



Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Wydział Rolniczo – Ekonomiczny

Małgorzata Kołton

Nr albumu: 54494

***Stymulacja procesu kiełkowania nasion łubinu
wąskolistnego w warunkach chłodowych***

Praca magisterska
na kierunku Rolnictwo, specjalność Agrobiologia

*Praca magisterska wykonana w Katedrze Fizjologii Roślin
pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Agnieszki Płażek*

KRAKÓW 2016

*Składam najserdeczniejsze podziękowania
Pani prof. dr hab. inż. Agnieszce Płażek
za poświęcony czas oraz cenne rady,
a także za wsparcie i wyrozumiałość
w trakcie pisania niniejszej pracy.*

SPIS TREŚCI:

1. WSTĘP	4
1.1. Wpływ chłodu na proces wzrostu i rozwoju roślin.....	5
1.2. Przebieg procesu kiełkowania nasion	7
1.3. Rola dehydrogenaz w procesie oddychania	11
1.4. Charakterystyka łubinu wąskolistnego.....	12
1.5. Biostymulatory wykorzystywane w nowoczesnym rolnictwie.....	16
2. CEL PRACY.....	19
3. MATERIAŁ I METODY	20
3.1. Materiał nasienny	20
3.2. Ocena wigoru kiełkowania nasion	20
3.3. Ocena wpływu elektrolitów z komórek nasion	20
3.4. Analiza aktywności dehydrogenaz biorących udział w procesie oddechowym	21
3.5. Analiza aktywności α -amylazy w kiełkujących nasionach.....	21
3.6. Analiza statystyczna.....	22
4. WYNIKI.....	22
4.1. Charakterystyka wszystkich badanych odmian.....	22
4.2. Grupa I – słabo kiełkujące nasiona	25
4.3. Grupa II – dobrze kiełkujące nasiona.....	28
4.4. Grupa III – bardzo dobrze kiełkujące nasiona	31
5. DYSKUSJA.....	33
6. WNIOSKI	36
7. LITERATURA	37

1. WSTĘP

Kluczowym etapem w procesie kiełkowania nasion jest pęcznienie nazywane imbibicją, które odbywa się bardzo szybko. Pobór wody odbywa się przez związki hydrofilowe, które budują ściany komórkowe i cytoplazmatyczne. Temperatura ma znaczący wpływ na tempo tego procesu: im wyższa, tym szybciej nasiona wchłaniają wodę. Pęcznienie w chłodzie mimo, że przebiega wolniej, jest bardziej niebezpieczne niż w wyższej temperaturze. Niezaadaptowane do chłodu membrany komórkowe mogą nie wytrzymać ciśnienia wody i mogą zostać przerwane. O tym zjawisku decyduje głównie skład lipidowy membran. Im więcej reszt kwasów tłuszczowych nasyconych zawiera błona komórkowa, tym bardziej jest ona narażona na rozerwanie podczas pęcznienia w niskiej temperaturze. Błony te tracą również zdolność do selektywnego poboru jonów. Wynikiem tego procesu jest szybki wypływ jonów i roztworów metabolitów o niskiej masie cząsteczkowej z komórek [Bewleya 1997]. Pęcznienie w chłodzie jest szczególnie niebezpieczne, gdy zawartość wody w suchych nasionach nie przekracza 10% suchej masy [Pollock i wsp. 1967]. Uszkodzeniu mogą ulec zwłaszcza błony nasion silnie wysuszonych, a zawierających dużo białek, np. nasiona soi czy łubinów. Uszkodzenia spowodowane szybkim napływem wody do komórek mogą być ograniczone, jeśli nasiona zostaną wcześniej nawilżone w wyższej temperaturze [Dubert i Filek 1995]. Inną metodą adaptacji błon cytoplazmatycznych do chłodu jest stopniowa aklimatyzacja w zimnie, która inicjuje przebudowę błon komórkowych, a w szczególności zmiany w składzie kwasów tłuszczowych. Reorganizacja błony wymaga pewnego czasu w niższej temperaturze i może trwać kilka dni [Steponkus 1984]. W praktyce jednak, wysiew nasion odbywa się bezpośrednio do chłodnej gleby, jak to na przykład zachodzi w przypadku łubinu wąskolistnego.

Proces kiełkowania jest kontrolowany przez wiele zewnętrznych czynników środowiskowych, jak również przez regulatory wzrostu, zwłaszcza gibereliny (GA) i kwas abscysynowy (ABA). Proces kiełkowania zależy od stosunku pomiędzy GA i ABA. Gibereliny przerywają spoczynek i indukują ekspresję genów kodujących takie enzymy, jak endo- β -1,3- β -glukanazy, 1,4-endohydrolazy mannanu, a w ziarnie, gromadzącym zwłaszcza skrobię - α -amylazy [Bewleya 1997, Lee i wsp. 2002]. Enzymy te hydrolizują bielmo i niwelują hamujące działanie ABA na wzrost zarodków [Bewleya 1997]. Innym rodzajem związków inicjujących proces kiełkowania nasion, a zwłaszcza przerywające spoczynek nasion są karrikininy. Są one zdefiniowane chemicznie jako rodzina regulatorów wzrostu roślin odkrytych w dymie ze spalania materiału roślinnego [Water and Smith 2013]. Działanie

indukujące proces kiełkowania wykazuje również woda przepuszczona przez dym, nazywana wodą dymną.

W Polsce w ostatnich latach obserwuje się tendencje zwiększenia areału uprawy roślin strączkowych. Rolnicy zaniechali uprawy tej grupy roślin ze względu na ich dużą wrażliwość na niekorzystne warunki środowiska oraz zawodność plonowania. Ponadto, Polska sprowadza wysokobiałkowe pasze dla zwierząt z zagranicy, co jest bardzo kosztowne. Pasze te zawierają głównie białko transgenicznej soi. Z tych względów zostały stworzone specjalne programy, których celem jest reaktywowanie uprawy roślin strączkowych jako cennego źródła białka. W programach tych zaangażowane są firmy hodowlane oraz placówki naukowe, których zadaniem jest dostarczenie rolnikom nowych odmian o większej tolerancji na chłód, suszę i choroby. Główny nacisk został położony na uprawę łubinów. Uprawa tych roślin korzystnie wpływa na strukturę gleby ze względu na ich długi system korzeniowy, zdolność do absorpcji azotu, jak również wysoką zawartość białka [Wolko i wsp. 2011]. Wszystkie te cechy wpływają na pozytywną ich ocenę jako rośliny uprawnej, pozostawiającej po sobie bardzo dobre stanowisko dla roślin następczych.

1.1. Wpływ chłodu na proces wzrostu i rozwoju roślin

Rośliny występują w różnych rejonach świata, przez co zajmują tereny o różnych strefach klimatycznych. Różnice klimatyczne dotyczą temperatury, ilości opadów, a także stopnia nasłonecznienia. W wyniku ciągłych zmian klimatu, rośliny muszą adaptować się do warunków panujących na terenie ich występowania. Polska znajduje się w strefie klimatu umiarkowanego, a zatem rośliny u nas uprawiane są narażone na różne czynniki stresowe (abiotyczne i biotyczne). Jednym z takich czynników jest stres termiczny, wywołany niską lub wysoką temperaturą [Starck 2015].

Stres wywołany niską temperaturą (stres chłodu) eliminuje lub znacznie ogranicza wzrost roślin oraz ich plonowanie w warunkach klimatu umiarkowanego. Biorąc pod uwagę zakres temperatury letalnej oraz mechanizmy odpowiadające za odporność na niskie temperatury możemy wyróżnić trzy kategorie roślin:

- Rośliny wrażliwe na chłód, które ulegają poważnym uszkodzeniom w temperaturach wyższych od temperatury zamarzania wody tj. 5°C, 10°C a nawet 15°C. Przyczyną uszkodzeń są zmiany w strukturze błon, zaburzenia w dostawie energii oraz

transporcie metabolitów. Do grupy tej zaliczamy glony zasiedlające ciepłe wody oceanów, niektóre grzyby, większość roślin zielnych oraz niektóre rośliny drzewiaste klimatu gorącego.

- Rośliny wrażliwe na zamarzanie, tolerujące obniżenie temperatury tylko do momentu, w którym rozpoczyna się krystalizacja wody w tkankach. Są w stanie przeżyć spadek temperatury dzięki mechanizmom, które powodują opóźnianie zamarzania. Mechanizmy te obniżają temperaturę krystalizacji wody oraz zwiększają zakres przechłodzenia wody komórkowej. Przykładem takich roślin są glony zasiedlające chłodne wody oceanów, glony wód słodkich, rośliny drzewiaste strefy tropikalnej oraz subtropikalnej, a także różne rośliny klimatu umiarkowanego.
- Rośliny tolerujące zamarzania są zdolne przetrwać pozakomórkową krystalizację wody oraz związane z tym zjawiskiem odwodnienie komórek. Do tej grupy możemy zaliczyć niektóre glony słodkowodne, glony ze strefy pływów, mchy wszystkich stref klimatycznych, a także dwu- i wieloletnie rośliny lądowe, które zasiedlają tereny z mroźnymi zimami [Kacperska 2015].

Szybkość powstawania uszkodzeń oraz ich zakres zależą od temperatury oraz czasu jej działania. Bardzo szkodliwy jest nagły spadek temperatury tzw. szok termiczny. Zakres uszkodzeń jest tym większy, im niższa jest temperatura i dłuższy czas jej działania. Krążenie cytoplazmy i procesy fotosyntetyczne najszybciej ulegają odwracalnym zakłóceniom. Z kolei uszkodzenia nieodwracalne najszybciej pojawiają się w błonach tylakoidów. Inne błony takie jak plazmolema i tonoplast, ulegają uszkodzeniom po dłuższym czasie ekspozycji i są to uszkodzenia nieodwracalne. Najbardziej wrażliwa na działanie niskiej temperatury jest błona tylakoidów, podobnie jak pod wpływem innych stresów, uszkodzeniu ulega przede wszystkim fotoukład II. Silna radiacja występująca podczas działania chłodu, bądź zaraz po nim wzmaga uszkodzenia oraz opóźnia ich naprawę, co jest wywołane zjawiskiem fotoinhibicji oraz fotooksydacyjną destrukcją chlorofilu [Kacperska 2015].

W odpowiedzi na obniżającą się temperaturę rośliny wrażliwe na chłód mogą zwiększyć odporność na ten stres, jednak pod warunkiem, że temperatura nie osiągnęła poziomu letalnego. Zwiększenie tej odporności następuje w wyniku przebudowy błon, dochodzi do udziału wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w fosfo- i galaktolipidach błon, a także do zwiększenia udziału lipidów, które zawierają duże grupy polarne (fosfatydyloetanoloamina i fosfatydylocholina). Dzięki biotechnologii i dotychczasowym osiągnięciom w zakresie tej dziedziny stało się możliwe zwiększenie stopnia nienasycenia

kwasów tłuszczowych w błonach roślin. Jest to spowodowane transformacją tych roślin genami desaturazy Δ^9 lub Δ^{11} , pochodzącymi z rośliny odpornej na chłód (np. ziemniak). Niemniej jednak ważną rolę w aklimatyzacji roślin do chłodu odgrywają hormony roślinne, przede wszystkim ABA i etylen [Kacperska 2015].

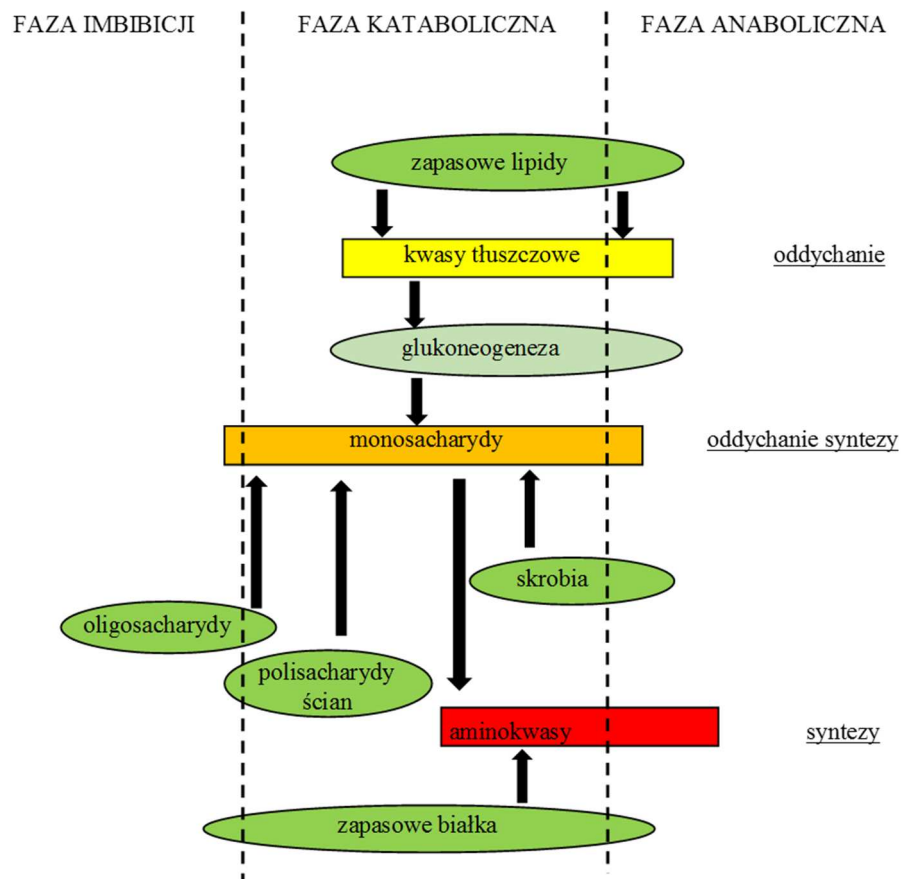
1.2. Przebieg procesu kiełkowania nasion

Podczas kiełkowania nasion dochodzi do wielu zmian strukturalnych oraz przemian metabolicznych. Zmiany te przebiegają w określonej kolejności i w skoordynowany sposób, zapewniając w ten sposób uruchomienie wszystkich podstawowych aktywności, które warunkują harmonijny rozwój i wzrost siewek. Procesami kardynalnymi (warunkującymi przebieg kiełkowania) są przemiany, które prowadzą do generowania energii metabolicznej oraz tworzenia substratów dla syntezy składników komórek rosnących siewek [Lewak 2015].

