

# Ein Beitrag zur Physiologie der Blütenbildung von *Raphanus sativus* mit besonderer Rücksicht auf die Vernalisation

VON

Yoshio TASHIMA

(Laboratorium für Waldbau)

## Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung.....	25
II. Material und Methode.....	26
III. Orientierungsversuche.....	27
1) Einfluss von Dauer der Kälte auf die Vernalisation.....	27
2) Einfluss von Temperatur auf die Vernalisation.....	28
3) Einfluss des Alters der Keimlinge auf die Vernalisation.....	28
4) Einfluss des Wassergehalts der Keimlinge auf die Vernalisation.....	29
5) Bedeutung des Kotyledo für die Vernalisation.....	30
6) Photoperiodisches Verhalten nach der Vernalisation.....	21
7) Betrachtung der Orientierungsversuche.....	32
IV. Hauptversuche.....	32
1) Vernalisation der Keimachse.....	32
2) Änderungen des Trockengewichtes, des Wassergehalts und des Ge- halts an ätherlöslichen Substanzen im Laufe der Vernalisation.....	36
3) Devernalisation durch höhere Temperatur.....	38
4) Devernalisation durch Austrocknung der keimenden Samen.....	41
5) Blühhemmung durch Kurztagsbehandlung.....	41
6) Blütenbildung bei vollkommenem Lichtabschluss.....	44
7) Übertragung des blütenbildenden Reizes durch Pfropfung.....	45
8) Einfluss von Ribonucleinsäure oder ihren Abbauprodukten auf die Blütenbildung.....	48
V. Allgemeine Betrachtung der Ergebnisse.....	50
1) Zustandekommen und Umkehrbarkeit der Induktion.....	50
2) Lokalisation und Übertragbarkeit der Induktion.....	51
3) Mechanismus der Vernalisationsvorgänge.....	51
VI. Zusammenfassung.....	53
VII. Literaturverzeichnis.....	54

## I. Einleitung

Die Aufklärung der Physiologie der Blütenbildung ist hauptsächlich von zwei Richtungen angegriffen, d.h. Vernalisation<sup>(1, 19)</sup> und Photoperiodismus.<sup>(17, 18)</sup> In diesen zwei Richtungen wurden eine grosse Anzahl von Versuchen ausgeführt<sup>(2, 22, 39, 40, 43, 48, 56, 63, 69)</sup> und verschiedene Hypothesen über die Vorgänge bei der Blütenbildung aufgestellt.<sup>(1, 2, 4, 5, 6, 11, 12, 16, 21, 40, 47, 48, 56, 62, 63, 64, 76)</sup>

Betrachtet man die dadurch erbrachten Vernalisations Hypothesen, so können sie in grossen Zügen in zwei Behauptungen aufgeteilt werden:

1. Nach einigen Forschern handelt es sich bei dem Vernalisationsvorgang um eine Änderung des Plasmakolloides bzw. der Enzymaktivität, durch welche die Pflanzen zum Empfangen photoperiodischer Induktion befähigt werden.<sup>(1, 7, 41, 72, 74, 89, 106)</sup>
2. Dagegen nehmen andere Forscher an, dass irgend eine Vorstufe der die Blütenbildung veranlassenden Substanz, z.B. "Vernalin," durch Kältebehandlung im Pflanzenkörper vorbereitet wird.<sup>(21, 22, 62, 63, 65, 68)</sup>

In der vorliegenden Arbeit wurden einige Fragen des Mechanismus der Vernalisationsvorgänge mit *Raphanus* Pflanzen studiert. Der erste Teil ist der qualitativen Erfassung des allgemeinen Blühverhaltens gewidmet, im zweiten Teil wird in eingehenderen Versuchen, mehr auf den Mechanismus der Vernalisation eingegangen.

## II. Material und Methode

Als Versuchspflanzen diente *Raphanus sativus* L. var. "Kuroba Minowase." Es ist dies eine Winterannuelle die wegen der grossen Reaktionsfähigkeit für Vernalisation und der Leichtigkeit der Pfropfung von vielen japanischen Forschern vielfach benutzt worden ist.<sup>(13, 14, 26, 27, 28, 29, 30, 41, 42, 44, 45, 72)</sup>

Die im Leitungswasser bei 25–28° C aufgequollenen, 500–1000 Samen wurden nach 20–24 Stunden auf feuchten sterilen Sand in Petrischalen von 25 cm Durchmesser gelegt und im dunkeln Brutschrank zum Keimen gebracht.

Zur Vernalisation wurden gewöhnlich 50–100 gleichmässig keimende Samen auf reichlich befeuchtem sterilen Sand in Petrischalen von 9 cm Durchmesser im Dunkeln einer niedrigen Temperatur von 1–5° C ausgesetzt. Nach dieser Kältebehandlung wurden je 15–20 Keimlinge in mit Seesand gefüllte Blumentöpfe von 24 cm Höhe und 22 cm Durchmesser gepflanzt und unter mässiger Bewässerung ohne Düngung im Freien gezogen.

Als Blühdatum wurde der Zeitpunkt festgelegt, an dem die Blütenknospe auf den Versuchspflanzen mit dem blossen Auge sichtbar wurde. Als Massstab der Blütenbildung wurden einerseits das Blühprozent benutzt, d.h. der Prozentsatz der "blühenden" Individuen, andererseits das Blühalter in Tagen, nämlich die Tage nach der Zeitpunkt von der Pikierung in Blumentöpfe bis zu dem Zeitpunkt, wo das Blühprozent 80 erreicht war. Diese "zeitliche Methode," die wohl durch das Wachstum der Pflanzen und somit durch die Entwicklungsgeschwindigkeit der Blütenanlage beeinflusst werden kann, ist zwar nicht ganz fehlerfrei, doch ist man mit dieser Methode imstande, die allgemeine Neigung der Blütenbildung zu erfassen.<sup>(68)</sup>

Ausser den erwähnten Bewertungsverfahren wurde auch die "Blattzahlmethode" benutzt, bei der die Gesamtzahl der auf der Hauptachse gebildeten Blätter ermittelt wurde.<sup>(68)</sup> Bei *Raphanus*-Pflanzen lässt sich die Zahl der die Blätter tragenden Knoten der Hauptachse durch die Anlegung der Corymbien leicht eindeutig bestimmen, da im Bereich der Infloreszenz von Cruciferen keine Tragblätter anzutreffen sind. Wenn in allen Individuen die vegetative Entwicklungsstufe beim Versuchsbeginn gleich ist, kann diese Methode einen sichereren

Massstab für die Determination der Blütenbildung geben als die anderen. Beim Orientierungsversuche, wo die "zeitliche Methode" benutzt ist, bedeutet ein kürzeres Blühalter eine Blühförderung und ein längeres eine Blühhemmung.

Bei der "Blattzahlmethode" im Hauptversuch bedeutet eine geringere Blattzahl eine Blühförderung, und eine grössere eine Blühhemmung.

Die Versuche wurden in Fukuoka (33° 30' n.B.) angefangen, nachher in Kagoshima (31° 40' n.B.), Kyoto (35° n.B.) und wieder in Kagoshima ausgeführt. Die längste Tageslänge einschliesslich der photoperiodisch wirksamen Dämmerung ist von Süden nach Norden je 15<sup>h</sup> 13', 15<sup>h</sup> 22' und 15<sup>h</sup> 29', die kürzeste 11<sup>h</sup> 02', 10<sup>h</sup> 55' und 10<sup>h</sup> 48'.

### III. Orientierungsversuche

#### 1. Einfluss von Dauer der Kälte auf die Vernalisation

Die Keimlinge, an welchen die Wurzelspitzen eben erst sichtbar wurden, wurden einer Kältebehandlung von  $5 \pm 2^\circ \text{C}$  ausgesetzt. Nach 3- bis 20 tägiger Behandlung wurden die Keimlinge unter der natürlichen Tageslänge gezüchtet. Die Versuche wurden im Jahre 1948-1950 in Fukuoka und im Frühling bis zum Herbst des Jahres 1951 in Kagoshima wiederholt durchgeführt.

