho rustu u lesnich dřevin. Prace vyzk. ust. lesn. ČSSR, 30: 187 - 223.

- Chalupa V. 1969. Počatek, trvani a ukončeni vegetačni činnosti u lesních dřevin. Prace vyzk. ust. lesn. hosp. mysl. 37: 41 - 68.
- Crocker R. L., Major J. 1955. Soil development in relation to vegetation and surface age at Glacier Bay, Alaska. J. Ecol. 43: 427 - 448.
- Daly G. T. 1966. Nitrogen fixation by nodulated *Alnus rugosa*. Can. J. Bot. 44: 1607 - 1621.
- Danilewicz K. 1965. Symbiosis in *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. Acta Microbiol. Pol. 14: 321 - 326.
- Dilworth M. K. 1966. Acetylene reduction by nitrogen-fixing preparations from *Clostridium pasteurianum*. Bioch. Biophys. Acta 127: 285 - 294.
- Dullaart J. 1970. The auxin content of root nodules and roots of *Alnus glutinosa*. J. Exp. Bot. 21: 975 - 984.
- Eagles C. F., Wareing P. F. 1963. Dormancy regulators in woody plants. (Experimental induction of dormancy in *Betula pubescens*). Nature 199: 874 - 875.
- Favre-Bonvin J., Jay M., Wollenweber E. 1978. A novel stilbene from bud excretion of *Alnus viridis*. Phytochem. 17: 821 - 822.
- Freudenberg K., Weinges K. 1959. Lignane des Lärchen und Erlenholzes. Tetrahedron Letters 17: 19 - 22.
- Hegnauer R. 1964. Chemotaxonomie der Pflanzen. T. III. Birkhäuser Verlag.
- Henson I. E. 1978. Types, formation, and metabolism of cytokinins in leaves of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. J. Exp. Bot. 29 (111): 935 - 951.
- Henson I. E., Wheeler C. T. 1977a. Hormones in plants bearing nitrogen-fixing root nodules. I. Distribution and seasonal changes in levels of cytokinins in *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. J. Exp. Bot. 28 (102): 205 - 214.
- Henson I. E., Wheeler C. T. 1977b. II. Partial characterisation of cytokinins from root nodules of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. J. Exp. Bot. (108): 1076 - 1086.
- Henson I. E., Wheeler C. T. 1977c. III. Metabolism of (8-<sup>14</sup>C) zeatin in root nodules of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. J. Exp. Bot. 28 (106): 1087 - 1098.
- Henson I. E., Wheeler C. T. 1977d. IV. Cytokinin transport from the root nodules of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. J. Exp. Bot. 28 (106): 1099 - 1110.
- Hewitt E. J., Bond G. 1961. Molybdenum and the fixation of nitrogen in *Causarina* and *Alnus* root nodules. Plant and Soil 14: 159 - 175.
- Hewitt E. J., Bond G. 1966. The cobalt requirement of non-legume root nodule plants. J. Exp. Bot. 17: 480 - 491.