W trakcie kiełkowania wyróżnia się trzy fazy, które określane są jako faza imbibicji, kataboliczna oraz anaboliczna. Początkowy okres kiełkowania czyli faza imbibicji cechuje się gwałtownym wzrostem oddychania, któremu towarzyszy intensywne pobieranie wody. Z początku dominuje oddychanie beztlenowe (glikoliza powodująca gromadzenie etanolu), potem dochodzi do oddychania tlenowego. Dochodzi do stopniowego uruchamiania mitochondrialnego aparatu enzymatycznego, czyli „dojrzewania” mitochondriów. pojawiają się nowe mitochondria, a także często występują ograniczenia dostępu tlenu do zarodka (w wyniku nieprzepuszczalności łupiny). Oddychanie jest źródłem ATP oraz wysokiej wartości energii, która pojawia się bardzo wcześnie, zaraz po rozpoczęciu pęcznienia nasion [Lewak 2015].

W kiełkujących nasionach substratami oddychania są nagromadzone substancje zapasowe. Początkowo są to cukry proste, głównie fruktoza i glukoza, kolejne to oligosacharydy zapasowe (np. sacharoza), polisacharydy ściany komórkowej oraz podstawowe substancje zapasowe nasienia: polisacharydy, białka tkanek spichrzowych i lipidy. Rys. 1 przedstawia schematycznie kolejność uruchamiania substancji zapasowych podczas kiełkowania nasion. Do mobilizacji niektórych rezerw dochodzi już w fazie imbibicji, jednak staje się procesem dominującym dopiero w fazie katabolicznej. Ponieważ większość substancji zapasowych to związki wielkocząsteczkowe, pierwszym etapem mobilizacji jest rozszczepienie hydrolityczne do związków niskocząsteczkowych. Powstające

w skutek hydrolizy polisacharydów cukry proste służą jako substraty glikolizy oraz innych podstawowych szlaków katabolicznych takich jak np. oksydacyjny szlak pentozofosforanowy lub cykl kwasów trikarboksylowych, które generują substraty do syntezy i energię metaboliczną. Z kolei wiele produktów hydrolizy innych substancji zapasowych ulega dalszym przekształceniom, zanim będą mogły być użyte w katabolicznych procesach. Produktami końcowymi hydrolizy białek zapasowych są aminokwasy, służą one do syntezy nowych białek komórkowych w fazie anabolicznej oraz podczas wzrostu siewek. Hydroliza lipidów prowadzi do glicerolu i kwasów tłuszczowych, które muszą ulec degradacji do acetylokoenzymu A (Ac-CoA) na drodze β -oksydacji, zanim będą włączone do przemiany w cyklu Krebsa [Lewak 2015].



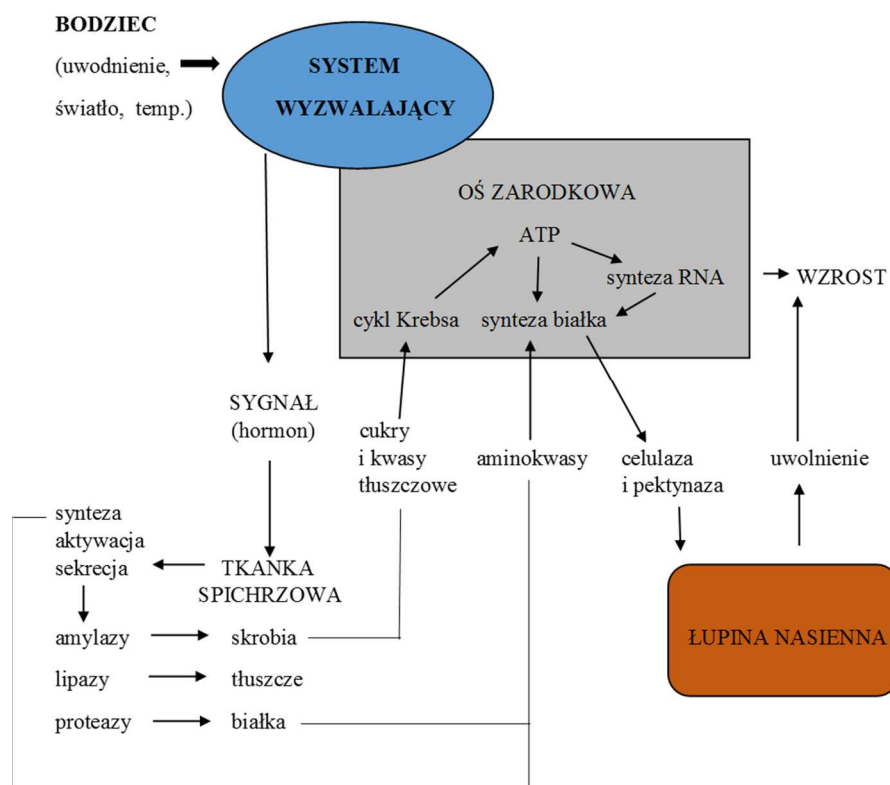
Rys. 1. Kolejność uruchamiania substancji zapasowych podczas kiełkowania nasion. Opracowanie własne na podstawie: Lewak S. 2015. Wzrost i rozwój roślin. Kiełkowanie nasion. W: Fizjologia roślin. Kopcewicz J., Lewak S. Wydawnictwo Naukowe PWN SA. Warszawa. str. 512.

Hydroliza substancji zapasowych, przemiany oraz wykorzystanie jej produktów wymagają aktywności enzymatycznych. Ważne jest by enzymy były aktywowane w odpowiedniej kolejności oraz miejscu (komórce, tkance lub w przedziale komórkowym). Niektóre białka enzymatyczne są syntetyzowane jeszcze w trakcie embriogenezy, aktywacji natomiast ulegają podczas uwodnienia nasienia. Przykładem są enzymy glikolityczne lub lipazy. Synteza białka w kiełkujących nasionach rozpoczyna się przed zakończeniem imbibicji, tuż przed uaktywnieniem procesu transkrypcji. Początkowo w tej syntezie uczestniczy mRNA, który jest nagromadzony w dojrzewającym nasieniu. Jego translacja jest hamowana przez kwas abscysynowy w ostatnim etapie dojrzewania. Fragment tego mRNA ulega aktywacji, jest to spowodowane uwodnieniem nasienia oraz zmniejszeniem stężenia ABA. Z kolei aktywacja zapasowego mRNA wymaga poliadenylacji poprzedzającej translację. Białka enzymatyczne syntetyzowane i aktywowane podczas pierwszej fazy kiełkowania powstają wskutek translacji tego mRNA. Zarówno transkrypcja odpowiedzialna za powstawanie zapasowego mRNA, jak również późniejsza transkrypcja genów jest wynikiem przełączenia podczas dehydratacji nasion z tzw. programu rozwojowego „embriogeneza” na program „kiełkowanie”.

Jak wspomniano, na przebieg kiełkowania mają duży wpływ regulatory wzrostu. Hormony roślinne spełniają swoją rolę poprzez regulację aktywności enzymów, które uczestniczą w najważniejszych procesach kiełkowania. Synteza α -amylazy (enzym hydrolizujący skrobię w bielmie ziarniaków zbóż) zachodzi w komórkach warstwy aleuronowej, która otacza bielmo. Z kolei giberelina, powstająca w czasie imbibicji, dyfunduje do warstwy aleuronowej i aktywuje tam aparat biosyntezy białka, a także indukuje transkrypcję genu α -amylazy. Transkrypcja tego genu jest hamowana przez kwas abscysynowy (ABA). Gibereliny umożliwiają również transport zsyntetyzowanego białka α -amylazy przez błonę komórek aleuronowych oraz jego wydzielanie do bielma. W bardzo podobny sposób giberelina aktywuje syntezę innych enzymów hydrolitycznych (nukleazy, proteazy). Synteza licznej grupy innych enzymów, które uczestniczą w kiełkowaniu, nie jest regulowana przez hormony, ale ich obecność stymuluje bądź hamuje aktywność wielu tych enzymów. Przykładowo cytokininy i gibereliny powodują aktywację liazy izocytrynianowej oraz lipazy [Lewak 2015].

Procesy metaboliczne zachodzą w różnych częściach nasienia. Hydroliza przebiega w tkankach spichrzowych, generowanie energii w zarodku lub osi zarodkowej, z kolei degradacja składników ścian komórkowych w łupinie nasiennej i tkankach spichrzowych.

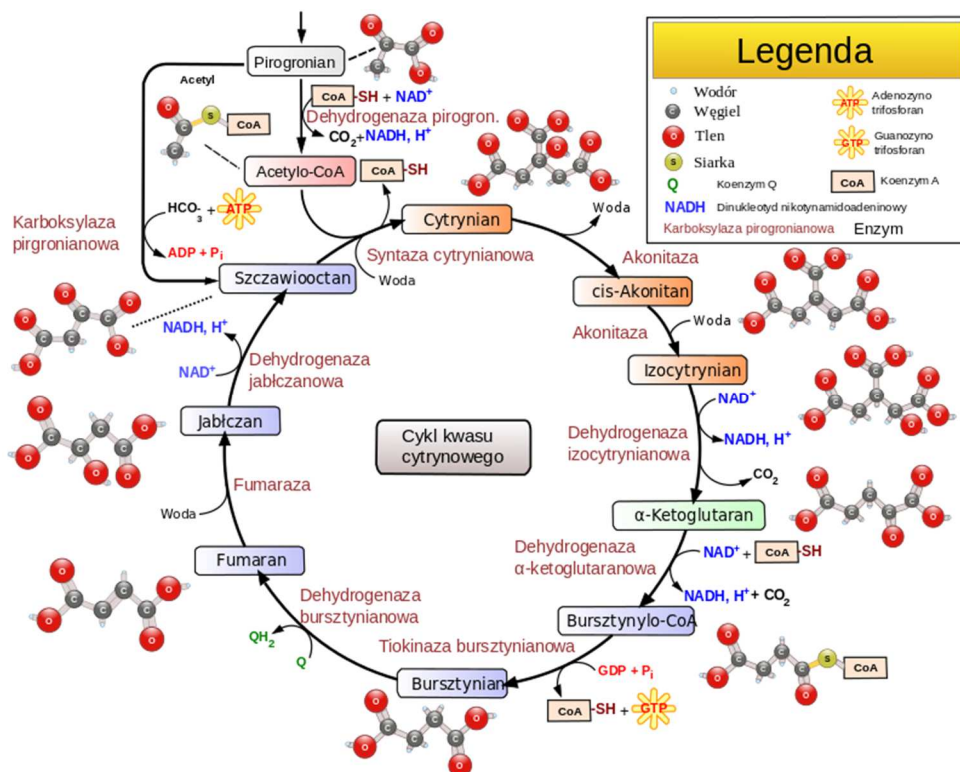
Harmonijny przebieg kiełkowania wymaga współdziałania tych procesów. W takiej integracji dużą rolę odgrywa przekazywanie informacji oraz transport metabolitów. Rys. 2 przedstawia zależność między głównymi procesami zachodzącymi w kiełkującym nasieniu. Układ wyzwalający stanowią receptory bodźców, które warunkują rozpoczęcie kiełkowania. Wynikiem percepcji bodźca jest pojawienie się oraz przekazanie sygnału do tkanek. Następnie w tych tkankach rozpoczynają się procesy metaboliczne. Takim sygnałem najczęściej jest hormon, ale mogą występować również inne formy przekazywania informacji. Adresatem tego sygnału jest przede wszystkim tkanka spichrzowa, ale są nimi również tkanki zarodka. Dotarcie sygnału do adresata powoduje zwiększanie się aktywności niektórych enzymów. Małocząsteczkowe produkty, które są wynikiem działania tych enzymów, są transportowane do tkanek, a następnie w nich zużywane jako substraty oddechowe oraz do syntezy różnych związków. Przebieg syntezy nowych składników komórkowych z odpowiednią szybkością decyduje o aktywacji zarodka i w ten sposób umożliwia wzrost, a także podziały komórkowe [Lewak 2015].



Rys 2. Współdziałanie procesów kardynalnych dla kiełkowania, przebiegających w różnych tkankach nasienia. Opracowanie własne na podstawie: Lewak S. 2015. Wzrost i rozwój roślin. Kiełkowanie nasion. W: Fizjologia roślin. Kopcewicz J., Lewak S. Wydawnictwo Naukowe PWN SA. Warszawa. str. 514.