Da die Ergebnisse aus allen Versuchen gut übereinstimmten, ist nur das Resultat der Versuche des Jahres 1949 in Tabelle 1 wiedergegeben. Wie Tab. 1 zeigt, weist im Frühling schon eine 5-tägige Behandlung einen, wenn auch schwachen, aber deutlich vernalisierenden Effekt auf, während im Sommer und im Herbst eine 8 tägige Behandlung nötig ist, um die Pflanzen zum Blühen zu bringen. Nach dem Blühalter beurteilt, stellt es sich heraus, dass der vernalisierende Effekt mit der Dauer der Kältebehandlung bis zu 15 Tagen zunimmt, um dann unverändert zu bleiben. Der Effekt durch kürzere Vernalisationsdauer, nämlich von 5- bis 10-tägiger

Tabelle 1. Blühprozent und Blühalter von *Raphanus*-Pflanzen in Abhängigkeit von Vernalisationsdauer.  
Zahl der Versuchspflanzen je ca. 30. (Versuch 1949 in Fukuoka).

Aussaat-Datum		Vernalisationsdauer in Tagen							
		0	3	5	8	10	12	15	20
25. April	Blühprozent nach 50 Tagen	0	0	100	100	100	100	100	100
	Blühalter* in Tagen	—	—	47	34	30	28	24	23
23. Juli	Blühprozent nach 50 Tagen	0	0	0	30	73	100	100	100
	Blühalter in Tagen	—	—	—	74	54	32	19	19
21. Sept.	Blühprozent nach 50 Tagen	0	0	20	46	66	100	100	100
	Blühalter in Tagen	—	—	—	69	58	37	29	27

\* Alter in Tagen, in denen 80% der Versuchspflanzen zum Aufblühen kamen.

Kältebehandlung verändert sich zwar in verschiedenen Aussaatdaten, aber der maximale vernalisierende Effekt wird das ganz Jahr hindurch immer durch 15–20 tägige Behandlung erreicht.

## 2. Einfluss von Temperatur auf die Vernalisation<sup>(31)</sup>

Die Vernalisation wurde im Kühlschrank mit den Temperaturen von 0, 3, 7 und 15° C ausgeführt. Die Temperaturschwankungen betragen höchstens 2° C. Nach der Vernalisation von 0, 5, 10 und 15 Tagen wurden die Keimlinge am 20. April 1951 in die Töpfe gepflanzt und unter natürlicher Tageslänge gezüchtet (Tabelle 2).

50 Tage nach der Aussaat zeigt das Blühprozent einen fast gleichen Wert sowohl bei 3° C als auch bei 7° C. In bezug auf das Blühalter trat jedoch eine Förderung bei 7° C am deutlichsten auf; sie nimmt mit absteigender Temperatur ab. Die Kältebehandlung bei 3° C hat eine durchschnittliche Verzögerung des Blühens um 4.7 Tage, die bei 0° C sogar eine solche von 16.0 Tagen als bei 7° C. An den mit 15° C behandelten Pflanzen wurde keine Blütenbildung beobachtet.

Tabelle 2. Blühprozent und Blühalter von *Raphanus*-Pflanzen in Abhängigkeit von Vernalisationstemperatur. Zahl der Versuchspflanzen in Klammern (Versuch April bis Juni 1951 in Kagoshima).

Vernalisations- temperatur		Vernalisationsdauer in Tagen			
		0	5	10	15
0 ± 2° C	Blühprozent nach 50 Tagen	0	40	100	100
	Blühalter* in Tagen	— (20)	70 (20)	39 (20)	24 (20)
3 ± 2° C	Blühprozent nach 50 Tagen	0	100	100	100
	Blühalter in Tagen	— (20)	44 (20)	30 (20)	25 (20)
7 ± 2° C	Blühprozent nach 50 Tagen	0	100	100	100
	Blühalter in Tagen	— (20)	37 (20)	26 (18)	22 (20)
15 ± 2° C	Blühprozent nach 50 Tagen	0	0	0	0
	Blühalter in Tagen	— (20)	— (20)	— (20)	— (20)

\* Alter in Tagen, in denen 80% der Versuchspflanzen zum Aufblühen kamen.

## 3. Einfluss des Alters der Keimlinge auf die Vernalisation

Nach dem 24 stündigen Aufquellen bei 28 ± 2° C wurden die Samen im Dunkeln in der gleichen Temperatur verschieden lang (0, 12, 24 und 72 Stunden) gezüchtet. Als die Samen je nach der Vorzucht-dauer verschiedene Stufen der Keimung erreicht

Tabelle 3. Blühprozent in Abhängigkeit vom Alter der Keimlinge.  
Zahl der Versuchspflanzen je ca. 30 (Versuch 1948 in Fukuoka).

Vorzüchtdauer bei 28° C vor der Kältebehandlung	Vernalisa- tionsdauer in Tagen	Aussaatdatum	Blühprozent nach		
			20 Tagen	30 Tagen	50 Tagen
Sofortige Kältebehandlung (ohne Vorzucht)	20	22. Sept.	60	96	100
	15	17. Sept.	0	35	55
	10	12. Sept.	0	15	30
	5	7. Sept.	0	0	0
	0	2. Sept.	0	0	0
12 Stunden (Wurzelspitze) (erst sichtbar)	20	22. Sept.	35	95	100
	15	17. Sept.	0	90	100
	10	12. Sept.	0	43	55
	5	7. Sept.	0	0	0
	0	2. Sept.	0	0	0
24 Stunden	20	22. Sept.	40	87	100
	15	17. Sept.	0	50	68
	10	12. Sept.	0	15	20
	5	7. Sept.	0	0	0
	0	2. Sept.	0	0	0
72 Stunden (Keimachse 5.3) (cm Länge)	20	22. Sept.	33	33	33
	15	17. Sept.	0	18	18
	10	12. Sept.	0	10	10
	5	7. Sept.	0	0	0
	0	2. Sept.	0	0	0

hatten, wurden sie in Kühlkammer von  $5 \pm 2^\circ \text{C}$  gebracht und verschieden lang bis zu 20 Tagen vernalisiert. Nach der Kältebehandlung wurden die Keimlinge in die Töpfe verlegt und unter natürlicher Tageslänge gezogen. Die Versuche wurden im Herbst 1948 ausgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 wiedergegeben.

Wie aus dem Blühprozent ersichtlich ist, wurden die Pflanzen, die nach 12 stündiger Vorzüchtung zum ersten Stadium der Keimung gelangt und dann der Kältebehandlung ausgesetzt waren, am stärksten in der Blütenbildung gefördert.

Die ohne Vorzüchtung behandelten und die anfangs 24 Stunden lang warm vorbehandelten Pflanzen erwiesen in grossen Zügen eine gleiche, aber etwas schwächere, vernalisierende Wirkung wie die 12 Stunden lang warm gehaltenen. Durch 20 tägige Kältebehandlung hatten sie aber alle eine vollständige Blütenbildung zur Folge. Die anfangs 72 Stunden lang warm vorbehandelten zeigten nach 50 Tagen nur ein Blühprozent von 33.

#### 4. Einfluss des Wassergehalts der Keimlinge auf die Vernalisation

Als die Wurzelspitzen eben erst sichtbar wurden, wurden die keimenden Samen in Petrischalen mit Quarzsand und Zuckerlösung von verschiedenen Konzentrationen (0, 0.25 und 0.5 Mol) gezogen, und verschieden lang vernalisiert (0, 5, 10 und 15 Tagen).

Nach der Kältebehandlung wurde ein Teil von Keimlingen zur Bestimmung des Wassergehalts benutzt, der übrige Teil wurde unter natürlicher Tageslänge im Herbst 1949 gezüchtet (Tabelle 4). Aus Tabelle 4 kann man leicht ersehen, dass der Wassergehalt der vernalisierenden Keimlinge durch Zuckerlösungen geeigneter Konzentration reguliert werden kann.

Während der Vernalisation nimmt der Wassergehalt im Wasser stark zu, und

Tabelle 4. Blühprozent in Abhängigkeit vom Wassergehalt der Samen in der Vernalisation. Zahl der Versuchspflanzen für jede Gruppe 20 (Versuch September bis November 1949 in Fukuoka).