- Hocking T. J., Hillman J. R. 1975. Studies on the role of abscisic acid in the initiation of bud dormancy in *Alnus glutinosa*. *Planta* 125: 235 - 242.
- Hyde H. A. 1963. Pollen-fall as a means of seed prediction in certain trees. *Grana Palynologica* 4(2): 217 - 230.
- Kairiukštis L. A., Juodval'kis A. I. 1972. Osobennosti sezonnogo formirovaniya godičnych sloev v svjazi s klimatičeskimi uslovijami. *Dendroklimatochronologija i radiouglerod*, Kaunas: 27 - 31.
- Kapustinskaite T. 1960. Juodalksnyu atsiželdinimas ir jam pagerinti priemonės Lietuvos TSR. *Liet. Mišku Ukio Moksl. Tyr. Inst. Darb.* 5: 89 - 152. *For. Abs.* 1962, 23: nr 34 - 20.
- Karrer W. 1958. *Konstitution und Vorkommen der organischen Pflanzenstoffe*. Birkhäuser Verlag, Basel und Stuttgart.
- Kliwer M., Evans H. J. 1962. B<sub>12</sub> coenzyme content of the nodules from legumes, alder and *Rhizobium meliloti*. *Nature* 194: 108 - 109.
- Koliščuk V. G. 1965. Morfogenez i dinamika prirosta zelenoj ol'chi (*Alnus viridis* DC.) v ukrainskich Karpatach. *Bjull. Mosk. Obšč. Isp. Prir. (Otd. Biol.)* 70 (1): 103 - 110.
- Ladefoged K. 1952. The periodicity of wood formation. *Biol. Skrifter Kgl. Dansk Videnskabernes Selskab* 7 (3).
- Lawrence D. B. 1958. Glacier and vegetation in southeastern Alaska. *Amer. Sci.* 46: 89 - 122.
- Leaf G., Gardner I. C., Bond G. 1958. Observations of the composition and metabolism of the nitrogen-fixing root nodules of *Alnus*. *J. Exp. Bot.* 9: 320 - 331.
- Leike H. 1967. Effect of gibberellic acid and kinetin on resting buds of various woody species. *Flora* 158 A (3): 351 - 362.
- MacConnell J. T., Bond G. 1957. A comparison of the effect of combined nitrogen on nodulation in non-legumes and legumes. *Plant and Soil* 8: 378 - 388.
- Matthews J. D. 1955. Production of seed by forest trees in Britain. *For. Comm. Rep. For. Res. for year ended March 1954*: 64 - 78.
- Misnik G. E. 1976. Sroki i charakter cvetenija derev'ev i kustarnikov. *Naukova dumka*, Kiev.
- Nowotny-Mieczyska A. 1976. Fizjologia mineralnego żywienia roślin. *PWRiL*, Warszawa.
- Owington J. D. 1956. Studies on the development of woodland conditions under different trees. IV. The ignition loss, water, carbon and nitrogen content of the mineral soil. *Ecol.* 44: 171 - 179.
- Pate J. S. 1976. Transport in symbiotic systems fixing nitrogen. In *Transport in Plants. II. Part B. Tissues and organs*. Eds. Lüttge U., Pitman M. G., Springer Verlag, Berlin—Heidelberg—New York: 278 - 303.



- Pizelle G. 1965. Mineral nitrogen and nodulation of *Alnus glutinosa* observation on plants grown with divided root systems. Bull. de l'Ecole Nationale Super. Agronom. Nancy 7 (1): 55 - 63.
- Pizelle G. 1975. Seasonal variation in the nitrogenase activity of root nodules in *A. glutinosa*, *A. incana* and *A. cordata*. CRNS ASF D. 281 (23): 1829 - 1832.
- Plotho O. 1942. Die Synthese der Knölchen an den Wurzeln der Erle. Arch. Mikrobiol. 12: 1.
- Reuter G., Wolfgang H. 1954. Vergleichende Untersuchungen über den Charakter der Stickstoffverbindungen in Blutungssäften bei Betulaceen und anderen Holzarten. Flora 142: 146 - 155.
- Rodrigues-Barrueco C., Bond G. 1968. Nodule endophytes in the genus *Alnus*. In Biology of Alder. Eds. J. M. Trappe, J. F. Franklin, R. F. Tarrant and G. M. Hensen, Pacific Northwest Forest and Range Exp. Sta. Portland, Oregon: 259 - 271.
- Rodrigues-Barrueco C., Bermudes De Castro F. 1973. Cytokinin-induced pseudonodules on *Alnus glutinosa*. Physiol. Plant. 29: 277 - 280.
- Russell S. A., Evans H. J., Mayeux P. 1968. The effect of cobalt and certain other elements on the growth and vitamin B<sub>12</sub> content of *Alnus rubra*. In Biology of Alder. Eds. J. M. Trappe, J. F. Franklin, R. F. Tarrant and G. M. Hensen, Pacific Northwest Forest and Range Exp. Sta. Portland Oregon:
- Sarvas R. 1974. Investigations on the annual cycle of development of forest trees. II. Autumn dormancy and winter dormancy. Comm. Inst. For. Fenn. 84: 1.
- Scamoni A. 1956. Beobachtungen über den Pollenflug der Waldbäume in Eberswalde. Z. Forstgenetik 4 (4 - 5): 113 - 122.
- Schöllhorn R., Burris R. H. 1966. Study of intermediates in nitrogen fixation. Fed. Proc. 25: 710.
- Smirnov V. V. 1967. Vlijanie gibberellina na godičnyj i sezonnyj prirost nekotorych drevesnych porod. Lesovodenie 4: 55 - 63.
- Sokolov S. J. 1964. Rost i razvitie razvetvlenogo godičnogo pobega u seroj ol'chi (po nabludenijam 1958 g.). Bot. Žurn. 49 (6): 799 - 812.
- Sokołowski S. 1921. Hodowla lasu. Lwów—Warszawa.
- Steward W. D. P. 1962. A quantitative study of fixation and transfer of nitrogen in *Alnus*. J. Exp. Bot. 13: 250 - 256.
- Šimanjuk A. P. 1964. Biologia drevesnych i kustarnikovyh porod SSSR. Izd. Proveščeniye, Moskwa.
- Tomanek J. 1966. Botanika leśna. PWRiL, Warszawa.
- Tomescu A. i in. 1967. Cercetari fenologice la principalele specii forestiere autohtone din Republica Socialista Romania. Inst. Cercetari