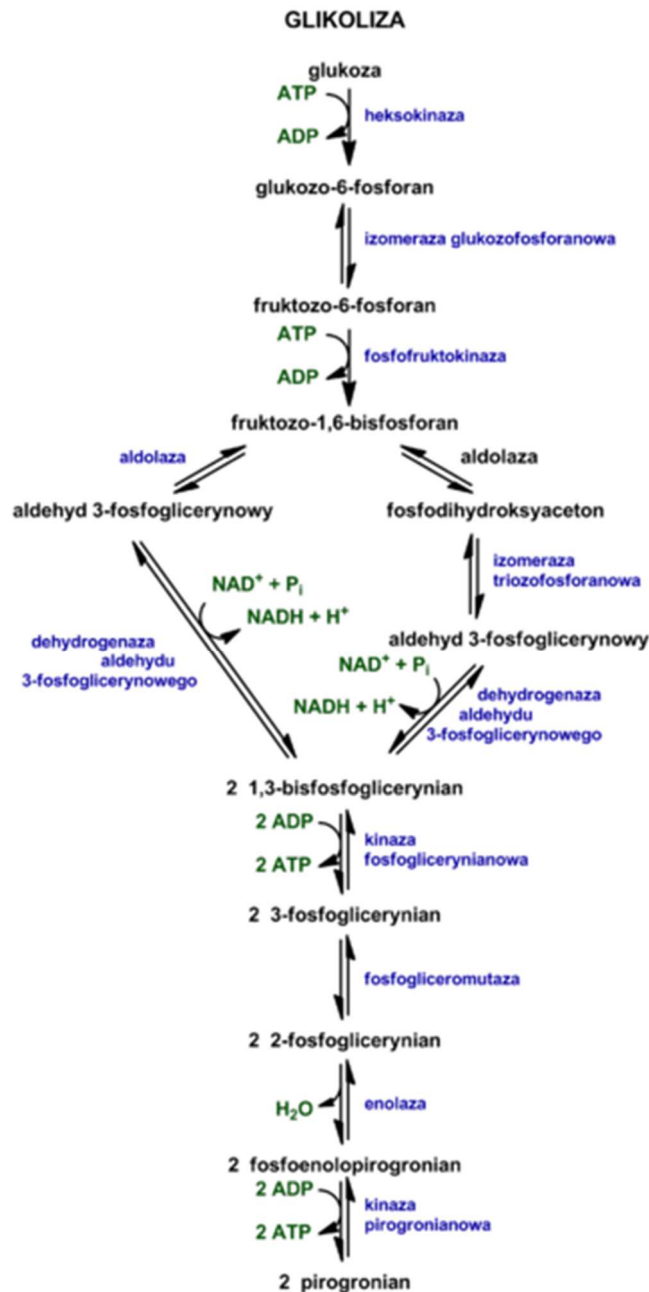
1.3. Rola dehydrogenaz w procesie oddychania

W procesie glikolizy, dehydrogenaza aldehydu 3-fosfoglicerynowego przenosi protony wodoru na NAD^+ redukując go do NADH . W cyklu Krebsa (Rys.3.) reakcja odwodorowania zachodzi czterokrotnie, reakcje te są katalizowane przez dehydrogenazę izocytrynianową, α -ketoglutaranową, bursztynianową, a także jabłczanową. Zredukowane koenzymy $\text{NADH} + \text{H}^+$ oraz FADH_2 przechodzą na łańcuch oddechowy, po czym oddają protony wodoru. W taki sposób biorą pośredni udział w fosforylacji oksydacyjnej. Dehydrogenazy uczestniczące w cyklu kwasu cytrynowego, są uważane za punkty kontrolne, które regulują cały proces. Jako enzymy, są odpowiedzialne za proces odwodorowania. W cyklu Krebsa od NAD^+ wolny atom H^+ ulega przyłączeniu do formy zredukowanej NADH . Podczas całego szlaku oddechowego, proces odwodorowania przebiega pięciokrotnie, przy obecności enzymu dehydrogenazy. Pierwsze utlenienie zachodzi w glikolizie, gdzie dochodzi do rozkładu glukozy do acetylo CoA.



Rys. 3. Schemat przebiegu cyklu Krebsa.

Źródło: www.wikipedia.org



Rys.4. Schemat glikolizy.

Źródło: www.wikipedia.org

1.4. Charakterystyka łubinu wąskolistnego

Uprawa roślin strączkowych niesie ze sobą wiele korzyści. Rośliny te wnoszą do gleby azot atmosferyczny, odzyskują wymyte składniki pokarmowe, poprawiają strukturę gleby poprzez pozostawianie kanałów powietrznych, a przede wszystkim zostawiają bardzo

dużo resztek poźniwnych, co przyczynia się do zwiększenia pojemności sorpcyjnej kompleksu gleby oraz zawartości próchnicy. Powszechnie uważa się, że rośliny strączkowe są bardzo dobrym przedplonem dla wielu gatunków roślin, gdyż zostawiają po sobie bardzo dobre stanowisko. Wymienione wyżej czynniki wpływają na uzyskanie dużo wyższych plonów w uprawie rośliny następczej [Florek 2012].

Pochodzenie i historia uprawy

W obrębie rodzaju *Lupinus* L. można wyróżnić ponad 200 gatunków. Gatunki amerykańskie, pomijając łubin andyjski (*L. mutabilis* Sweet) mają bardzo drobne nasiona i są w większości bylinami górskimi. Z kolei gatunki europejskie są jednoroczne i wielkonasienne, pochodzą z nadbrzeżnych równin śródziemnomorskich. W Polsce uprawiane są trzy gatunki łubinu: biały (*L. albus* L.), żółty (*L. luteus* L.) oraz wąskolistny (*L. angustifolius* L) [Kotecki 2003].

Łubin wąskolistny w stanie naturalnym występuje w basenie Morza Śródziemnomorskiego. Początkowo był uprawiany jako roślina ozdobna oraz na zielony nawóz. Pierwsze próby wykorzystania łubinu wąskolistnego jako paszy pochodzą z końca XIX wieku. W tym czasie Sempołowskiemu udało się wyodrębnić genotypy łubinu o różnym zabarwieniu kwiatów. Z kolei w okresie dwudziestolecia międzywojennego Sypniewski wyhodował dwie odmiany, które charakteryzowały się szybkim rytmem wzrostu. Jednak do udomowienia tego gatunku najbardziej przyczynił się Mikołajczyk po II wojnie światowej, który jest współtwórcą większości współczesnych odmian [Kotecki 2003].

Znaczenie gospodarcze

W zależności od rejonu świata znaczenie gospodarcze poszczególnych gatunków łubinu jest zróżnicowane. W Ameryce Południowej większe znaczenie ma łubin andyjski (*L. mutabilis* L), natomiast w Australii na dużych obszarach (około 1,1 mln ha) uprawiany jest łubin wąskolistny. W Europie już od dawna uprawia się łubin biały, a od ubiegłego stulecia także żółty i wąskolistny [Kotecki 2003].

Wartość gospodarcza łubinu wąskolistnego jest nieco mniejsza niż łubinu żółtego, zawiera on bowiem mniej białka, a składniki pokarmowe w nasionach są gorzej trawione.

Zaletą natomiast jest krótszy okres wegetacyjny średnio o 10-12 dni, w porównaniu z łubinem żółtym, dzięki czemu można go uprawiać na północy Polski. Łubin wąskolistny ma duże możliwości plonotwórcze, w przeciętnych warunkach można otrzymać około 1,5 – 2,7 t nasion z 1 hektara. Masa pozostawianych resztek poźniwnych oraz składników mineralnych także przewyższa w porównaniu z łubinem żółtym [Kotecki 2003].

Charakterystyka botaniczna

Łubin wąskolistny ma najkrótszy okres wegetacji spośród wszystkich uprawianych łubinów. Szybkie tempo wzrostu w początkowym okresie powoduje że nadaje się on do uprawy w poplonach ścierniskowych. W uprawie najczęściej możemy spotkać następujące odmiany botaniczne: *var. leucanthos* o białych kwiatach oraz białych lub żółtych nasionach, *var. roseus* o różowych kwiatach oraz pigmentowanych nasionach, *var. coeruleus* o niebieskich kwiatach oraz nasionach silnie pigmentowanych z ciemniejszym rysunkiem oraz *var. violaceus* o nasionach silnie pigmentowanych z brązowym odcieniem [Ceglarek 2002].

Uprawiane gatunki łubinów w Polsce charakteryzują się silnym systemem korzeniowym z rozwiniętym korzeniem palowym. Tak rozwinięty system korzeniowy umożliwia im działanie fitomelioracyjne, mogą bez problemu drenować głębsze warstwy gleby. Dzięki temu wypłukiwane do głębszych warstw gleby składniki pokarmowe są odzyskiwane. Łubin wąskolistny ma nieco krótszy korzeń palowy od łubinu żółtego, ale znacznie lepiej rozgałęziony. Brodawki korzeniowe znajdują się w większości na korzeniu palowym, niewielkie ilości występują na korzeniach bocznych [Ceglarek 2002].

Łodyga łubinów jest bardzo sztywna, gruba, okrągła na przekroju i zakończona kwiatostanem. Łubin wąskolistny posiada przekrój nieco smuklejszy, łodyga rozgałęzia się od połowy wysokości i tworzy rozgałęzienia pierwszego i drugiego rzędu. Liścienie są wydłużone, spłaszczone oraz silnie zabarwione antocyjanem. Na stronie górnej trochę mniej zmarszczone, natomiast na dolnej występują delikatne bruzdki. Liście palczasto-złożone, ogonkowe z przylistkami. Kwiaty łubinu wąskolistnego są zazwyczaj koloru niebieskiego lub fioletowego, rzadko występują o barwie białej lub różowej. Kwiaty są samopylne, a proces pylenia następuje wcześniej niż otwarcie kwiatów. Strąki łubinu wąskolistnego są proste, słabo owłosione i łatwo pękają wzdłuż szwów. Posiada on od 4 do 7 nasion. Nasiona są grube i wypukłe. Cechą pozwalającą odróżnić nasiona od pozostałych gatunków łubinu jest występowanie trójkątnej plamki. Znak ten widoczny jest niezależnie od zabarwienia okrywy

nasiennej. Masa 1000 nasiona dla tego gatunku wynosi 130-230 g. Nasiona zawierają 29-34% białka oraz około 5% tłuszczu. W zależności od zawartości alkaloidów można wyróżnić odmiany hodowlane słodkie i gorzkie [Ceglarek 2002].

Wymagania klimatyczno-glebowe

Łubin wąskolistny ma mniejsze wymagania cieplne i słabiej reaguje na zwiększającą się liczbę dni pochmurnych w porównaniu do łubinu żółtego. Ma jednak większe wymagania wodne. W rejonach Polski o umiarkowanym nasłonecznieniu i nieco chłodniejszej pogodzie rozwija się normalnie. Jest jednak bardzo wrażliwy na występowanie suszy glebowej i atmosferycznej. Podczas suchego lata dużo łatwiej ulega chorobom i daje wyraźnie niższy plony nasion [Ceglarek 2002].

Najlepiej udaje się na glebach brunatnych i bielcowych, zwięźlejszych i dobrze zatrzymujących wodę, są to klasy bonitacyjne IIIb oraz IVa. W rejonach bardziej wilgotnych, nadmorskich może być uprawiany na glebach klasy IVb a także V. Odczyn gleby powinien być zbliżony do obojętnego, wówczas lepiej rośnie. Najlepszym przedplonem dla łubinu uprawianego na nasiona są zboża. Uprawa bezpośrednio po roślinach okopowych na oborniku powoduje, że łubin wąskolistny rozwija się nadmiernie wegetatywnie i przez to przedłuża swoją wegetację – nie sprzyja to dobremu plonowaniu. Najkorzystniej dla jego uprawy jest unikanie stanowisk po ziemniakach z uwagi na możliwość zakażenia chorobami. Bezpiecznie jest uprawiać łubin dopiero w trzecim roku po oborniku. Łubin wąskolistny możemy uprawiać na tym samym polu nie częściej niż co 4-5 lat [Kotecki 2003].

Przebieg kiełkowania nasion

Faza kiełkowania u roślin strączkowych rozpoczyna się z chwilą pęcznienia nasion, a kończy w momencie pojawienia się łodyżki lub liścieni na powierzchni gleby. Aby nasiona napęczniały potrzebne są duże ilości wody, około 150% masy nasienia. Rośliny strączkowe kiełkują 7-14 dni, zależy to od wilgotności oraz temperatury. Gdy wilgotność jest niska, a temperatura wynosi 4°C, wówczas kiełkowanie może trwać nawet do 30 dni. Większość gatunków kiełkuje w temperaturze 1-3°C. Groch i wyka potrzebują 1-2°C, łubiny i bobiki 3°C, natomiast soja wymaga 8°C. U roślin strączkowych wyróżniamy dwa typy kiełkowania: epigeiczne i hypogeiczne [Ceglarek 2002].

Kiełkowanie epigeiczne wyróżnia się początkowo intensywnym rozwojem części podliścieniowej łodyżki - hypokotyła, w czasie kiełkowania pojawiają się na powierzchni gleby liścienie. Tym typem kiełkowania charakteryzują się łubiny oraz soja. Z kolei kiełkowanie hypogeiczne wyróżnia się początkowo intensywnym rozwojem części nadliścieniowej łodyżki czyli epikotyła. W tym typie kiełkowania liścienie pozostają w glebie, a na powierzchnię pojawiają się pierwsze liście. Przykładem roślin posiadającym ten rodzaj kiełkowania są bobiki, grochy oraz wyki [Ceglarek 2002].

1.5. Biostymulatory wykorzystywane w nowoczesnym rolnictwie

W ostatnich latach można zaobserwować zwiększone zainteresowanie substancjami wykazującymi aktywność regulatorów wzrostu i rozwoju roślin. Jest to związane z intensyfikacją badań w tej dziedzinie, a w rezultacie z odkryciem dotąd nieznanymi związków [Matysiak 2009].

Regulatory wzrostu i rozwoju roślin to substancje organiczne, których nawet niewielkie ilości modyfikują funkcje fizjologiczne zachodzące w roślinie [Harms 1988]. Modyfikacja reakcji rośliny polega na wspomaganie, bądź hamowaniu procesów wzrostu oraz rozwoju takich jak: kiełkowanie, zawiązywanie owoców, tworzenie korzeni czy starzenie się roślin. Wykorzystywane w uprawie hormony roślinne rzadko są substancjami naturalnymi, najczęściej wykorzystuje się ich syntetyczne odpowiedniki. Przełom w hodowli roślin stanowiło odkrycie w latach 40. i 50. ubiegłego wieku fitohormonów oraz mechanizmów ich działania. Każda roślina posiada 5 kluczowych hormonów wzrostowych o wzajemnych oddziaływaniu. Substancje te działają na zasadzie równowagi, co oznacza, że wszystkie zakłócenia w biosyntezie jednego z nich od razu aktywują lub dezaktywują funkcjonowanie innego hormonu. Do grupy podstawowych fitohormonów zalicza się auksyny, gibereliny, cytokininy, etylen oraz kwas abscysynowy [Matysiak 2009].