Flüssigkeit Zum Quellen	Vernalisations- dauer in Tagen	Wassergewicht/ Frischgewicht	Wassergewicht/ Trockengewicht	Blühprozent nach	
				30 Tagen	50 Tagen
Wasser	15	4.59	0.82	100	100
	10	3.58	0.78	30	60
	5	2.56	0.72	0	20
	0	0.98	0.50	0	0
0.25 Mol Rohrzucker	15	2.27	0.69	60	80
	10	2.25	0.66	0	0
	5	2.39	0.70	0	0
0.5 Mol Rohrzucker	15	1.09	0.52	10	20
	10	1.19	0.54	0	0
	5	2.29	0.68	0	0

zwar nach 15 Tagen von 50 % bis auf 82 % des Trockengewichtes; in Rohrzuckerlösungen bleibt er bei niederen Werten oder nimmt sogar mit der Zeit allmählich ab. Die Empfindlichkeit der Keimlinge für die Kältebehandlung nimmt mit der Herabsetzung des Wassergehalts ab. Dabei wurde der Effekt der Kältebehandlung beim Anfangsstadium der Vernalisation (5- bzw. 10-tägige Kältebehandlung) durch die Abnahme des Wassergehalts besonders stark beeinträchtigt. Nach 50 Tagen hat die 5-tägige Kältebehandlung ein Blühen von 20 % der Versuchspflanzen zur Folge, während die entwässerten Keimlinge nicht zum Blühen kamen.

In den Serien der 5-tägigen Vernalisation ist der Unterschied im Wassergehalt in Abhängigkeit von der Zuckerkonzentration zwar ein geringerer (68, 70 und 72 % des Trockengewichtes in je 0.5, 0.25 Mol Zuckerlösung und Wasser); die geringe Entwässerung scheint aber einen bedeutenden Einfluss auf die vernalisierende Wirkung zu haben; sodass im Gegensatz zu den mit Wasser behandelten Pflanzen, keine der mit Zucker behandelten zur Blütenbildung gelangte. Auch bei längst vernalisierten Serien vermindert sich die Zahl der blühenden Pflanzen mit steigender Zuckerkonzentration, und somit mit absteigendem Wassergehalt, während die Kontrollpflanzen alle schon nach 30 Tagen zum Blühen kamen.

##### 5. Bedeutung des Kotyledo für die Vernalisation

Bei *Raphanus* sind die Kotyledonen mit reichlichen Reservestoffen versehen. Um aufzuhellen, welche Rolle die in Kotyledonen enthaltenen Stoffe beim Vernalisationsvorgang spielen, wurden die Kotyledonen am Anfang der Kältebehandlung auf verschiedene Grössen abgeschnitten. Sobald die Kotyledonen aus der Samenschale hervortraten, wurden eine oder beide von ihnen am oberen Ende des Stiels entfernt. Die operierten Samen wurden bei  $5 \pm 2^\circ \text{C}$  vernalisiert, und danach unter natürlicher Tageslänge gezüchtet. Die Resultate der Versuche vom Jahre 1950 sind in Tabelle 5 gezeigt.

Die Keimlinge, deren Kotyledonen vollständig beseitigt wurden, kamen durch 10- oder mehr tägige Kältebehandlung im Frühling zur Blüte; im Sommer und

Table 5. Blühprozent in Abhängigkeit von Beseitigung der Kotyledonen bei Vernalisation. Zahl der Versuchspflanzen für jede Gruppe je 30 (Versuch April bis November 1950 in Fukuoka).

Aussaat Datum	Zahl der Kotyledonen	Tage nach Aussaat	Vernalisationsdauer in Tagen				
			0	5	10	15	20
25. April	2	30	0	46	100	100	100
		50	0	100	100	100	100
	1	30	0	0	30	100	100
		50	0	0	60	100	100
	0	30	0	0	100	100	100
		50	0	0	100	100	100
23. Juli	2	30	0	0	30	100	100
		50	0	0	60	100	100
	1	30	0	0	0	60	100
		50	0	0	0	100	100
	0	30	0	0	0	0	0
		50	0	0	0	0	0
21. Sept.	2	30	0	0	50	50	90
		50	0	20	70	100	100
	1	30	0	0	0	20	50
		50	0	0	0	40	90
	0	30	0	0	0	0	0
		50	0	0	0	0	20

Herbst aber fast gar nicht. Die Pflanzen mit einem der Kotyledonen verhalten sich im Frühling den Kontrollpflanzen ganz ähnlich, nicht so dagegen später. Dies ist auch durch viele hier nicht angegebene Versuche bestätigt.

Mit fortschreitender Jahreszeit übt die Entfernung auch von nur einem Kotyledo einen bedeutenden, hemmenden Einfluss auf die Blütenbildung aus. Die Gründe hierfür können wohl auf die devernalisierende Wirkung durch obwaltende Faktoren der Jahreszeiten zurückgeführt werden.

## 6. Photoperiodisches Verhalten nach der Vernalisation

Nach der Vernalisation wurden die Keimlinge unter verschiedenen Tageslängen (d.h. 8-stündiger Kurztag, natürliche Tageslänge und Dauerlicht) gezogen. Die Versuche wurden im Sommer 1950 (Tab. 6) und nochmals im Frühjahr 1951

Tabelle 6. Blühprozent nach 30 Tagen in Abhängigkeit von der Tageslänge. Versuchspflanzen in Klammern (Versuch Juli bis August 1950 in Fukuoka).

Belichtungsbedingung	Vernalisationsdauer in Tagen			
	0	5	10	15
Dauerlicht	0 (20)	5 (20)	35 (20)	100 (20)
Natürliche Tageslänge	0 (19)	0 (15)	40 (20)	100 (20)
8-stündiger Kurztag	0 (20)	0 (20)	0 (25)	21 (29)

durchgeführt. Die Blütenbildung der vernalisierten Keimlinge zeigt sich entsprechend der Verlängerung der Tageslänge gefördert.

## 7. Betrachtung der Orientierungsversuche

Die erwähnten Versuche zeigen, dass für *Raphanus*-Pflanzen die Optimaltemperatur für Vernalisation etwa bei 5–8° C liegt und die Temperatur von mehr als ca. 15° C keinen vernalisierenden Effekt mehr ausübt. Der vernalisierende Effekt beginnt schon nach 5-tägiger Behandlung bemerkbar zu werden und erreicht sein Maximum bei etwa 15 bis 20-tägiger Kältebehandlung. Der Effekt einer Vernalisation kürzerer Dauer, nämlich mit 5 bis 10-tägiger Kältebehandlung, verändert sich mit der Jahreszeit, d. h. vor der Fröhsommerregenperiode ("Tsuyu") hat eine 5-tägige Vernalisation schon eine deutliche, blühhördernde Wirkung, nach dieser Zeit aber ist eine längere Kältebehandlung nötig, um wirksam zu sein. Diese Veränderung im Vernalisationsverhalten mit der Jahreszeit mag wohl nicht nur auf die Tageslänge, sondern auch auf noch andere Faktoren zurückzuführen sein, z. B. die Änderung der Temperatur bzw. der Lichtqualität.

Wie aus dem Erwähnten hervorgeht, kann die ganze Periode der Vernalisation bequemlichkeitshalber in 3 Stadien geteilt werden: das erste Stadium umfasst die ersten 5 Tage, innerhalb deren eine vernalisierende Wirkung erst eben wahrnehmbar wird, das zweite Stadium von weiteren 5 Tagen, und zuletzt das dritte Stadium von ebenfalls 5 Tagen, in denen die Vernalisation ihre maximale Wirkung erreichte.

Wenn die Samen sich im ersten Stadium der Keimung befinden, wo die Wurzelspitzen eben sichtbar sind und der Wassergehalt mehr als 70 % des Trockengewichtes beträgt, so reagieren sie auf die Kälte am empfindlichsten, werden aber allmählich mit schreitender Keimung und mit Verminderung des Wassergehalts unempfindlicher.<sup>(27)</sup>

Die der Kotyledonen beraubten Keimlinge, die der herauspräparierten Embryonen des Getreides vergleichbar sind, sind zwar auch vernalisierbar<sup>(42, 45)</sup> aber der Effekt ist labil und kann leicht rückgängig gemacht werden. Nach der Vernalisation ist das Blühen von *Raphanus*-Pflanzen durch Langtage zu fördern<sup>(14, 30)</sup> (s. Tabelle 6 und 12).

## IV. Hauptversuche

In den Orientierungsversuchen wurde das Blühprozent als ein Massstab zur Bestimmung der Blütenbildung benützt; in folgenden aber wurde ausserdem die Zahl der Blätter oder Knoten an der Hauptachse zur Beurteilung herangezogen.

### 1. Vernalisation der Keimachse<sup>(23, 42, 45, 77, 78, 79, 102, 104)</sup>

1-a. Als bei der Keimung die Wurzelspitzen erst sichtbar wurden, wurden die Keimlinge von den Kotyledonen oder den Hypokotylen befreit, wie man es aus der Fig. 1 ersehen kann. Die so operierten Pflanzen wurden bei  $5 \pm 2^\circ \text{C}$  vernalisiert und unter natürlicher Tageslänge gezüchtet.