- Silvice. Centrul. de Documentare Tehnica pentru Economia Forestiera. Bucuresti.
- Ustinova E. I. 1958. O ritme razvitija cvetočnych poček u listvennych drevesnych porod i proleski (*Scilla sibirica* Andr.). Bjull. Mosk. Obšč. Isp. Prir. (Otd. Biol.) 63 (6): 107 - 115.
- Vaartaja O. 1954. Photoperiodic ecotypes of trees. Can. J. Bot. 32 (3): 392 - 399. For. Abs. 1955, 16: nr 201.
- Virtanen A. I. Investigations on nitrogen fixation by the alder. II. Associated cultur of spruce and inoculated alder without combined nitrogen. Physiol. Plant. 10: 164 - 169.
- Virtanen A. I. 1962. On the fixation of molecular nitrogen in nature. Comm. Inst. For. Fenn. 55: 22.
- Voigt G. K., Steucek G. L. 1969. Nitrogen distribution and accretion in alder ecosystem. Soil. Sci. Am. Pro. 33: 946 - 949.
- Wheeler C. T. 1969. The diurnal fluctuation in nitrogen fixation in the nodules of *Alnus glutinosa* and *Myrica gale*. New Phytol. 68: 675 - 682.
- Wheeler C. T. 1971. The causation of the diurnal changes in nitrogen fixation in the nodules of *Alnus glutinosa*. New Phytol. 70: 487 - 495.
- Wintersteiner O., Krakower G., Moore M. 1965. Lupenone and 18  $\alpha$ -oleanan-19  $\alpha$ -ol-3-one from bark of *Samadera indica*. J. Organ. Chem. 30 (8): 2847 - 2849.
- Wollenweber E. 1974a. Zum Vorkommen von  $\delta$ -amyrenone in *Alnus* Arten. Z. Naturforsch. 29c: 362 - 363.
- Wollenweber E. 1974. b. Flavonoides from *Alnus crispa*, *A. japonica*, *A. koehnei* and *A. sinuata*. Phytochem. 13: 2318 - 2319.
- Wollenweber E. 1975. Flavonoidmuster im Knospenexkret der Betulaceen. Biochemical Systematics and Ecology 3: 47 - 52.
- Wollenweber E., Egger K., Schnepf E. 1971. Flavanoid aglycones in the buds of *Alnus* sp. and the fine structure of the gland cells. Biochem. Physiol. Pflanzen 162 (2): 193 - 202.
- Wollenweber E., Jay M., Favre-Bonvin J. 1974. Flavonoid compounds from *Alnus viridis*. Phytochemistry 13: 2618 - 2619.
- Zavitkovski J., Newton M. 1968. The effect of combined nitrogen and organic matter on nodulation and nitrogen fixation of red Alder. In Biology of Alder. Eds. J. M. Trappe, J. F. Franklin, R. F. Tarrant and G. M. Hansen, Pacific Northwest Forest and Range Exp. Sta. Portland, Oregon: 209 - 224.
- Ziegler H., Schnabel H. 1961. Citrullin im Phloemsaft. Flora 150: 306.
- Zumer M. 1969. Vekstrytme hos noen skogstraer i forskjellige høydelag. Med. Norges Landbrukshøgskole 48 (5).

## PHYSIOLOGY OF GROWTH AND DEVELOPMENT

## Summary

The pattern of growth during the vegetative period and effects on it of photoperiod and growth regulators are presented. Specific substances occurring in alders are characterized. Physiology of nitrogen fixation is discussed with regard to the role of growth regulators, microelements and some soil factors. Describing the generative cycle the following stages are discussed: juvenility and maturity, the course of flowering and periodicity of seed crops.



Olsza czarna w Arboretum Kórnickim (Fot. K. Jakusz)

Zimmer M. 1959. Veikstrymie hos noen skogtrær i forskjellige høydeleg.  
Med Norges Landbruksforskning 45 (3).