Karrikininy

Wiele lat temu zauważano, że substancje emitowane do atmosfery wskutek pożarów lasów pobudzają kiełkowanie nasion. Pierwsze doniesienia tego odkrycia pojawiły się w

literaturze w 1990 roku. Badania zostały przeprowadzone na gatunkach natywnych, rosnących na terenie klimatu gorącego, w miejscach, gdzie do pożarów dochodzi najczęściej – głównie w Afryce Południowej, Australii oraz Kalifornii. Wielokrotnie zauważono, że po pożarach pojawiają się nowe gatunki roślin, co jednoznacznie wskazywało na to, że dochodzi do aktywacji nasion zalegających w glebie. Pierwotnie przypuszczano, że to emitowane ciepło przyczynia się do stymulacji kiełkowania, jednak badania wykazały, że temperatura nie ma wpływu. Przyczyną okazały się substancje chemiczne, produkty spalania materii roślinnej. Wykazano, że nasiona ponad 1200 gatunków roślin, z 80 rodzajów rosnących w polowych warunkach są wrażliwe na dym emitowany wskutek pożarów. Wrażliwe gatunki znaleziono wśród roślin wyższych, okryto- i nagozalążkowych, form drzewiastych, krzewów, roślin zielonych oraz roślin jednorocznych i bylin. Zaliczane do tych grup gatunki zasiedlają różne strefy klimatyczne i różne ekosystemy. Należą do nich również rośliny użytkowe takie jak kukurydza (*Zea mays* L.), sałata (*Lactuca sativa* L.), seler (*Apium graveolens* L.) oraz chwasty m.in. owies głuchy (*Avena fatua* L.). Związki występujące w dymie przerywały spoczynek nasion, wykazano to wielokrotnie zarówno w doświadczeniach polowych, jak i laboratoryjnych. W większości badań laboratoryjnych wykorzystywano roztwór powstający po jego rozpuszczeniu w wodzie, jednak taka woda zawierała mieszaninę różnych substancji, które nie tylko stymulowały, ale także hamowały kiełkowanie nasion. Poznanie dokładnego składu chemicznego tej mieszaniny wymagało wykonania izolacji związków, oczyszczenia i identyfikacji [Janas 2010].

Punktem przełomowym w badaniach nad związkami powstającymi wskutek pożarów materiału roślinnego było zidentyfikowanie bioaktywnych substancji oraz określenie ich struktury jako pochodne butanolidu (3-methyl-2h-furo[2,3-c]pyran-2-on). Udało się poznać analogi tego związku o działaniu stymulującym na kiełkowanie nasion. Pochodne butanolidu występują również w grzybach, jednak nie stwierdzono ich wpływu na kiełkowanie czy wzrost. Aby więc rozróżnić te związki od grzybowych, nadano im nazwę karrikiny (KAR) i zaliczono je do grupy karrikinolidów. Nazwa ta wywodzi się od słowa w języku australijskich Aborygenów Nyungar - karrik – oznaczająca związki powstające po pożarach w Nyungar. Pierwszy odkryty związek z grupy karrikinolidów czyli butenolid został oznaczony jako karrikina 1 (KAR₁). Inne zsyntetyzowane pochodne butenolidu oznaczono kolejnymi cyframi KAR₂, KAR₃ oraz KAR₄ – podobnie jak KAR₁ również stymulowały kiełkowanie nasion. KAR₁ zastosowana w warunkach laboratoryjnych w stężeniach rzędu 10⁻⁹ M, okazała się być silnym stymulatorem kiełkowania, co jednoznacznie wykazano w biotestach wykonanych na

fotoblastycznych nasionach sałaty (*Lactuca sativa* L.) odmiany Grand Rapids oraz wielu innych gatunkach z 26 filogenetycznie rozproszonych rodzin pochodzących z obszarów Australii (*Conostylis aculeata*), Południowej Afryki (*Syncarpha vesita*) oraz gatunków północnoamerykańskich (*Nicotiana attenuata*). Zaobserwowano również, że w nasionach pomidora (*Solanum esculentum* Mill.) kiełkujących w obecności KAR₁, udział procentowy jąder komórkowych o zawartości 4C DNA był wyższy w porównaniu do kontroli. Nasiona kiełkowały szybciej, a korzenie i hipokotyle siewek były dłuższe niż u siewek kontrolnych. Badanie to wykazało możliwość zastosowania KAR₁ do kondycjonowania nasion roślin użytkowych [Janas 2010].

Wyniki wykonywanych badań jednoznacznie wskazują, że karrikininy są nową klasą związków regulujących kiełkowanie nasion oraz wzrost roślin. Przerywają stan spoczynku nasion wielu gatunków i działają nie tylko na rośliny wrażliwe na dym ale również mają znacznie wśród okrytonasiennych. Nie można jednak odrzucić możliwości, że karrikininy mogą również powszechnie występować w środowisku. Przykładowo mogą pojawiać się wskutek chemicznej lub mikrobiologicznej degradacji podczas wegetacji roślin w odpowiedzi na zachodzące w glebie procesy. Istnieje również hipoteza, że karrikininy mogą naśladować działanie endogennych hormonów o budowie terpenoidów i w ten sposób kontrolować kiełkowanie nasion [Janas 2010].

Gibereliny

Gibereliny zajmują istotną pozycję w regulacji wzrostu i rozwoju roślin. Wpływają na wiele procesów zachodzących w roślinie, regulują kiełkowanie nasion, wzrost wydłużeniowy hypokotyli oraz międzywęźli, rozrost liści, indukcję kwitnienia, a także rozwój kwiatów oraz dojrzewanie owoców. Zgodnie ze znaną definicją hormonu, cząsteczki giberelin są naturalnymi substancjami organicznymi, które charakteryzują się aktywnością w niewielkich stężeniach około 10^{-6} mol/l, powszechnym występowaniem oraz zdolnością do przemieszczania się w roślinie [Marciniak 2012].

Wszystkie gibereliny oznaczone zostały numerami, które nadano im w porządku chronologicznym w zależności od okresu identyfikacji. W chwili obecnej znanych jest ponad 130 w pełni scharakteryzowanych cząsteczek. Prawie wszystkie zostały zidentyfikowane u różnych gatunków roślin naczyniowych, zaledwie kilka u bakterii i grzybów. GA są tetracyklicznymi, diterpenowymi kwasami karboksylowymi, których struktura bazuje na

szkielecie węglowym *ent*-giberelanu. Możemy wyróżnić GA o rdzeniu zbudowanym z dziewiętnastu (C₁₉-GA) oraz dwudziestu (C₂₀-GA) atomów węgla. Druga grupa posiada przy czwartym atomie węgla grupę karboksylową, natomiast u C₁₉-GA pomiędzy czwartym i dziesiątym atomem zawsze powstaje wiązanie laktonowe. Zdarza się również, że pomiędzy dziewiątym i piętnastym atomem węgla powstaje dodatkowy pierścień cyklopropanowy. Pozycja i stereochemia wszystkich tych podstawników jest bardzo istotna, gdyż wpływa na aktywność biologiczną cząstek hormonu [Marciniak 2012].

Na początku przyjmowano, że główną gibereliną u roślin jest GA₁. Zostało to potwierdzone na przykładzie wielu gatunków roślin m.in kukurydzy (*Zea mays*) i grochu (*Pisum sativum*). Obecnie już wiadomo, że istotną rolę odgrywa również GA₄. Badania potwierdzające to dotyczyły modelowej rośliny dnia długiego, rzodkiewnika (*Arabidopsis thaliana*) oraz wielu innych z rodziny dyniowatych (*Cucurbitaceae*). „Różnica w budowie pomiędzy tymi dwiema GA polega na obecności (GA₁) lub braku (GA₄) grupy hydroksylowej przy trzynastym atomie węgla dołączanej przy udziale domniemanej 13-oksydazy giberelinowej (GA13ox), której identyfikacja umożliwiłaby wyjaśnienie potencjalnej różnicy w ich funkcjonowaniu” [Marciniak 2012].

Nie ma wątpliwości, że gibereliny stanowią bardzo liczną i nadal powiększającą się grupą związków hormonalnych.

2. CEL PRACY

Celem pracy było sprawdzenie działania naturalnego stymulatora wzrostu butenolidu, związku występującego w tzw. wodzie dymnej, gibereliny (GA₃) oraz trzygodzinnego moczenia w temperaturze pokojowej na stymulowanie procesu kiełkowania. W badaniach przeprowadzono analizę wigoru kiełkowania nasion, analizę wpływu elektrolitów, aktywności puli dehydrogenaz oraz aktywności α -amylazy.

3. MATERIAŁ I METODY

3.1. Materiał nasienny

Badania wykonano na nasionach 100 linii /odmian łąbinu wąskolistnego, pochodzących z różnych regionów Europy. Zostały uzyskane ze Stacji Hodowli Roślin w Przebędowie oraz Poznańskiej Hodowli Roślin w Wiatrowie.

Nasiona były powierzchniowo sterylizowane w 70% etanolu i przemywane trzy razy sterylną wodą. Szalki o średnicy 9 cm z bibułą filtracyjną wypełniono 15 cm³ roztworów: wody destylowanej (kontrola i trzygodzinne moczenie w temperaturze pokojowej), wody dymnej (roztwór/woda destylowana 1: 1000 V/V) lub kwasu gibberelowego (Sigma-Aldrich) (10 mg dm⁻³).

Po 15 nasion z jednej linii/odmiany wysiewano na szalkę. Każdą szalkę traktowano jako jedno powtórzenie, a eksperyment przeprowadzono w 5 powtórzeniach (5 szalek dla każdego traktowania i temperatury dla każdej linii/odmiany). Następnie szalki przeniesiono do lad chłodniczych do stałej temperatury 7 °C lub 13 °C. Nasiona kiełkowały w ciemności.

3.2. Ocena wigoru kiełkowania nasion

Współczynnik wigoru kiełkowania nasion (V) w 13 °C oceniano po 2 dniach, podczas gdy w 7 °C po 4 dniach od momentu wysiania. Ta różnica czasu w ocenie V wynika z faktu, że kiełkowanie nasion w 7 °C było znacznie wolniejsze niż w 13 °C.

Ocena procesu kiełkowania była oparta o wizualną skalę (0-4) długości kiełków: 0 - nasiona nieskiełkowane, 1 - długość hipokotylu 1 mm, 2 - długość hipokotylu 2-3 mm, 3 - długość hipokotylu 4-7 mm, 4 - hipokotyl dłuższy niż 7 mm.

Współczynnik V obliczono dla każdego powtórzenia, zgodnie ze wzorem: $V = [(n_0 \times 0 + \dots + n_4 \times 4)]/N^{-1}$, gdzie: n_x - oznacza liczbę odpowiadającą każdej ocenie długości hipokotyła, N - to całkowita liczba nasion w szalce.

3.3. Ocena wpływu elektrolitów z komórek nasion

Nasiona zbierano po 24 godzinach z każdej linii/odmiany i kombinacji temperatury/traktowania. Zostały one umieszczone w fiolkach zawierających 13 cm³ wody redestylowanej i wytrząsano je (100 rpm) w temperaturze 20 °C. Po 24 h, przewodność elektryczną (E1) mierzono z użyciem konduktometru (CI 317 Elmetron, Polska). Następnie, fiolki z próbkami

zostały zamrożone w temperaturze $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ na 1 dzień, po czym rozmrażano je i wytrząsano ponownie. Przewodność ponownie zmierzono, a wartość ta reprezentowała całkowitą zawartość jonów (E_2) w nasieniu. Przepuszczalność membrany została wyrażona jako procent całkowitego wypływu elektrolitów według wzoru: $(E_1 \times 100)/E_2$. Pomiary przeprowadzono w 10 powtórzeniach biologicznych.

3.4. Analiza aktywności dehydrogenaz biorących udział w procesie oddechowym

Aktywność puli dehydrogenazy w nasionach zmierzono według Steponkus i Lamphear (1967) z niewielkimi modyfikacjami. Nasiona zbierano po 24 godzinach z każdej linii/odmiany i kombinacji temperatury/traktowania. Nasiona ważono, a następnie umieszczano w fiolkach zawierających 3 cm^3 mieszaniny reakcyjnej składającej się z $1,5\text{ cm}^3$ $0,4\%$ (v/w) wodnego roztworu chlorku 2,3,5-trifenylo-tetrazoliny (TTC) oraz $1,5\text{ cm}^3$ $0,1\text{ M}$ buforu fosforanowego o pH 7,5. Nasiona inkubowano przez 3 h w temperaturze 37°C w ciemności. Następnie nasiona homogenizowano z 5 cm^3 96% etanolu do ekstrakcji trifenyloformazanu, produktu redukcji TTC przez dehydrogenazy uzyskane z nasion. Ekstrakt wirowano przy $16\ 000 \times g$ przez 5 minut i ostatecznie absorbancję mierzono przy 485 nm stosując spektrofotometr Ultrospec 2100. Aktywność dehydrogenazy mierzono w 5 powtórzeniach biologicznych.

3.5. Analiza aktywności alfa amylazy w kiełkujących nasionach

Nasiona zbierano po 24 godzinach z każdej linii/odmiany i kombinacji temperatury/traktowania. Nasiona ważono i homogenizowano w 5 cm^3 buforu fosforanowego (pH 7,0), a następnie wirowano przy $16\ 000 \times g$ przez 5 min. Mieszaninę składającą się z 1 cm^3 supernatantu, $100\ \mu\text{l}$ odczynnika Lugola i $200\ \mu\text{l}$ $0,5\%$ roztworu skrobi, wytrząsano i natychmiast mierzono absorbancję (pierwszy pomiar) przy 595 nm , stosując spektrofotometr Ultrospec 2100. Drugi pomiar absorbancji został wykonany po 10 minutach. Aktywność α -amylazy wyrażono jako $\Delta\text{ABS g}^{-1}\text{ FW nasion}$. Analizę przeprowadzono w 5 powtórzeniach biologicznych.

3.6. Analiza statystyczna

Analizę wariancji i porównanie uzyskanych wyników na podstawie wielokrotnego testu Duncana przy $P < 0,05$ przeprowadzono za pomocą pakietu statystycznego STATISTICA 10,0 (Stat-Soft, Inc., USA). Istotność korelacji liniowej (współczynnik Pearsona) oszacowano przy $P < 0,05$.