Wie aus Tabelle 7 ersichtlich ist, sind die Pflanzen ohne Kotyledonen bzw. ohne Hypokotyl in verschiedenen Graden vernalisierbar. Die 10-tägige Kältebehandlung ruft bei keimblattlosen Pflanzen eine frühere Blütenbildung hervor als bei intakten

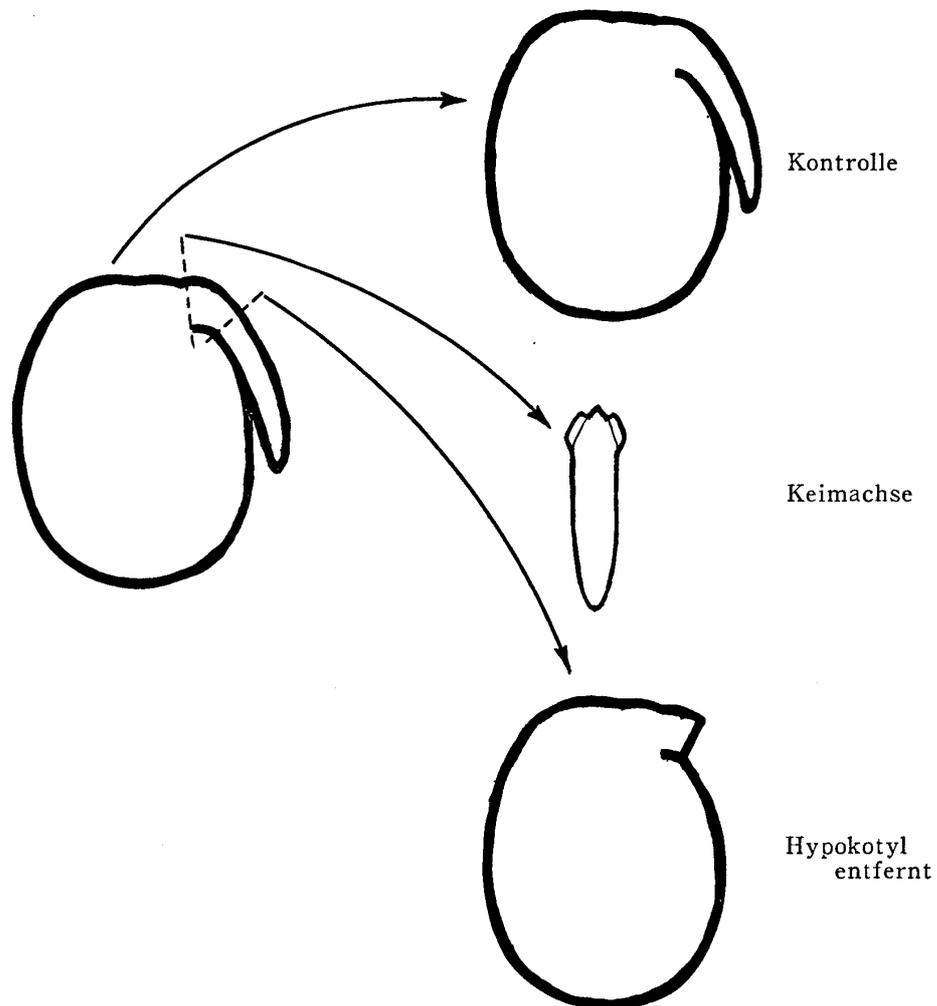


Fig. 1. Methode der Operation

Pflanzen: in bezug auf das Blühalter kamen die operierten um 5 Tage früher zum Blühen, in bezug auf die Knotenzahl um 2.2 geringer als die Kontrollpflanzen.

1-b. Die Kotyledonen wurden vor und nach der Kältebehandlung bei  $5 \pm 2^\circ \text{C}$  beseitigt. Zur Kontrolle dienten die intakten Pflanzen. Alle wurden am 20. April 1951 ausgesät und unter natürlicher Tageslänge gezogen (Tabelle 8).

Durch 6 tägige Kältebehandlung blühten die Kontrollpflanzen, während die Pflanzen, deren Kotyledonen vor der Vernalisation entfernt wurden, erst durch 9 tägige Kälte zum Blühen gebracht werden konnten. Wenn aber die Kältebehandlung genügend lang dauerte, war das Vorhandensein von Kotyledonen für die Vernalisation von keiner nennenswerten Bedeutung. Dies weist darauf hin, dass das Vorhandensein der Kotyledonen während der Kältebehandlung, besonders in dem früheren Stadium der Vernalisation, eine grosse Bedeutung für die durch Kälte hervorgerufene physiologische Veränderung haben mag.

Bei den Keimlingen, deren Kotyledonen nach Beendigung der Kältebehandlung beseitigt wurden, erfuhr die Blütenbildung eine ziemlich starke Förderung, d.h.

Tabelle 7. Blühalter und Knotenzahl in Abhängigkeit mit der Beseitigung von Kotyledonen oder Hypokotyl.  
Pikiert in Töpfen am 9. April, 1951 in Kagoshima.  
Zahl der Versuchspflanzen in Klammern.

Behandlung	Vernalisationsdauer in Tagen	Blühalter* in Tagen	Knotenzahl
Kontrolle (intakt)	30	23	8.5 ± 1.0 (20)
	20	24	8.3 ± 1.0 (20)
	15	24	9.0 ± 1.1 (20)
	10	37	12.2 ± 1.2 (20)
Kotyledonen entfernt	30	23	8.2 ± 1.1 (25)
	20	24	8.3 ± 1.0 (20)
	15	28	8.5 ± 1.0 (22)
	10	32	10.0 ± 1.1 (25)
Hypokotyl entfernt	30	20	8.4 ± 1.2 (25)
	20	22	8.7 ± 1.0 (23)
	15	23	9.3 ± 1.0 (25)
	10	25	12.2 ± 1.0 (24)

\* Tage nach der Aussaat bis zum Blühprozent 80.

Tabelle 8. Blühalter und Knotenzahl in Abhängigkeit mit der Zeit der Beseitigung von Kotyledonen. Zahl der Versuchspflanzen in Klammern (Versuch März bis Mai 1951 in Kagoshima).

Behandlung	Vernalisationsdauer in Tagen	Blühalter* in Tagen	Knotenzahl
Kontrolle (intakt)	15	22	8.8 ± 1.0 (25)
	12	24	11.0 ± 1.1 (20)
	9	27	12.1 ± 1.6 (24)
	6	41	12.8 ± 1.2 (25)
	3	> 70	— (25)
	0	> 70	— (25)
Kotyledonen entfernt nach Vernalisation	15	24	8.6 ± 1.1 (24)
	12	24	9.3 ± 1.0 (25)
	9	29	10.4 ± 1.0 (25)
	6	42	10.5 ± 1.2 (23)
	3	57	12.7 ± 1.5 (25)
	0	> 70	— (25)
Kotyledonen entfernt vor Vernalisation	15	19	8.8 ± 1.0 (25)
	12	22	9.2 ± 1.0 (25)
	9	26	10.3 ± 1.0 (24)
	6	> 70	— (25)
	3	> 70	— (25)
	0	> 70	— (25)

\* Tage nach der Aussaat bis zum Blühprozent 80.

schon durch 3-tägige Vernalisation entwickelten die operierten Pflanzen 12.7 Knoten mit Blütenknospen, während die intakten Pflanzen nicht blühten. Die Versuchspflanzen kamen durch 6 tägige Vernalisation zur Blüte, nachdem sie durchschnittlich 10.5 Knoten, im Gegensatz zu 12.8 bei den Kontrollen, entwickelt hatten. Bei 9-tägiger Kältebehandlung entwickelten die intakten Pflanzen 12.1, die operierten 10.4 Knoten.

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass der Effekt der Vernalisation durch das Vorhandensein von Kotyledonen etwas beeinträchtigt wird, oder die Kotyledonen bei dem Wachstum der Pflanzen den durch die Kälte hervorgerufenen physiologischen Zustand vermindern oder vernichten.

1-c. Keimende Embryonen wurden von den Kotyledonen befreit. Die keimblattlosen Keimachsen wurden in verschiedener Weise, wie in Fig. 2 veranschaulicht ist, bei  $5 \pm 2^\circ \text{C}$  vernalisiert. Als Kontrolle dienten die von den Kotyledonen befreiten Keimachsen, welche auf 1 %-igem Agar gelegt waren. Die erste Versuchsgruppe besteht aus den ähnlich operierten Keimachsen, deren Hypokotyle in die Agarschicht hineingesteckt wurden. In der zweiten Gruppe wurde der obere Teil der Keimachse im Agarboden in Petrischalen hineingesteckt. Die Schale wurde nun umgekehrt, sodass die Keimachsen in die normale Lage kamen und nur die Hypokotyle in der Luft hervortraten. In der letzten Gruppe wurden die operierten Keimachsen tief in die Agarschicht eingebettet, so dass den Pflanzen keine oder nur geringe Menge Luft zur Verfügung stand. Am 22. März 1951 wurde die Kältebehandlung abgebrochen und die Pflanzen wurden unter natürlicher Tageslänge kultiviert.

Die Keimachsen, von denen sich ein Teil in der Luft befunden hatte, entwickelten sich im Laufe der Vernalisation ein wenig, während die vollständig im Agar eingebetteten kein nennens-

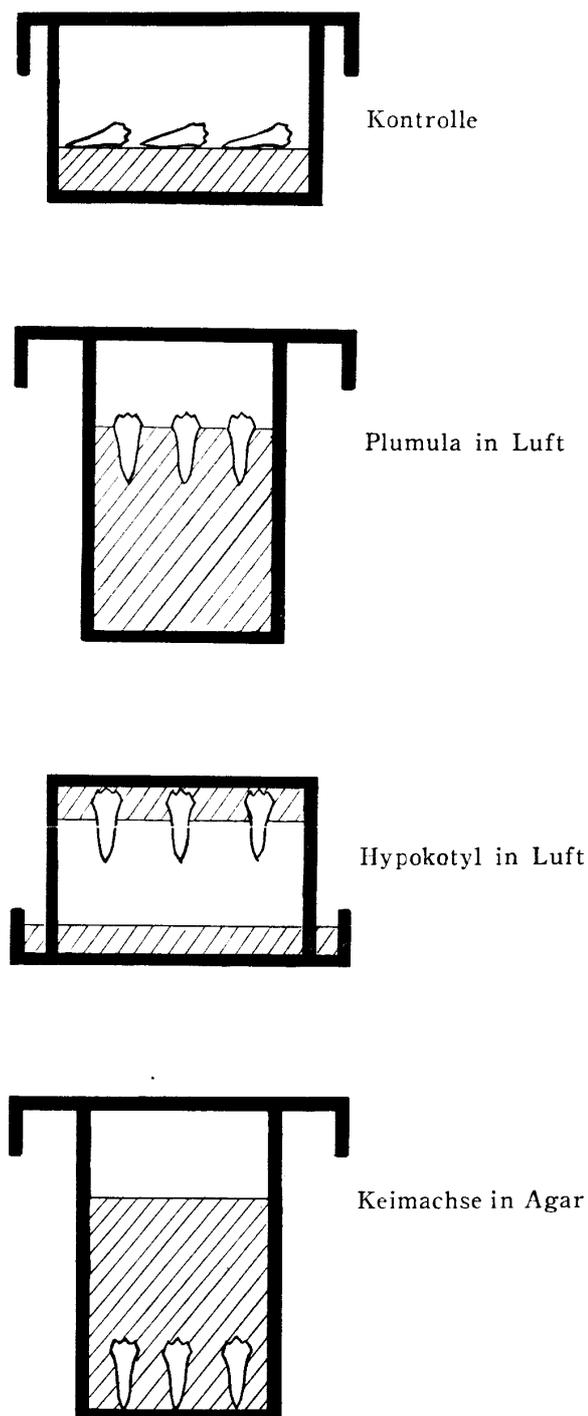


Fig. 2. Methode der Luftzufuhr bei der Vernalisation. Agar-Schicht schraffiert.

wertes Wachstum aufwiesen; nach der Pikierung jedoch entwickelten sich all die Versuchspflanzen ganz normal.

Betrachtet man die in Tabelle 9 angegebenen Ergebnisse, so erfuhren die Pflanzen, deren Plumula oder Hypokotyl während der Kältebehandlung sich in der Luft befanden eine ebenso starke vernalisierende Wirkung wie die Kontrollpflanzen. Die Pflanzen dagegen, welche vollständig ca. 7 cm tief im Agar eingebettet waren, bei denen also der Luftzufuhr sehr gering war, kamen selbst 70 Tage nach der Pikierung noch nicht zur Blüte, obwohl sie 20 oder noch mehr Knoten entwickelten. Der Luftzufuhr ist für die Vernalisation der vorliegenden Pflanzen unentbehrlich, wie schon für andere Pflanzen bekannt ist.<sup>(24)</sup>

Tabelle 9. Die Abhängigkeit des Blühalters und der Knotenzahl von der Luftzufuhr bei der Vernalisation der von den Kotyledonen befreiten Keimachse. Zahl der Versuchspflanzen in Klammern (Versuch Feb. bis Mai 1951 in Kagoshima).

Behandlung der Embryonen	Vernalisationsdauer in Tagen	Blühalter* in Tagen	Knotenzahl
Kontrolle (intaktes Em- bryo in Luft)	25	14	8.7 ± 1.0 (25)
	20	19	8.7 ± 1.0 (25)
	15	19	9.0 ± 1.0 (25)
	10	22	10.3 ± 1.2 (25)
Plumula in Luft, Hypokotyl in Agar	25	17	8.6 ± 1.1 (25)
	20	19	9.0 ± 1.0 (25)
	15	18	9.3 ± 1.3 (25)
	10	21	10.5 ± 1.2 (25)
Hypokotyl in Luft, Plumula in Agar	25	17	8.5 ± 1.1 (25)
	20	22	9.1 ± 1.1 (25)
	15	22	9.5 ± 1.0 (25)
	10	22	10.5 ± 1.4 (25)
Keimachse vollständig in Agar	25	> 70	20.0 ± 2.2 (15)**
	20	> 70	20.2 ± 1.3 (13)**
	15	> 70	20.0 ± 1.8 (18)**
	10	> 70	20.1 ± 2.0 (22)**

\* Tage von der Aussaat bis zum Blühprozent 80.

\*\* Knotenzahl in 70 Tagen nach Aussaat.

## 2. Änderungen des Trockengewichtes, des Wassergehalts und des Gehalts an ätherlöslichen Substanzen im Laufe der Vernalisation.

Ausgewählte Samen wurden auf dem Sande in einer grossen Petrischale unter genügender Wasserversorgung bei  $28 \pm 1^\circ \text{C}$  ausgesät und in einer Dunkelkammer zum Keimen gebracht. Sobald bei der keimenden Samen die Wurzelspitzchen sichtbar wurden, wurden möglichst gleichmässige Keimlinge ausgewählt. 5 Petrischalen, die je 100 oder noch mehr Keimlinge enthielten, wurden unter  $5 \pm 2^\circ \text{C}$  gesetzt. Im Laufe der Kältebehandlung wurden je 20 Keimlinge aus jeder Schale

herausgenommen und untersucht. Sie wurden mit einem scharfen Rasiermesser in Kotyledonen und Keimachsen zerlegt, und ihr Trockengewicht wurde festgestellt. Dann wurden die beiden Teile der Embryonen im Soxhlet-Apparat getrennt mit Äther extrahiert. Die extrahierte Substanz wurde als Rohfett betrachtet. Die Ergebnisse wurden in Tabelle 10-a zusammengefasst.

Wie zu erwarten ist, vermindert sich das Trockengewicht des Keimlings im Laufe der Vernalisation allmählich. Betrachtet man aber getrennt den Kotyledo und die Keimachse, so nimmt das Trockengewicht des ersteren ab, während der des letzteren zunimmt. Das Trockengewicht der Kotyledonen vermindert sich anfangs mit steigender Geschwindigkeit, die jedoch nach etwa zehn Tagen wieder abnimmt. Setzt man die Verminderung in den ersten 5 Tagen gleich 100, so ist sie in den zweiten 5 Tagen 190, in den dritten aber 81, wie aus Tabelle 10-b ersichtlich ist.

Bei der Keimachse verläuft die Gewichtsveränderung im gerade umgekehrten Sinne.

Der Wassergehalt der Keimachse ist höher als der der Kotyledonen. Er nimmt sowohl in den Kotyledonen als auch in der Keimachse in den ersten 5 Tagen stark, dann langsamer zu.