4. WYNIKI

4.1. Charakterystyka wszystkich badanych odmian

Analiza statystyczna wykazała znaczące różnice pomiędzy wszystkimi badanymi parametrami 100 badanych linii/odmian, jak również znaczący wpływ temperatury i stosowanego traktowania. Nasiona kiełkowały wolniej w 7 °C niż w 13 °C. W większości przypadków ostateczna liczba nieskiełkowanych nasion w chłodzie była większa niż w 13 °C. Na podstawie energii kiełkowania nasion kontrolnych (V) przy 7 °C, 30 linii zostało wybranych i podzielonych na trzy grupy (10 linii w obrębie jednej grupy): grupa I - słabo kiełkujące, grupa II - dobrze kiełkujące oraz grupa III - bardzo dobrze kiełkujące odmiany.

Tabela 1 pokazuje wpływ temperatury na badane parametry dla trzech grup roślin, bez brania pod uwagę traktowania nasion. Kiełkowanie nasion przy 13 °C, było bardziej zróżnicowane niż w 7 °C i wyraźnie dzieliło te trzy grupy. Grupa I różniła się znacząco od innych pod względem liczby nasion nieskiełkowanych w obu temperaturach. W przypadku grupy I, liczba niewykiełkowanych nasion w temperaturze 7 °C była 2,3 razy większa niż w 13 °C, natomiast w przypadku grupy II i III była 1,5 razy większa.

Wartości EL i TTC w nasionach wszystkich odmian były wyższe w temperaturze 7 °C niż w 13 °C, natomiast aktywność α -amylazy była wyższa w 13 °C niż w chłodzie. Nasiona z grupy I wykazały wyższą przepuszczalność błony w obydwu temperaturach w porównaniu do nasion z grupy II i III. Aktywność dehydrogenaz w 7 °C była niższa w słabo kiełkujących nasion niż w dobrze i bardzo dobrze kiełkujących. Aktywność α -amylazy w obydwu temperaturach była znacznie niższa w słabo kiełkujących nasionach niż w bardzo dobrze kiełkujących.

Tabela 2 pokazuje ogólny wpływ traktowania na wigor kiełkowania (V) nasion w trzech grupach w obu temperaturach. Imbibicja przez 3 godziny w temperaturze pokojowej

znacznie poprawiła wigor kiełkowania nasion, szczególnie w przypadku grup II i III, natomiast najslabsze działanie wykazała GA₃. Jak pokazano w Tabeli 3, we wszystkich badanych roślinach kondycjonowanie nasion generalnie zwiększało wigor kiełkowania i równocześnie zmniejszało wypływ jonów z komórek nasion, podczas gdy GA₃ działała przeciwnie. Traktowanie nasion nie zmieniło znacząco aktywności dehydrogenazy i α -amylazy, w porównaniu do kontroli. Analiza statystyczna wykazała, że wigor kiełkowania w temperaturze 7 °C i 13 °C zależał istotnie od EL ($r = -0,76$ i $r = -0,64$; $p < 0,05$ odpowiednio) i aktywności amylazy ($r = 0,6$ oraz $r = 0,51$; $p < 0,05$, odpowiednio). Aktywność tego enzymu w 7°C była skorelowana dodatkowo z EL ($r = 0,32$; $p < 0,05$) i TTC ($r = 0,64$; $p < 0,05$).

Tab.1. Współczynnik kiełkowania (V), procentowy wypływ jonów (EL), aktywność dehydrogenazy (TTC) i aktywność α -amylazy (Amylaza) w nasionach linii/odmian trzech różnych grup łubinu wąskolistnego: grupa I - słabo kiełkujące, grupa II - dobrze kiełkujące, grupa III - bardzo dobrze kiełkujące.

Grupa	V		EL [%]		TTC [ABS]		Amylaza	
							[Δ ABS g ⁻¹ FW]	
	7 °C	13 °C	7 °C	13 °C	7 °C	13 °C	7 °C	13 °C
I	1.35 b	0.82 c	18.5 a	15.4 a	1.519 b	1.465 a	0.100 b	0.082 b
II	2.26 a	1.59 b	13.4 b	11.9 b	1.978 a	1.467 a	0.156 ab	0.157 ab
III	2.27 a	2.14 a	14.0 b	11.7 b	1.819 a	1.575 a	0.212 a	0.258 a

Analizę przeprowadzono dla 10 linii każdej grupy i wszystkich traktowań razem. Średnie w ramach każdej linii oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (wielokrotny testu Duncana, $p < 0,05$).

Tab.2. Wpływ GA₃, wody dymnej i trzygodzinnej imbibicji (3h) w temperaturze pokojowej na wigor kiełkowania nasion (V) linii/odmian trzech grup łubinu wąskolistnego: grupa I - słabo kiełkujące, grupa II - dobrze kiełkujące, grupa III - bardzo dobrze kiełkujące.

Traktowanie	Grupa I	Grupa II	Grupa III
Kontrola	1.053 ab	1.912 b	2.143 b
GA ₃	0.782 c	1.493 c	1.953 b
But	1.113 ab	1.941 b	2.188 b
3h	1.416 a	2.368 a	2.535 a

Analizę przeprowadzono dla 10 linii/odmian z każdej grupy, dla traktowania i temperatury razem. Średnie w ramach każdej linii oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (wielokrotny test Duncana, $p < 0,05$).

Tab.3. Wpływ kwasu giberelowego (GA₃), wody dymnej (But) i trzygodzinnej imbibicji w temperaturze pokojowej (3h) na wigor kiełkowania (V), wypływ jonów (EL), aktywność dehydrogenazy (TTC) i α -amylazy (Amylaza) w nasionach wszystkich badanych linii /odmian łubinu wąskolistnego.

Traktowanie	V	EL	TTC	Amylaza
Kontrola	1.80 b	13.6 ab	1.658 ab	0.181 a
GA ₃	1.52 c	14.8 a	1.673 ab	0.179 a
But	1.84 b	14.4 b	1.716 a	0.165 a
3h	2.20 a	12.6 c	1.507 b	0.181 a

Analizę przeprowadzono dla obu temperatur razem. Średnie w ramach danej linii oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (wielokrotny test Duncana, $p < 0,05$).

4.2. Grupa I - słabo kiełkujące nasiona

Większość linii/odmian należących do grupy I były znacznie bardziej wrażliwe na wpływ temperatury (Tab. 4). W przypadku ośmiu z nich wykazano większą liczbę niekiełkujących nasion w temperaturze 7 °C. Odmiany Brianskij 237/83 i Sethes Fruehe Rote kiełkowały bardzo słabo zarówno w 7 °C i 13 °C, podczas gdy odmiana Determinant-4 wykazała najmniejszą liczbę niewykiełkowanych nasion kiełkujących w obu temperaturach. Każda linia/odmiana reaguje specyficznym sposobem na zastosowane traktowanie stymulacji nasion. W większości przypadków, wstępne moczenie przez 3 godziny w temperaturze pokojowej, znacznie poprawiło V, tylko w pięciu przypadkach zmniejszyło to liczbę niekiełkujących nasion przy 7 °C. Traktowanie to również zmniejszyło wpływ jonów w nasionach pięciu linii/odmian w porównaniu z kontrolą. W przypadku odmiany Kazan, wszystkie traktowania znacznie zmniejszyły przepuszczalność membran w porównaniu do nasion kontrolnych. Woda dymna będąca drugim związkiem, zwiększającym żywotność nasion w temperaturze 7 °C, a GA₃ wykazały najslabszy wpływ na wpływ jonów. Aktywność dehydrogenazy była słabo wrażliwa na sposób traktowania nasion w obu temperaturach. W większości przypadków kondycjonowanie nasion (wstępna imbibicja w temperaturze pokojowej) i But zmniejszyły aktywność α -amylazy, a kwas gibereliowy nie wpłynął na wartość tego parametru.

Wpływ temperatury i traktowania nasion na takie parametry, jak V, EL, TTC i amylazy we wszystkich odmianach grupy I przedstawiono w Tab. 5. Jedynie wśród wartości V były obserwowane znaczące różnice. Największa była w przypadku nasion kondycjonowanych w temperaturze 7 °C, jednakże efekt ten różni się znacząco jedynie od nasion kiełkujących w GA₃. Hormon ten zwiększył przepuszczalność błony komórkowej w nasionach kiełkujących w chłodzie. Pozostałe parametry nie uległy zmianie pod wpływem temperatury i czynnika stymulującego. Analiza korelacji między badanymi parametrami kiełkowania dla linii/odmian grupy I wskazują, że kiełkowanie nasion w 7 °C jest negatywnie skorelowane z EL ($r = -0,52$, $p < 0,05$) i TTC ($r = 0,35$; $p < 0,05$). Ponadto, EL jest skorelowane z TTC ($r = 0,37$; $p < 0,05$). W 13 °C, wigor kiełkowania nasion jest skorelowany tylko z amylazy ($r = 0,42$; $p < 0,05$).

Tab.4. Współczynnik kiełkowania (V), procent ziaren nieskiełkowanych, procentowy wpływ jonów (EL), aktywność dehydrogenazy (TTC) oraz α -amylazy (Amylase) nasion *Lupinus angustifolius* linii/odmian należących do grupy I - słabo kiełkujących, pod wpływem następujących traktowań: Kontrola - kiełkowanie nasion w wodzie, GA₃ - kiełkowanie nasion w roztworze gibereliny, But - kiełkowanie nasion w wodzie dymnej, 3h - nasiona moczone przez 3 godziny w wodzie w temperaturze pokojowej. Średnie oznaczone w obrębie każdej kolumny dla każdej linii/odmiany tą samą literą nie różnią się istotnie (wielokrotny test Duncana, p <0,05). Powtórzenia dla El n = 10, pozostałe n = 5.

Linia/cv. origin	Traktowanie	V		% nieskiełkowanych nasion		EL [%]		TTC [ABS]		Amylaza [AABS g ⁻¹ FW]	
		7°C	13°C	7°C	13°C	7°C	13°C	7°C	13°C	7°C	13°C
NO-444	Kontrola	0.53b	0.38a	2.9	0	17.0ab	11.9a	1.130a	1.482a	0.110a	0.097a
Russia	GA ₃	0.33c	0.41a	6.1	0	20.4a	11.7a	1.134a	1.628a	0.045b	0.048b
	But	0.31c	0.44a	2.9	2.6	20.0a	12.4a	1.133a	1.350a	0.045b	0.037b
	3h	0.79a	0.26b	8.8	2.6	15.4b	14.6a	0.841b	0.919b	0.053b	0.084a
Brianskij 237/83	Kontrola	0.76a	0.13d	41.2	30.8	16.1c	24.1a	0.674b	0.671b	0.087a	0.046a
Russia	GA ₃	0.21c	0.49b	37.4	23.1	37.7a	13.8b	0.545b	1.699a	0.064b	0.035ab
	But	0.80a	0.63a	37.1	7.5	15.7c	14.5b	1.125a	1.488a	0.039c	0.050a
	3h	0.44b	0.21c	28.1	2.6	20.6b	20.5a	0.656b	0.808b	0.023c	0.028b
Graf	Kontrola	1.33b	0.99a	4.8	0	9.9ab	9.9ab	2.191a	1.567a	0.124a	0.146a
Poland	GA ₃	0.68c	0.47b	3.2	0	9.3ab	12.1a	2.271a	1.563a	0.122a	0.057c
	But	1.46b	0.63b	6.3	1.4	12.3a	12.2a	2.263a	1.619a	0.092b	0.097b
	3h	1.62a	1.14a	3.0	0	5.1b	8.1b	1.698b	1.528a	0.103b	0.088b
Kazan	Kontrola	1.46b	0.88b	11.1	0	21.8a	12.9b	1.398b	1.540a	0.125b	0.137a
Poland	GA ₃	0.87c	0.60c	12.7	11.1	14.4b	16.2a	1.642a	1.543a	0.134b	0.063b
	But	1.71ab	0.89b	19.4	0	16.8b	17.1a	1.565a	1.709a	0.209a	0.145a
	3h	2.06a	1.52a	12.5	0	14.3b	13.2b	1.466ab	1.341a	0.099c	0.087b
Sethes Fruehe Rote	Kontrola	0.35c	1.01a	40.6	22.9	34.7b	17.2a	1.263a	1.215a	0.085b	0.111c
Germany	GA ₃	0.30c	0.96a	28.6	27.9	51.1a	17.7a	1.275a	1.205a	0.149b	0.148b
	But	0.58b	1.44a	49.2	13.6	32.4b	10.9b	1.249a	0.555b	0.336a	0.181a
	3h	0.74a	1.06a	30.8	3.1	30.0b	17.1a	1.166b	0.804b	0.053c	0.137b
Determi-nant-4	C	1.80ab	0.60b	3.0	0	20.3a	14.3a	1.315b	1.297a	0.082b	0.111a
Belarus	GA ₃	1.49b	0.80ab	1.6	0	20.1a	16.6a	1.045c	1.421a	0.089b	0.059b
	But	1.69b	0.64b	0	0	20.0a	15.9a	1.605a	1.000a	0.156a	0.052b
	3h	2.46a	1.06a	0	0	15.3b	13.4a	1.025c	1.216a	0.094b	0.054b
Kadryl	Kontrola	1.44b	0.78b	13.4	6.6	20.0a	14.7b	1.978a	1.547a	0.038d	0.031b
Poland	GA ₃	0.97c	0.72b	9.0	3.3	21.2a	13.1b	1.549c	1.318a	0.168a	0.049a
	SW	1.18c	1.04ab	11.8	2.7	18.9ab	20.3a	1.742b	1.399a	0.136b	0.032b
	3h	2.19a	1.51a	4.5	4.0	17.2b	11.3b	1.422d	1.395a	0.104c	0.031b
R-7009 × Chittick	Kontrola	1.92a	1.21a	0	3.8	10.1c	20.4b	1.037b	1.266a	0.123a	0.067a
Poland	GA ₃	1.63b	0.59c	5.8	6.8	17.1a	26.7a	1.370a	0.788a	0.101b	0.053b
	But	2.08a	1.03b	2.0	2.9	15.8ab	14.5c	0.751c	1.259a	0.105b	0.053b
	3h	2.02a	0.85b	2.0	3.8	13.7b	18.6b	0.818c	0.999a	0.045c	0.063a
Bojar	Kontrola	2.20ab	0.78b	10.9	5.8	15.7b	14.5	1.950b	1.484b	0.061a	0.024c
Poland	GA ₃	1.41c	0.67b	10.3	10.0	15.4b	14.1	1.705c	1.842a	0.064a	0.094a
	But	2.15b	0.79b	8.6	5.9	15.5b	17.4	1.420d	1.667ab	0.063a	0.053b
	3h	2.52a	1.30a	8.6	2.9	18.3a	13.5	2.440a	2.218a	0.053a	0.086a
Zeus	Kontrola	1.56b	0.96b	0	1.5	11.3a	15.1	2.790a	2.932a	0.133a	0.114c
Poland	GA ₃	1.38c	0.64c	9.5	1.4	14.1a	10.2	2.582b	2.679a	0.045b	0.127b
	But	1.69b	0.99b	6.2	4.3	13.0a	12.3	2.834a	2.594a	0.058b	0.111c
	3h	2.80a	1.78a	3.1	0	13.5a	10.0	2.504b	2.634a	0.127a	0.171a

Tab. 5. Wpływ temperatury i traktowania na współczynnik kiełkowania (V), procentowy wpływ jonów (EL), aktywność dehydrogenazy (TTC) i α -amylazy (Amylaza) w nasionach linii/odmian należących do grupy I - słabo kiełkujących pod wpływem następujących traktowań: Kontrola - kiełkowanie nasion w wodzie, GA₃ - kiełkowanie nasion w roztworze gibereliny, But - kiełkowanie nasion w wodzie dymnej, 3h - nasiona moczone przez 3 godziny w temperaturze pokojowej.