Der Rohfettgehalt macht bei Kotyledonen etwa 50 % des Trockengewichtes aus. Die Änderung desselben verläuft ganz anders als die des Trockengewichtes. Die Verminderung ist im ersten Stadium der Vernalisation stärker, wird im zweiten schwächer, um im Endstadium wieder stärker zu werden.

Tabelle 10-a. Änderung der Inhaltsstoffe von Kotyledonen und Keimachse in der Vernalisation. Prozentsatz in Bezug auf das Trockengewicht in Klammern (Versuch März bis April 1949 in Fukuoka).

		Vernalisationsdauer in Tagen			
		0	5	10	15
Frischgewicht in g pro 100 Embryonen	Kotyledo	2.142	2.841	3.033	3.304
	Keimachse	0.610	2.119	3.296	4.517
Trockengewicht in g pro 100 Embryonen	Kotyledo	1.310	1.250	1.137	1.088
	Keimachse	0.220	0.271	0.387	0.429
Wassergehalt in g pro 100 Embryonen	Kotyledo	0.832 (64)	1.590 (127)	1.896 (167)	2.217 (204)
	Keimachse	0.390 (178)	1.848 (683)	2.915 (766)	4.089 (955)
Rohfettgehalt in g pro 100 Embryonen	Kotyledo	0.650 (50)	0.531 (43)	0.525 (46)	0.432 (40)
	Keimachse	0.081 (37)	0.079 (29)	0.069 (18)	0.048 (11)
Rückstand von Äther-Extraktion in g pro 100 Embryonen	Kotyledo	0.660	0.719	0.611	0.656
	Keimachse	0.139	0.191	0.312	0.380

Tabelle 10-b. Ab- und Zunahme der Inhaltsstoffe der Embryonen in der Vernalisation, berechnet aus den Zahlen von Tab. 10-a.

		Unterschied zwischen Tagen		
		0 und 5	5 und 10	10 und 15
Änderung von Trockengewicht (g)	Kotyledo	-0.0598 (-100)	-0.1138 (-190)	-0.0487 (-81)
	Keimachse	+0.0511 (+100)	+0.1098 (+215)	+0.0481 (+94)
Änderung von Rohfett (g)	Kotyledo	-0.1184 (-100)	-0.0063 (-5)	-0.0932 (-79)
	Keimachse	-0.0013 (-100)	-0.0103 (-831)	-0.0201 (-1542)
Änderung von Rückstand von Äther-Extraktion (g)	Kotyledo	+0.0586 (+100)	-0.1075 (-183)	+0.0445 (+76)
	Keimachse	+0.0524 (+100)	+0.1206 (+232)	+0.0682 (+130)

Der Rohfettgehalt der Keimachse macht etwa 37 % des Trockengewichtes aus. Die Verminderung ist zuerst schwach und wird im Verlaufe der Vernalisation immer stärker. Setzt man die Abnahme in den ersten 5 Tagen gleich 100, so erscheint die Abnahme in den folgenden beiden Perioden von je 5 Tagen als 831 bzw. 1542.

Der Gehalt an Rückstand von Äther-Extraktion des Kotyledo nimmt im ersten Stadium der Vernalisation zu, nimmt dann stark ab, um im Endstadium wieder zuzunehmen. In der Keimachse nimmt er mit der Zeit immer zu und zwar im mittleren Stadium am stärksten. Wie aus Tabelle 10-b ersichtlich ist, ist bei den Kotyledonen in den ersten 5 Tagen eine starke Verminderung von Rohfett und eine Zunahme der ätherunlöslichen Substanzen bemerkbar. Dies weist wohl darauf hin, dass das Rohfett in Kotyledonen erst nach einer Umwandlung zu ätherunlöslichen Substanzen, vielleicht Kohlenhydraten, zur Keimachse geliefert wird. In der Keimachse ist die Verminderung von Rohfett nicht auffällig; die anfängliche Entwicklung der Achse scheint vorwiegend auf den von den Kotyledonen gelieferten Substanzen gestützt zu sein. Daraus erklärt sich wohl auch, dass die Beseitigung der Kotyledonen vor der Kältebehandlung durch die Beschränkung der Nährstoffzufuhr den Erfolg der kurzen z.B. 5-tägigen Vernalisation stark beeinträchtigt.

In den nächsten 5 Tagen ist die Verminderung des Fettgehalts in den Kotyledonen sehr gering, dagegen die von ätherunlöslichen Substanzen beträchtlich, was darauf hinweist, dass in den Kotyledonen die im ersten Stadium gebildeten ätherunlöslichen Substanzen nun stark verbraucht werden. In der Keimachse beginnt der Abbau des Rohfetts auf dem Wege von Kohlenhydraten. Damit scheint die Tatsache in irgend einem Zusammenhang zu stehen, dass in diesem Stadium die Keimachse ohne Kotyledonen ebenso gut wie die intakte Pflanze vernalisiert wird. In den folgenden 5 Tagen ist eine noch stärkere Verminderung des Rohfetts auffällig.

### 3. Devernalisation durch höhere Temperatur<sup>(25, 52, 70, 81, 89)</sup>

Nach der Vernalisation wurden die Keimlinge in Blumentöpfen pikiert und in einem Dunkelkammer einer 5- oder 10-tägigen Wärmebehandlung von 25° C und 30° C unterworfen. Nach der Behandlung wurden sie im Jahre 1951 in Kagoshima unter natürlicher Tageslänge und im Jahre 1952 in Kyoto unter Dauerlicht gezogen.

Wie man aus Tabelle 11-a ersehen kann, übt die nachherige Wärmebehandlung von 30° C, nicht aber die bis zu 25° C, einen bedeutenden Einfluss auf den Effekt der Vernalisation aus. Der Effekt, der durch die 7 tägige Kältebehandlung hervorgerufen wurde, kann rückgängig gemacht werden, wenn man die Keimlinge 5 Tage lang nach Vernalisation bei 30° C im Dunkeln hält. Die Blütenbildung wurde also durch die Wärme bedeutend verzögert, indem die Blütenanlage, im Gegensatz zur Kontrolle, um 2 Knoten höher an der Achse beginnt. Dies war aber nicht der Fall bei den Keimlingen, die eine Kältebehandlung von mehr als 7 Tagen bekommen hatten.

In einem Versuche (Tab. 11-b) wurden die vor der Kältebehandlung von den Kotyledonen befreiten Keimlinge zum Vergleich herangezogen. Die Verzögerung der Blütenbildung war in diesem Falle nicht klar. Das Vorhandensein der Kotyledonen scheint also die devernalisierende Wirkung von höherer Temperatur zu verstärken; eine Erscheinung, welche mit der Blühförderung bei den nach der Vernalisation keimblattlos gemachten Pflanzen in irgend einem Zusammenhang stehen mag.

Tabelle 11-a. Devernalisation durch höhere Temperatur. Durchschnittliche Knotenzahl. Zahl der Versuchspflanzen in Klammern (Versuch März bis Mai 1951 in Kagoshima).

Vernalisationsdauer in Tagen	Kulturtemperatur in 5 Tagen nach Vernalisation		
	Kontrolle ca. 23° C	25° C	30° C
17	8.4 ± 1.0 (30)	8.2 ± 1.1 (30)	8.4 ± 1.0 (27)
11	9.7 ± 1.1 (28)	9.6 ± 1.0 (30)	9.8 ± 1.0 (26)
9	10.2 ± 1.1 (30)	9.9 ± 1.2 (30)	10.3 ± 1.3 (28)
7	11.6 ± 1.1 (30)	11.8 ± 1.1 (30)	13.6 ± 1.3 (30)

Tabelle 11-b. Dasselbe Experiment wie 11-a, aber mit intakten Keimlingen und den von Kotyledonen befreiten Keimachsen. Zahl der Versuchspflanzen in Klammern (Versuch März bis Mai 1952 in Kyoto).

	Vernalisationsdauer in Tagen	Aus-saat-datum	Kontrolle. Kultiviert vom Anfang an bei ca. 23° C		Kultiviert in den ersten 10 Tagen bei 30° C	
			Blühalter in Tagen	Knotenzahl	Blühalter in Tagen	Knotenzahl
Intakte Keim- linge	20	1. Mai	15 (30)	8.5 ± 1.0	20 (21)	8.6 ± 1.0
	10	"	21 (30)	9.6 ± 1.1	23 (25)	9.4 ± 1.1
	5	"	41 (30)	12.0 ± 1.0	57 (28)	14.3 ± 1.3
Keim- achse ohne Kotyle- donen	20	3. Mai	17 (30)	8.2 ± 1.0	20 (23)	8.3 ± 1.2
	15	"	22 (30)	9.1 ± 1.2	23 (25)	9.0 ± 1.0
	10	"	20 (30)	10.5 ± 1.0	23 (28)	10.3 ± 1.3

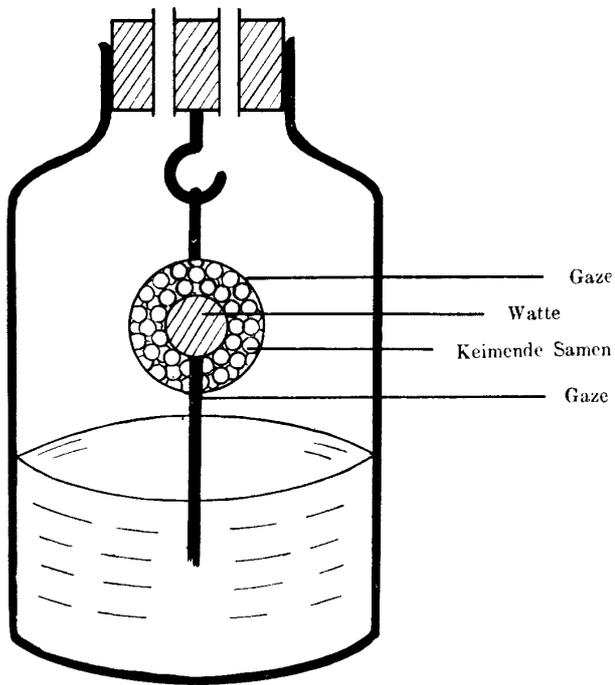


Fig. 3.  
Methode der Beschränkung von  
Wasserezufuhr bei der Vernalisa-  
tion.

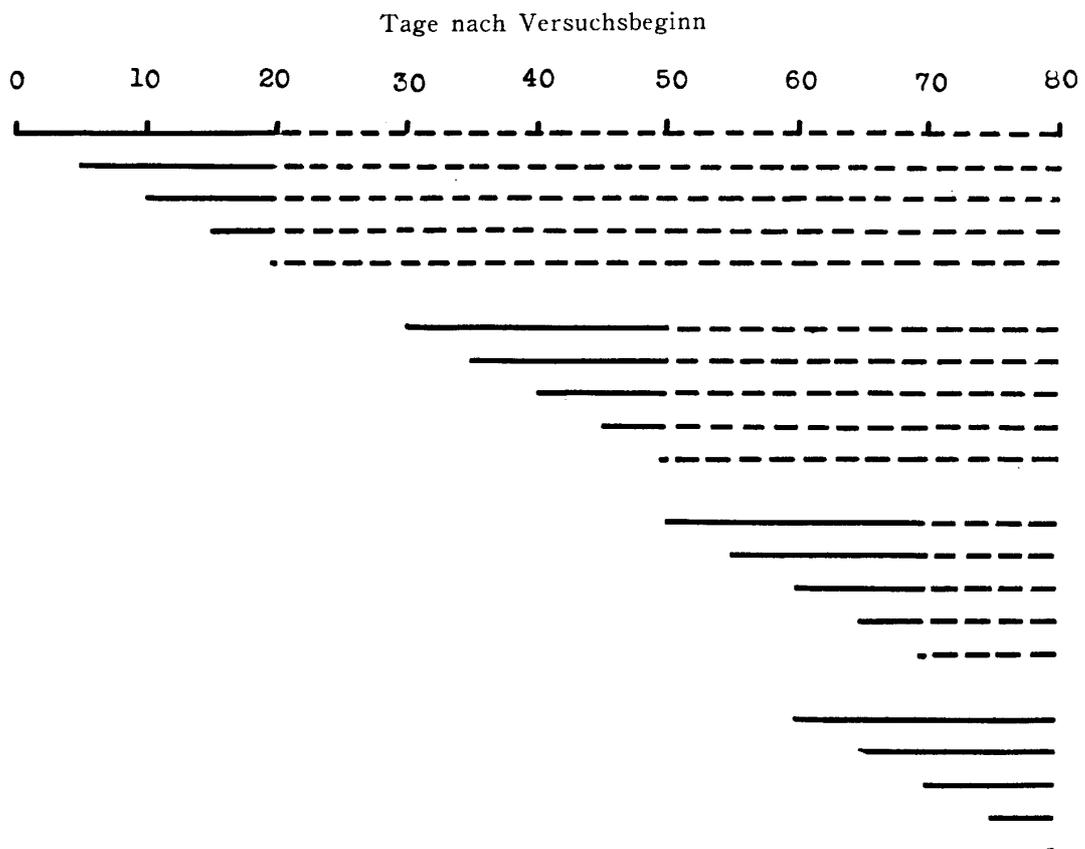


Fig. 4. Versuchsanordnung der Devernalisation durch Trocknung.  
—— Kältebehandlung, ---- Austrocknung.

#### 4. Devernalisation durch Austrocknung der keimenden Samen<sup>(23)</sup>

Die Samen wurden angequollen und im Dunkeln bei 25° C 24 Stunden lang stehen gelassen. Als bei etwa 90 % der Samen die Wurzelspitze eben sichtbar wurde, wurden sie in Gaze eingewickelt, im feuchten Raum einer Flasche aufgehängt (Fig. 3) und bei 1° C vernalisiert. Das Wasser wurde mittels eines Streifens von der im Wasser des Flaschenbodens herabhängenden Gaze langsam zugeführt, also in der Weise, dass das Wachstum möglichst stark beschränkt ist.

Durch diese Methode kann man vernalisierte Keimlinge erhalten, die während der Kältebehandlung im Wachstum fast stehen bleiben. Die Samen wurden mit Hilfe eines elektrischen Fächers durch Trockenluft von ca. 25° C ausgetrocknet und im Exikator aufbewahrt. Die Dauer der Kältebehandlung sowie der Aufbewahrung im trocknen Zustand sind im Schema (Fig. 4) angegeben. Die Versuche wurden zweimal wiederholt. Sie ergaben ganz ähnliche Ergebnisse.

Wie aus Tabelle 12 ersichtlich ist, tritt eine devernalisierende Wirkung der Austrocknung deutlich zutage, zumal bei den Keimlingen von längerer Kältebehandlung, während die kurz vernalisierten Keimlinge keinen bedeutenden Einfluss erfahren.

Die Keimlinge, die nach 15- oder 20-tägiger Vernalisation trocken aufbewahrt waren, entwickelten, bevor sie zur Blütenbildung kommen, ca. 14 Knoten, im Gegensatz zu ca. 8 in den Kontrollen. Die 5 Tage lang vernalisierten Keimlinge blühten dagegen nach Bildung von etwa 14 Knoten, gleichgültig, ob sie der Trocknung ausgesetzt wurden oder nicht. Dies Ergebnis zeigt, dass nur das Endstadium der Vernalisation durch Austrocknung rückgängig gemacht werden kann; die Austrocknung übt keinen Einfluss auf das anfängliche Stadium der Vernalisation aus, und der Einfluss auf das mittlere Stadium ist ein mittlerer.

In bezug auf die Knotenzahl war die Wirkung der Aufbewahrungsdauer zwischen 10 und 60 Tagen fast dieselbe. Das Blühalter der getrockneten Keimlingen ist aber, im Vergleich zu den Kontrollen, bedeutend später (Fig. 5).