Temperatura [°C]	Traktowanie	V	EL [%]	TTC [ABS]	Amylaza [ΔABS g ⁻¹ FW]
7	Kontrola	1.34 ab	17.7 b	1.572 a	0.097 a
7	GA ₃	0.93 bc	22.1 a	1.532 a	0.100 a
7	But	1.38 ab	18.0 b	1.569 a	0.124 a
7	3h	1.76 a	16.3 b	1.404 a	0.081 a
13	Kontrola	0.77 c	15.5 b	1.500 a	0.089 a
13	GA ₃	0.58 c	15.2 b	1.516 a	0.073 a
13	But	0.85 bc	14.8 b	1.456 a	0.081 a
13	3h	1.07 bc	16.0 b	1.386 a	0.083 a

Analizę przeprowadzono dla 10 linii / odmian grupy I. Średnie dla każdej kolumny oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (wielokrotny test Duncana; p < 0,05).

4.3. Grupa II - dobrze kiełkujące nasiona

W tej grupie kondycjonowanie nasion poprawiło V przy 7 °C w przypadku odmian Salsa, Emir i Regent (Tab. 6). Natomiast przy 13 °C, w każdym przypadku - z wyjątkiem odmiany Neptun – wstępne traktowanie nasion poprawiło znacząco wigor kiełkowania. Wśród odmian należących do tej grupy, tylko odmiana Emir wykazała największą liczbę nasion kiełkujących w obu badanych temperaturach. Jedynie w pięciu przykładach kondycjonowanie zmniejszyło liczbę niekiełkujących nasion w chłodzie, a w trzech przypadkach przy temperaturze 13 °C. Woda dymna (But) poprawiła kiełkowanie nasion tylko w trzech odmianach. Podobnie jak w grupie I, giberelina nie poprawiła zdolność kiełkowania, a często nawet zmniejszyła wigor kiełkowania. Ogólnie rzecz biorąc, chłód nie wpłynął istotnie na EL w kiełkujących nasion. Jedynie w przypadku odmian Emir, Regent i Kupały średnie wartości EL we wszystkich traktowaniach były wyższe niż w 13 °C. Interesujące jest to, że w chłodzie But znacznie zwiększył EL z nasion we wszystkich odmianach, z wyjątkiem odmiany Neptun. Przy 13 °C, efekt ten był obserwowany w przypadku odmiany Salsa i Emir. Woda dymna również powodowała wzrost wartości TTC w nasionach wszystkich odmian kiełkujących w temperaturze 7 °C, z wyjątkiem odmiany Danja. Można przypuszczać, że But indukuje procesy metaboliczne związane ze szlakiem oddechowym. Nie odnotowano natomiast znaczących różnic w wartościach aktywności amylazy.

Analizując wszystkie odmiany z grupy II wykazano, że temperatura znacząco wpływa na wigor nasion, który był wyższy w chłodzie niż przy 13 °C (Tab. 7). Najwyższą wartość tego parametru (2,69) zaobserwowano w przypadku nasion pęczniejących w temperaturze pokojowej po 3 godzinnym moczeniu. Najniższą wartość V (1,20) odnotowano w kiełkujących nasion w 13 °C pod wpływem GA₃. Generalnie, temperatura nie wpłynęła na EL i aktywność amylazy. Najwyższą aktywność TTC odnotowano w nasion kiełkujących w 7 °C pod wpływem GA₃ i But; jednakże, wartości te nie różnią się znacząco od innych. Wigor kiełkowania nasion w 7 °C jest negatywnie skorelowana z EL ($r = -0,69$; $P < 0,05$), która z kolei korelowała z TTC ($r = 0,67$; $p < 0,05$) i aktywnością amylazy ($r = 0,56$; $p < 0,05$). W nasionach kiełkujących w 13°C, wykazano korelację pomiędzy EL i aktywnością amylazy ($r = 0,591$; $p < 0,05$).

Tab. 6. Współczynnik kiełkowania (V), procent ziaren nie skiełkowanych, procentowy wpływ jonów (EL), aktywność dehydrogenazy (TTC) oraz α -amylazy (Amylase) nasion *Lupinus angustifolius* linii/odmian należących do grupy II - dobrze kiełkujących, pod wpływem traktowania: Kontrola - nasiona kiełkujące w wodzie, GA₃ - nasiona kiełkujące w roztworze gibereliny, But - nasiona kiełkujące w wodzie dymnej, 3h - nasiona moczone przez 3 godziny w wodzie w temperaturze pokojowej. Średnie oznaczone w obrębie każdej kolumny dla każdej linii/odmiany tą samą literą nie różnią się istotnie (wielokrotny test Duncana, p <0,05). Powtórzenia dla El n = 10, pozostałe n = 5 .

Linie	Traktowanie	V		% nieskiełkowanych nasion		EL [%]		TTC [ABS]		Amylaza [ΔABS g ⁻¹ FW]	
		7°C	13°C	7°C	13°C	7°C	13°C	7°C	13°C	7°C	13°C
Salsa	Kontrola	2.29b	1.40b	1.5	4.1	13.1b	10.9b	1.459b	1.602a	0.053c	0.158a
Poland	GA ₃	2.25b	1.12c	1.5	0	13.1b	11.1b	1.531b	1.633a	0.099b	0.150a
	But	2.36b	1.12c	1.4	0	22.2a	16.6a	2.005a	0.971b	0.130a	0.073b
	3h	3.17a	1.97a	0	0	12.7b	12.3b	1.160c	1.184b	0.114b	0.153a
Emir	Kontrola	1.38b	1.50b	17.2	5.2	26.4a	17.9b	2.956b	1.525b	0.479c	0.797a
Poland	GA ₃	1.16c	1.61ab	15.6	13.0	28.6a	21.6a	3.943a	2.034a	0.847a	0.614a
	But	1.13c	1.71a	14.7	8.3	23.4ab	18.1ab	2.459c	1.625b	0.554b	0.471b
	3h	1.68a	1.75a	16.9	8.7	18.2b	11.0c	3.328ab	2.085a	0.543b	0.657a
Regent	Kontrola	2.15b	1.50b	3.2	3.0	16.5b	12.2a	2.666a	2.537a	0.084a	0.098b
Poland	GA ₃	1.62c	1.18c	3.4	10.4	14.7b	12.0a	2.715a	2.909a	0.065b	0.081b
	But	2.12b	1.30b	4.8	10.6	20.6a	12.0a	2.332b	2.600a	0.048c	0.106b
	3h	3.31a	2.00a	0	2.3	15.4b	11.7a	2.719a	2.621a	0.088a	0.158a
Lazur	Kontrola	2.61a	1.47b	7.7	1.5	8.7a	10.7ab	1.121c	1.799a	0.124b	0.099b
Poland	GA ₃	2.21a	0.88c	0	3.1	7.3a	9.2b	1.303b	1.472a	0.140b	0.076c
	But	2.83a	1.41b	0	2.8	9.2a	12.8a	1.566a	1.285a	0.087c	0.129b
	3h	2.82a	1.95a	0	0	7.7a	10.9ab	0.750d	1.482a	0.388a	0.140a
Mandelup	Kontrola	2.37a	1.42b	4.5	3.1	9.4a	10.5a	2.331b	1.333a	0.137b	0.039b
Austria	GA ₃	1.50b	1.16c	6.3	3.1	9.2a	9.1a	2.301b	1.450a	0.175a	0.042b
	But	2.21a	1.39b	1.6	2.9	11.7a	9.8a	2.719a	1.423a	0.139b	0.096a
	3h	2.54a	2.05a	0	3.2	8.9a	10.3a	1.957c	1.000a	0.141b	0.107a
Danja	Kontrola	2.48a	1.51b	0	0	8.9a	9.4a	1.878b	1.709a	0.082a	0.050b
Austria	GA ₃	2.24a	1.34b	1.5	1.5	8.1a	10.0a	1.921a	1.554a	0.070a	0.097a
	But	2.36a	1.56b	3.2	0	10.7a	9.7a	1.621c	1.908a	0.063a	0.091a
	3h	2.93a	2.04a	0	0	8.4a	7.7b	1.968a	1.612a	0.069a	0.117a
Remik	Kontrola	2.22a	1.66b	1.6	1.5	10.9a	11.0a	2.043c	1.288ab	0.116b	0.171a
Poland	GA ₃	1.33b	1.30b	1.6	0	12.1a	11.3a	2.532b	1.468a	0.110b	0.122b
	But	2.74a	1.86a	6.3	0	13.2a	11.0a	2.636a	0.954b	0.080c	0.089c
	3h	2.28a	1.92a	9.4	6.3	11.4a	10.4a	2.261c	1.147b	0.137a	0.149b
Kurant	Kontrola	2.73ab	1.17c	1.5	0	14.4b	12.1a	1.365b	1.264a	0.120b	0.044a
Poland	GA ₃	2.27b	1.02c	4.7	1.4	13.5b	12.1a	1.613a	0.686b	0.054d	0.055a
	But	2.44b	1.62b	1.5	1.4	18.7a	13.0a	1.567a	1.536a	0.091c	0.030b
	3h	3.14a	2.53a	3.1	0	11.9b	12.3a	1.224c	0.879b	0.155a	0.060a
Kupala	Kontrola	2.38a	1.63b	6.3	0	17.0b	12.3ab	1.882b	1.209a	0.087a	0.111b
Russia	GA ₃	1.45b	1.10c	7.8	3.4	17.5b	14.1a	1.832b	2.079a	0.072a	0.135a
	But	2.24a	1.94a	3.2	3.1	20.4a	14.8a	2.162a	1.805b	0.069b	0.062c
	3h	2.56a	2.29a	2.9	1.6	12.4c	10.3b	1.598c	1.116c	0.067b	0.118b
Neptun	Kontrola	2.42a	1.95a	5.8	1.4	7.2a	10.2ab	1.358b	2.216a	0.080c	0.098c
Poland	GA ₃	1.85b	1.30b	7.4	2.8	7.2a	12.5a	1.158c	1.403b	0.113b	0.126b
	But	2.29ab	2.19a	3.9	0	8.8a	11.9a	1.442a	1.517b	0.065d	0.149a
	3h	2.49a	1.93a	8.2	1.5	5.3b	8.1b	0.723d	1.066b	0.151a	0.141a

Tab. 7. Wpływ temperatury i traktowania na współczynnik kiełkowania (V), procentowy wpływ jonów (EL), aktywność dehydrogenazy (TTC) i α -amylazy (Amylaza) w nasionach linii/odmian należących do grupy II - dobrze kiełkujące pod wpływem następujących traktowań: Kontrola - kiełkowanie nasion w wodzie, GA₃ - kiełkowanie nasion w roztworze gibereliny, But - kiełkowanie nasion w wodzie dymnej, 3h - nasiona moczone przez 3 godziny w wodzie w temperaturze pokojowej.

Temperatura [°C]	Traktowanie	V	EL	TTC	Amylaza [Δ ABS g ⁻¹ FW]
			[%]	[ABS]	
7	Kontrola	2.30 b	13.2 a	1.905 ab	0.136 a
7	GA ₃	1.79 cd	13.1 a	2.085 a	0.175 a
7	But	2.27 b	15.9 a	2.151 a	0.133 a
7	3h	2.69 a	11.2 a	1.770 ab	0.181 a
13	Kontrola	1.52 d	11.7 a	1.649 ab	0.167 a
13	GA ₃	1.20 e	12.3 a	1.669 ab	0.150 a
13	But	1.61 d	13.0 a	1.566 ab	0.130 a
13	3h	2.04 bc	10.5 a	1.416 b	0.180 a

Analizę przeprowadzono dla 10 linii/odmian w grupie II. Średnie każdej kolumny oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (wielokrotny test Duncana; p <0,05).

4.4. Grupa III - bardzo dobrze kiełkujące nasiona

Odmiany należące do tej grupy charakteryzowały się najwyższym wigorem kiełkowania, który wahał się od 1,00 do 3,33 w obu badanych temperaturach (Tab. 8). Takie linie/odmiany, jak DG-64, Vitabor i Sonet wykazały wyższe wartości V nasion kiełkujących w temperaturze 7 °C, natomiast Ignis, Bordako i No-730 w 13 °C. Linia DG-64 była najmniej wrażliwa na zimno i charakteryzowała się najmniejszą liczbą niekiełkujących nasion w temperaturze 7 °C (3,2%), a najbardziej wrażliwą na chłód była linia Treb-4 (38,2% nieskiełkowanych nasion). Linia 95925 była najlepiej kiełkującą w 13 °C (wszystkie nasiona kiełkowały). W przypadku poszczególnych linii/odmian należących do grupy III nie stwierdzono znaczącej poprawy kiełkowania pod wpływem zastosowanych traktowań (Tab. 9), jednakże dane przedstawione w Tab. 2 wykazują, że ogólnie, zarówno w odniesieniu do dwóch temperatur, wstępna imbibicja w temperaturze pokojowej podwyższyła żywotność kiełkowania nasion w chłodzie. Wszystkie odmiany wykazały większy wpływ jonów z kiełkujących nasion w chłodzie niż w 13 °C. Najwyższe wartości TTC stwierdzono w nasionach odmian Vitabor i Mirela, kiełkujących w 7 °C. Zastosowane czynniki wspomagające kiełkowanie wpływały niespecyficznie na aktywność dehydrogenazy i α -amylazy. Analiza wykazała, że kondycjonowanie nasion pozytywnie wpłynęło na wigor kiełkowania, zmniejszenie przepuszczalność błony, jak również aktywność dehydrogenazy w chłodzie, ale obniżyło wartość tego parametru w 13 °C. Efekt ten nie był jednak statystycznie potwierdzony w każdym przypadku. Zmniejszenie TTC był niższy w 13 °C niż w temperaturze 7 °C, podczas gdy nie stwierdzono różnic między wartościami aktywności amylazy w chłodzie i 13°C. Wartości V z linii/odmian należących do grupy III, w temperaturze 7 °C korelowały tylko z aktywnością amylazą ($r = 0,68$; $p < 0,05$), oraz z EL i TTC ($r = 0,44$ i $r = 0,68$; $p < 0,05$, odpowiednio).

Tab. 8. Wigor kiełkowania (V), procent nasion nieskiełkowanych, procentowy wpływ jonów (EL), aktywność dehydrogenaz (TTC) oraz α -amylazy nasion *Lupinus angustifolius* linii/odmian należących do grupy III - bardzo dobrze kiełkujące pod wpływem następujących traktowań: Kontrola - nasiona kiełkujące w wodzie, GA₃ - nasiona kiełkujące w roztworze gibereliny, But - nasiona kiełkujące w wodzie dymnej, 3h - nasiona moczone przez 3 godziny w wodzie w temperaturze pokojowej. Średnie oznaczone w obrębie każdej kolumny dla każdej linii/odmiany tą samą literą nie różnią się istotnie (wielokrotny test Duncana, p <0,05). Powtórzenia dla El n = 10, pozostałe n = 5.

Linia	Traktowanie	V		% nieskiełkowanych nasion		EL [%]		TTC [ABS]		Amylaza [ΔABS g ⁻¹ FW]	
		7°C	13°C	7°C	13°C	7°C	13°C	7°C	13°C	7°C	13°C
Mirela	Kontrola	2.32ab	2.38a	2.8	7.4	17.2a	18.4a	3.037a	2.430a	0.244b	0.283c
Poland	GA ₃	1.94b	2.55a	0	5.8	13.2a	20.5a	2.504b	1.494b	0.254b	0.417b
	But	2.13b	2.13a	7.1	1.4	16.4a	17.2a	2.782b	2.220a	0.382a	0.283c
	3h	2.66a	2.22a	3.1	4.3	15.2a	11.9b	2.281b	1.341b	0.379a	0.605a
DG-64	Kontrola	2.94a	2.06b	0	4.3	12.7a	10.8a	1.346a	1.439a	0.176a	0.070b
Belarus	GA ₃	2.93a	2.43a	0	0	11.1a	11.6a	1.300a	1.428a	0.161b	0.041a
	But	2.89a	1.91b	1.6	1.4	11.1a	10.2a	1.344a	1.552a	0.104d	0.049a
	3h	3.25a	2.62a	1.6	2.9	8.5b	10.9a	1.383a	1.270a	0.132c	0.044a
Vitabor	Kontrola	2.13b	2.67b	7.9	1.6	14.3a	12.7a	3.044a	1.013c	0.931a	2.337a
Germany	GA ₃	3.19a	2.51bc	1.5	1.7	15.5a	13.1a	2.476b	2.255a	0.692c	1.920b
	But	3.14a	2.96a	1.6	0	12.8a	9.0a	3.347a	1.622b	0.876b	1.958b
	3h	3.07a	2.33c	0	0	11.2a	10.2ab	3.692a	1.024c	0.957a	1.232c
96133F ₂ of Marii	Kontrola	1.71a	2.84a	12.1	1.4	9.2b	7.2a	1.539b	1.141c	0.095c	0.361a
-	GA ₃	1.64a	2.60b	9.4	4.3	15.8a	2.6b	1.583b	1.726a	0.131b	0.123b
	But	1.81a	2.71ab	5.9	7.4	10.8b	6.4a	1.539b	1.358ab	0.176a	0.032c
	3h	2.05a	2.99a	10.8	10.1	13.3ab	7.4a	1.795a	1.4382b	0.096c	0.029c
95925*	Kontrola	2.97a	3.00a	3.2	0	10.2ab	9.2a	1.677a	0.944d	0.102a	0.156a
Russia	GA ₃	2.00b	1.95c	3.1	0	13.5a	11.6a	1.683a	1.221c	0.101a	0.142a
	But	3.20a	2.39b	1.5	0	12.1a	13.6a	1.711a	1.700a	0.068c	0.155a
	3h	3.00a	2.56b	0	0	9.8b	10.2a	1.557b	1.430ab	0.082b	0.148a
St. Treb. – 4	Kontrola	1.83a	2.86a	6.0	4.3	15.8a	10.7a	1.140c	1.748a	0.086b	0.207a
Germany	GA ₃	1.00c	2.82a	15.4	8.5	17.9a	9.0a	1.117c	1.636a	0.118a	0.178b
	But	1.16b	2.61a	11.9	5.3	16.1a	8.7a	2.905a	1.380b	0.082b	0.061c
	3h	1.31b	2.85a	7.8	5.8	14.1a	6.1b	1.428b	1.380b	0.111a	0.168b
Sonet	Kontrola	2.66c	2.53b	5.9	4.2	18.5b	13.7bc	2.091c	1.472b	0.407c	0.283c
Poland	GA ₃	2.87bc	2.76ab	1.4	5.3	27.9a	21.7a	2.050c	1.006c	0.725a	0.417b
	But	3.04b	2.85a	4.5	4.2	25.0a	15.6b	2.206b	1.466b	0.505b	0.283c
	3h	3.33a	3.06 a	0	1.4	27.3a	10.7b	2.411a	1.672a	0.408c	0.605a
Ignis	Kontrola	2.11a	3.06a	6.4	5.8	12.4a	11.0a	2.237a	2.126a	0.114c	0.107b
Poland	GA ₃	2.28a	3.13a	6.3	1.4	14.0a	11.1a	1.808b	1.663b	0.172a	0.120a
	But	2.21a	3.12a	4.5	4.3	15.9a	9.0a	1.756c	1.764b	0.161b	0.109b
	3h	2.97a	2.87a	6.2	4.2	11.2a	9.8a	1.639d	1.767b	0.172a	0.109b
Bordako	Kontrola	2.20a	3.27a	7.7	5.8	12.8a	7.2c	1.266b	0.770c	0.132b	0.129b
Germany	GA ₃	2.19a	3.16a	3.2	2.9	13.1a	13.4a	1.654a	1.010b	0.119c	0.117b
	But	2.25a	2.80a	7.8	1.4	12.4a	7.4c	1.313b	1.404a	0.133b	0.150a
	3h	2.42a	3.26a	4.6	0	11.3a	11.1a	0.840c	1.201ab	0.147a	0.159a
No-730	Kontrola	2.49a	3.34a	3.2	1.4	20.4a	10.4a	1.716a	1.474a	0.132b	0.118b
Russia	GA ₃	2.26a	3.57a	1.4	0	14.7b	8.7a	1.470b	1.272b	0.119c	0.143a
	But	1.87b	3.30a	0	1.4	18.2a	11.3a	1.171c	1.234b	0.133b	0.099b
	3h	2.40a	3.32a	4.5	1.4	11.0b	8.4a	1.127c	1.418a	0.147a	0.071c

Tab. 9. Wpływ temperatury i traktowania na współczynnik kiełkowania (V), procentowy wpływ jonów (EL), aktywność dehydrogenazy (TTC) i α -amylazy (Amylaza) w nasionach linii/odmian należących do grupy III – bardzo dobrze kiełkujące pod wpływem następujących traktowań: Kontrola - kiełkowanie nasion w wodzie, GA₃ - kiełkowanie nasion w roztworze gibereliny, But - kiełkowanie nasion w wodzie dymnej, 3h - nasiona moczone przez 3 godziny w temperaturze pokojowej. Średnie z każdej kolumny oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie (wielokrotny test Duncana; p < 0,05).

Temperatura [°C]	Traktowanie	V	EL	TTC	Amylaza [ΔABS g ⁻¹ FW]
			[%]	[ABS]	
7	Kontrola	2.17 ab	14.3 ab	1.823 ab	0.202 a
7	GA ₃	1.99 b	14.4 ab	1.808 ab	0.208 a
7	But	2.25 ab	14.8 a	1.930 a	0.213 a
7	3h	2.64 a	12.6 abc	1.718 ab	0.226 a
13	Kontrola	2.11 ab	11.6 bc	1.494 bc	0.291 a
13	GA ₃	1.92 b	13.1 abc	1.479 bc	0.270 a
13	But	2.12 ab	12.0 abc	1.569 bc	0.223 a
13	3h	2.43 ab	10.3 c	1.324 c	0.248 a

5. DYSKUSJA

Kiełkujące nasiona i wzrastające siewki są narażone na różne stresy abiotyczne występujące blisko powierzchni gleby, są bardzo niebezpieczne dla roślin. Do czynników tych należą susza, zasolenie oraz chłód [Dodd i Donoval 1999]. Nasiona z osiągnięciem dojrzałości w stanie bardzo odwodnionym mogą wykazać dramatyczne zmiany w metabolizmie [Tommasi i wsp. 2001]. Po wchłonięciu wody, suche nasiona szybko zużywają tlen potrzebny do fosforylacji oksydacyjnej, który dostarcza energię do intensyfikacji procesów metabolicznych. Fosforylacja oksydacyjna i hydroliza związków zapasowych generują reaktywne formy tlenu (RFT), które niewystarczająco „zmiotane” przez antyoksydanty powodują bardzo silne strukturalne i funkcjonalne uszkodzenia w komórkach [Hourmant i Pradet 1981]. Ekspozycja wrażliwych siewek na schładzanie powoduje zmniejszenie liczby wykiełkowanych nasion, zmniejszenie wzrostu korzeni i pędów, oraz wyciek roztworów metabolitu o niskiej masie cząsteczkowej z komórek na skutek utraty integralności błony komórkowej [Posmyk i wsp., 2005].

Chłód odgrywa również kluczową rolę w przerywaniu spoczynku nasion, gdyż może indukować biosyntezę giberelin podczas wczesnych etapów kiełkowania [Debeaujon i Koornneef 2000]. Każdy z gatunków roślin wymaga specyficznego optymalnego zakresu temperatur do kiełkowania, chłód zaś może indukować syntezę białek (CSDP) lub czynników transkrypcyjnych wpływających na kiełkowanie nasion [Penfield i wsp., 2005, Park i wsp. 2009]. Łubin wąskolistny nie jest wprawdzie wrażliwy na chłód i wysiewa się go wczesną wiosną, natomiast w badaniu wykazano, że niskie temperatury znacząco wydłużyły czas niezbędny do kiełkowania.

W niniejszym badaniu stwierdzono istotne różnice w odniesieniu do zdolności kiełkowania w chłodzie między 100 liniami łubinu wąskolistnego. Obliczanie wigoru kiełkowania nasion pozwoliło podzielić badane rośliny na trzy grupy: słabo, dobrze i bardzo dobrze kiełkujące oraz poszukać relacji pomiędzy zdolnością kiełkowania w chłodzie i innych fizjologicznych i biochemicznych procesach zaangażowanych w nasączenie nasion i wzrost hipokotyli. W przypadku większości badanych odmian niektóre części nasion nie kiełkowały w temperaturze 7 °C, nawet 6 dni po wysianiu. W grupie słabo kiełkujących linii 2,5 razy więcej nasion nie kiełkowało w chłodzie, niż w temperaturze kontrolnej. W grupach II i III stosunek pomiędzy liczbą nasion nieskiełkowanych w 7 i 13 °C, był znacznie niższy. Wyniki te są zgodne z wynikami Foolad i wsp. (1999), którzy wykazali, że zdolność kiełkowania nasion pomidora pod wpływem stresu chłodu jest genetycznie kontrolowana i koreluje z fenotypem rośliny.

Nasiona wszystkich grup wykazały większy wpływ jonów z komórek w chłodzie, w porównaniu do 13 °C. Kaur i wsp. (2008) odnotował spadek wigoru kiełkowania nasion *Cicer arietinum* z jednoczesnym wyciekaniem elektrolitu oraz spadek redukcji TTC w nasionach pod wpływem zimna. W naszym badaniu, we wszystkich grupach roślin wigor kiełkowania nasion zależał od przepuszczalności błony komórkowej. Kondycja błon komórkowych wpływa na wszystkie procesy metaboliczne, zwłaszcza fosforylację oksydacyjną w kiełkujących nasionach. Według Leopolda i Musgrave (1979) zmniejszenie aktywności dehydrogenaz może sugerować utratę stabilności mitochondrialnej. W przypadku grupy I, wigor kiełkowania był zależny od przepuszczalności membran oraz aktywności dehydrogenaz, w grupie II wartości V korelowały z aktywnością dehydrogenaz i α -amylazy, podczas gdy w grupie III tylko α -amylazy. Aktywność tego enzymu skorelowana jest z wigorem kiełkowania nasion i aktywnością dehydrogenazy w obu zarówno w dobrze i bardzo dobrze kiełkujących odmianach. Ten związek może być wyjaśniony poprzez konieczność zapewnienia energii do syntezy wielu związków *de novo*, i hydrolizę związków przechowywanych w bielmie.

Rośliny z grupy I charakteryzowały się najniższą aktywnością α -amylazy w porównaniu z grupą II i III, ale trudno jest powiedzieć, czy też posiadały mało cząsteczek α -amylazy czy ich aktywność była zbyt niska w chłodzie.

Jednym z celów naszego badania była poprawa kiełkowania nasion łubinu wąskolistnego w niskiej temperaturze poprzez zastosowanie GA_3 lub wody dymnej, jak również 3 godzinne moczenie w temperaturze pokojowej. Uzyskane wyniki wskazują, że wstępne moczenie nasion w temperaturze pokojowej znacznie zwiększyło żywotność kiełkowania wszystkich odmian w ramach badania. Ponadto, początkowe uwodnienie nasion zmniejszyło przepuszczalność membrany. Podobne wyniki uzyskał Dubert i Filek (1995), stwierdzili, że 100% osmokondycjonowanych nasion soi kiełkuje w $5^\circ C$, nie wykazując przy tym żadnych uszkodzeń.

Woda dymna była drugim zabiegiem pobudzającym kiełkowanie nasion odmian badanych linii. Można by przypuszczać, że woda dymna mobilizuje metabolizm poprzez aktywację dehydrogenaz zaangażowanych w glikolizę i cykl Krebsa. Zostało również ustalone, że karrikininy zawarte w wodzie dymnej zwiększały kiełkowanie około 1200 gatunków roślin na całym świecie [Dixon i wsp. 2009], jednak należy zauważyć, że w większości badań nad wpływem wody dymnej na kiełkowanie nasion przeprowadzono w odniesieniu do przerywania ich spoczynku. Chociaż mechanizm molekularny tego zjawiska pozostaje nieznan, niektóre badania wykazały kluczową rolę giberelin i NO_2 w dymie w pobudzeniu kiełkowania nasion [Nelson i wsp. 2009, Keeley i Fotheringham 1998]. Nasiona wielu gatunków roślin pochodzących z różnych regionów świata wykazują pozytywną reakcję na działanie związków dymu [Kępczyński i wsp. 2010]. Daws i wsp. (2007) zaobserwowali, że dym oraz zawarty w nim butenolid wpływają na wzrost siewek różnych gatunków chwastów. Podobne wyniki otrzymał Kulkarni i wsp. (2006, 2007), traktując butenolidem nasiona dzikiego pochrzynu (*Dioscorea dregeana*) i ryżu siewnego (*Oryza sativa* L.), z kolei Kępczyński i wsp. (2010) potwierdzili stymulujący wpływ dymu na owies głuchy (*Avena fatua* L.). Van Staden i wsp. (2006) udowodnili, że kondycjonowanie dymem ma również wpływ na rośliny wykorzystywane w rolnictwie i warzywnictwie. Przeprowadził badania na nasionach pomidora (*Lycopersicon esculentum* Mill), kukurydzy (*Zea mays* L.), fasoli (*Phaseolus vulgaris* L.) oraz okry (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench).

Zaskakującym wynikiem był bardzo słaby wpływ GA_3 na wigor kiełkowania nasion, a także aktywności α -amylazy. Fakt ten można wytłumaczyć małą zawartością skrobi w nasionach łubinu, które przechowują głównie białko. Ponadto, największa przepuszczalność

błon spowodowana była traktowaniem GA₃, co mogło być głównym powodem słabego kiełkowania.

6. WNIOSKI

- Żywotność kiełkowania nasion łubinu wąskolistnego w chłodzie zależy głównie od genotypu, stopnia uszkodzenia błon komórkowych oraz aktywności α -amylazy.
- Moczenie nasion w temperaturze pokojowej stymuluje kiełkowanie nasion łubinu wąskolistnego w chłodzie.
- Woda dymna stymuluje kiełkowanie nasion łubinu wąskolistnego poprzez aktywację dehydrogenaz zaangażowanych w fosforylację oksydacyjną.
- Kwas giberelowy zmniejsza żywotność kiełkowania nasion wskutek zwiększenia przepuszczalności błony komórkowej.

7. LITERATURA

POZYCJE KSIĄŻKOWE:

1. Ceglarek F. 2002. Szczegółowa uprawa roślin rolniczych. Morfologia i biologia roślin. Wydawnictwo Akademii Podlaskiej. Siedlce. str. 101-115.
2. Kacperska A. 2015. Odpowiedzi na czynniki abiotyczne. W: Fizjologia roślin. Kopcewicz J., Lewak S. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa. str 657-662.
3. Kotecki A., Jasińska Z. 2003. Szczegółowa uprawa roślin. Tom II. Wydawnictwo Akademii Rolniczej we Wrocławiu. str. 23-38.
4. Lewak S. 2015. Wzrost i rozwój roślin. Kiełkowanie nasion. W: Fizjologia roślin. Kopcewicz J., Lewak S. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa. str 510-514.
5. Starck Z. 2015. Fizjologiczne podstawy produktywności roślin. W: Fizjologia roślin. Kopcewicz J., Lewak S. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa. str. 747-748.

PUBLIKACJE NAUKOWE:

1. Bewley JD. 1997. Seed germination and dormancy. *Plant Cell* 9:1055–1066.
2. Czerwińska-Kayzer D., Florek J. 2012. Opłaczalność wybranych upraw roślin strączkowych. *Fragm. Agron.* 29(4): 36-44.
3. Daws M.I., Davies J., Pritchard H.W., Brown N.A.C., Van Staden J., 2007. Butenolide from plant-derived smoke enhances germination and seedling growth of arable weed species. *Plant Growth Regul* 51:73-82
4. Deneaujon I, Koornneef M. 2000. Gibberellin requirement for *Arabidopsis* seed germination is determined both by testa characteristics and embryonic abscisic acid. *Plant Physiol* 122:415–424.
5. Dixon KW, Merritt DJ, Flematti GR, Ghisalberti EL. 2009. Karrinkinolide – A phytoreactive compound derived from smoke with applications in horticulture, ecological restoration and agriculture. *Acta Horticulture* 813:155–170.
6. Dodd GL, Donovan LA. 1999. Water potential and ionic effects on germination and seedling growth of two cold desert shrubs. *Am J Bot* 86:1146–1153.
7. Dubert F, Filek W. 1995. The low temperature drying of soybean (*Glycine max*) seeds as a factor reducing injuries caused by exposure to chill during subsequent germination. *Bulletin of the Polish Academy of Sciences Biological Sciences* 43:51–55.

8. Foolad MR, Lin GY, Cien FG. 1999. Comparison of QTLs for seed germination under non-stress, cold stress and salt stress in tomato. *Plant Breeding* 118:167–173.
9. Harms i in. 1988. *Plant Growth Regulators: Their use in Crop Production*. North Central Region Extension Publication 303. str. 1-3.
10. Hourmant A, Pradet A. 1981. Oxidative phosphorylation in germinating lettuce seeds (*Lactuca sativa*) during the first hours of imbibition. *American Society of Plant Biology* 68:631–635.
11. Janas K.M. i in. 2010. Karrikiny – nowe regulatory kiełkowania nasion i wzrostu roślin. *Kosmos – problemy nauk biologicznych*. Tom 59, 3-4: 581-587.
12. Kaur G, Kumar S, Nayyar H, Upadhaya HD. 2008. Cold stress injury during the pod-filling phase in chickpea (*Cicer arietinum* L.): effects on quantitative and qualitative components of seeds. *J Agron Crop Sci* 194:457–464.
13. Keeley JE, Fotheringham CJ. 1998. Smoke-induced seed germination in California chaparral. *Ecology* 79:2320–2336.
14. Kępczyński J, Chembrowska D, Van Staden J. 2010. Releasing primary dormancy in *Avena fatua* L. caryopses by smoke-derived butenolide. *Plant Growth Regul* 62:85–91.
15. Kulkarni M.G., Sparg S.G., Light M.E., Van Staden J., 2006. Stimulation of rice (*Oryza sativa* L.) seedling vigour by smoke-water and butenolide. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 192: 395-39
16. Lee S, Cheng H, King KE, Wang W, He Y, Hussain A, Lo J, Harbert NP, Peng J. 2002. Gibberellin regulates *Arabidopsis* seed germination via *RGL2*, a *GAI/RGA*-like gene whose expression is up-regulated following imbibition. *Gene & Development* 16:646–658.
17. Leopold AC, Musgrave ME. 1979. Respiratory changes with chilling injury of soybeans. *Plant Physiol* 64:702–705.
18. Matysiak K. i in. 2009. Regulatory wzrostu i rozwoju roślin – kierunki badań w Polsce i na świecie. *Postępy w Ochronie Roślin*. 49 (4):1810-1816
19. Marciniak K. i in. 2012. Gibereliny-struktura, biosynteza i dezaktywacja u roślin. *Postęp biochemii* 58 (1):14-25.
20. Nelson DC, Riseborough JA, Flematti GR, Stevens J, Ghisalberti EL, Dixon KW, Smith SM. 2009. Karrikins discovered in smoke trigger *Arabidopsis* seed germination by a mechanism requiring gibberellic acid synthesis and light. *Plant Physiol* 149:863–873.

21. Park SJ, Kwak KJ, Oh TR, Kim YO, Kang H. 2009. *Plant Cell Physiol* 50:869–878.
22. Penfield S, Josse EM, Kannagara R, Gilday AD, Halliday KJ, Graham IA. 2005. Cold and light control seed germination through the bHLH transcription factor SPATULA. *Current Biology* 15:1998–2006.
23. Pollock BM, Ross EE, Manalo R. 1969. Vigour of garden bean seeds and seedlings influenced by initial seed moisture, substrate, oxygen and imbibition temperature. *Journal of American Society of Horticulture Sciences* 94:577–584.
24. Posmyk MM, Bailly C, Szafrńska K, Janas KM, Corbineau F. 2005. Antioxidant enzymes and isoflavonoids in chilled soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seedlings. *J Plant Physiol* 162:403 – 412.
25. Steponkus PL. 1984. Role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation. *Ann Rev Plant Physiol* 35:54 –584.
26. Tommasi F, Paciolla C, De Pinto M, De Gara L. 2001. A comparative study of glutathione and ascorbate metabolism during germination of *Pinus pinea* L. seeds. *J Exp Bot* 52:1647–1654.
27. Waters MS, Smith SM. 2013. KAI2- and MAX2-mediated responses to karrikins and strigolactones are largely independent of HY5 in *Arabidopsis* seedlings. *Mol Plant* 6:63–75.
28. Wolko B, Clements JC, Naganowska B, Nelson MN, Yang H. 2011. *Lupinus*. In: Kole C (ed) *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources. Legume Crops and Forages*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp 56-61
29. Van Staden J., Sparg S.G., Kulkarni M.G., Light M.E., 2006. Post-germination effects of the smoke-derived compound 3-methyl-2H-furo[2,3-c]pyran-2-one, and its potential as a preconditioning agent. *Field Crops Research* 98: 98-105

ŹRÓDŁA INTERNETOWE:

1. <https://www.wikipedia.org> – cykl kwasu cytrynowego
2. <https://www.wikipedia.org> – glikoliza

STRESZCZENIE W JEZYKU POLSKIM I ANGIELSKIM

Imię i nazwisko autora pracy	inż. Małgorzata Kołton
Imię i nazwisko promotora pracy	prof. dr hab. inż. Agnieszka Płażek
Wydział – kierunek studiów	Wydział Rolniczo-Ekonomiczny, Rolnictwo, sp. agrobiologia
Katedra / Instytut	Katedra Fizjologii Roślin
Nadawany tytuł	magister

Tytuł pracy w języku polskim	Stymulacja procesu kiełkowania nasion łubinu wąskolistnego w warunkach chłodowych
Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów)	amylazy, dehydrogenazy, kiełkowanie nasion, stres chłodu, woda dymna
Streszczenie pracy (maksymalnie 1200 znaków)	Celem pracy było sprawdzenie wpływu naturalnego stymulatora wzrostu butenolidu, giberelin oraz trzygodzinnego moczenia w temperaturze pokojowej na kiełkowanie nasion wybranych linii łubinu wąskolistnego. Nasiona kiełkowały w 7°C (chłód) oraz w 13°C (kontrola). Proces kiełkowania badano na podstawie wizualnej skali długości hipokotyli oraz liczby nieskiełkowanych nasion. W badaniu została przeprowadzana analiza wpływu elektrolitów, aktywności puli dehydrogenaz oraz aktywności α -amylazy. Woda dymna stymulowała kiełkowanie nasion łubinu wąskolistnego poprzez aktywację dehydrogenaz zaangażowanych w fosforylację oksydacyjną. Kondycjonowanie w temperaturze pokojowej poprawiło kiełkowanie nasion w chłodzie, z kolei kwas giberelowy zmniejszył wigor kiełkowania wskutek zwiększenia przepuszczalności błony komórkowej.

Tytuł pracy w języku angielskim	Stimulation of germination process of narrow-leaf lupine seeds in cold conditions
Słowa kluczowe (maksymalnie 5 słów)	amylase, cold stress, dehydrogenase, seed germination, smoke water
Streszczenie pracy (maksymalnie 1200 znaków)	<p>The aim of the study was to check the influence of the natural growth stimulant butenolid (smoke water), gibberellin and soaking at room temperature for three hours for germination of seeds of selected narrow-leaf lupine lines and cultivars. The seeds germinated at 7 °C (cold) and 13 °C (control). Germination process was analyzed using visual scale of coleoptile length and on the basis of number of non-germinated seed. In the study the electrolyte leakage, pool dehydrogenase and α-amylase activity were analysed. Smoke water stimulated germination of narrow-leaf lupine seeds via activation of dehydrogenases engaged in oxidative phosphorylation. Seed conditioning at room temperature stimulated germination vigour at cold, in turn gibberellic acid decreased seed germination vigour due to an increase of cell membrane permeability.</p>