#### 5. Blühhemmung durch Kurztagsbehandlung<sup>(4, 9, 10, 14, 21, 30, 75, 80, 84, 85, 86, 99)</sup>

Die verschieden lang vernalisierten Keimlinge wurden in Töpfen pikiert und unter den

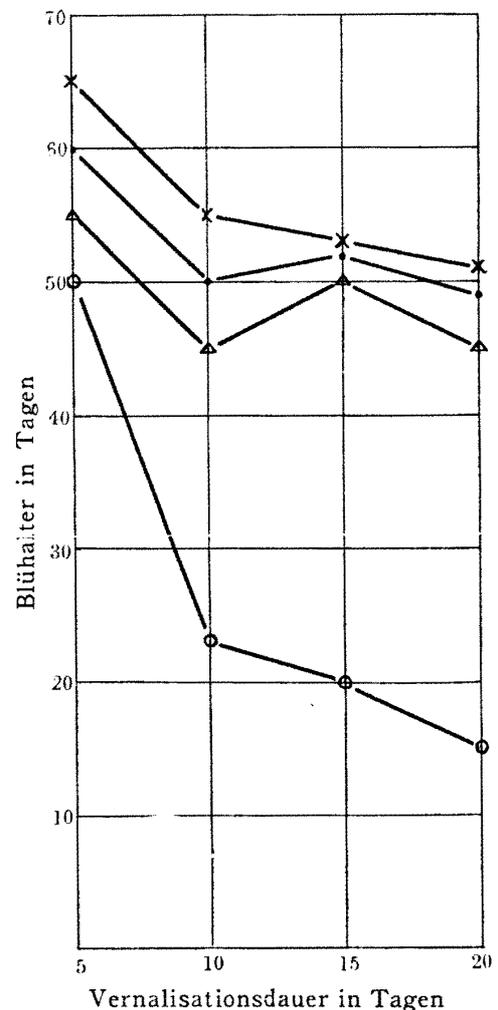


Fig. 5. Blühalter (Tage nach Aussaat bis Blühprozent 80) in Abhängigkeit mit der Devernalisation durch Austrocknung. Nach der angegebenen Vernalisationsdauer 10 (x), 30 (●) bzw. 60 (Δ) Tage lange getrocknet. ○: Vernalisiert und nicht getrocknet.

Tabelle 12. Devernalisation durch Austrocknung. Durchschnittliche Knotenzahl, Zahl der Versuchspflanzen in Klammern (Versuch Januar bis Juli 1951 in Kagoshima).

Vernalisationsdauer in Tagen	Dauer der Aufbewahrung in trockenem Zustand in Tagen				Mittelwert von 10-60 Tagen
	0	10	30	60	
20	8.5 ± 1.0 (27)	14.2 ± 1.5 (25)	13.8 ± 1.6 (26)	14.1 ± 1.6 (30)	14.0 ± 1.6
15	8.4 ± 1.1 (29)	13.8 ± 1.5 (28)	13.9 ± 1.5 (25)	14.2 ± 1.7 (27)	14.0 ± 1.7
10	11.2 ± 1.1 (28)	12.5 ± 1.7 (26)	12.4 ± 1.7 (28)	13.8 ± 1.5 (30)	12.9 ± 1.6
5	14.0 ± 1.0 (30)	14.7 ± 1.5 (27)	14.5 ± 1.2 (28)	13.7 ± 1.3 (30)	14.3 ± 1.3
0	vegetativ (30)	vegetativ (30)	vegetativ (27)	vegetativ (25)	—

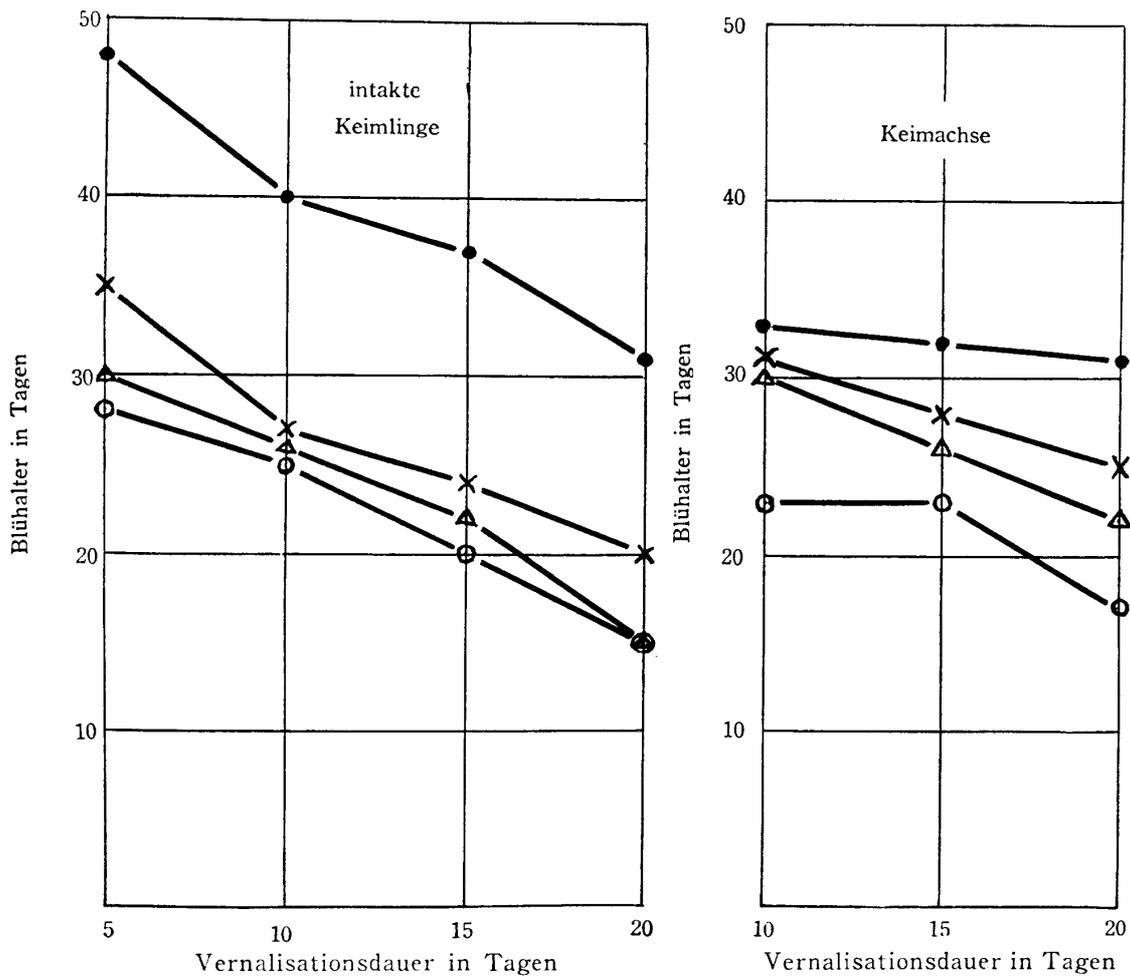


Fig. 6. Blühalter (Tage nach Aussaat bis Blühprozent 80) in Abhängigkeit mit der photoperiodischen Bedingungen. ○ Dauerlicht, △ 14-stündiger Langtag, × natürliche Tageslänge, ● 8-stündiger Kurztag.

folgenden Lichtbedingungen weiter gezogen: 1) Dauerlicht, 2) 14-stündiger Langtag, 3) natürliche Tageslänge, 4) 8-stündiger Kurztag, 5) nach 10 oder 20 Kurztagen, dann natürliche Tage und 6) nach 10 oder 20 natürlichen Tagen, dann Kurztag. Auch die keimblattlosen, vernalisierten Keimlinge wurden unter denselben Bedingungen gezogen.

Wie in Tabelle 13-a und Fig. 6 dargestellt ist, wird die Blütenbildung durch zunehmende Tageslänge gefördert, und zwar deutlicher bei den keimblattlosen Pflanzen als bei den intakten Pflanzen.

Aus Tabelle 13-b kann man ersehen dass die 5 Tage lang vernalisierten Pflanzen schon durch 10 Kurztage in demselben Masse wie durch kontinuierliche Kurztage in Blütenbildung verzögert wurde. Sie kamen nach Ausbildung von etwa 15 Blättern zur Blüte, ungeachtet, ob sie nur 10 Tage lang oder von Anfang an dauernd unter Kurztag gezogen wurden.

In den Fällen aber, wo die Vernalisation schon 20 Tage lang dauerte, hatte die Behandlung mit 10 Kurztagen eine nur schwache verzögernde Wirkung auf die Blütenbildung zur Folge (11.9 Knoten), im Gegensatz zu der Behandlung mit 20 oder mehr Kurztagen (13.6–13.8 Knoten).

Bringt man die 5 Tage lang vernalisierten Pflanzen nach 10 natürlichen Langtagen in Kurztagbedingung, so wird die Blütenbildung mehr verzögert als bei Pflanzen, die anfangs unter 20 natürlichen Langtagen und dann in Kurztagen gezogen wurden. Daraus kann man schliessen, dass schwächer vernalisierte Pflanzen erst zwischen dem zehnten und zwanzigsten Tage nach dem Aussäen zur Bildung der Blütenanlage kommen. Die genügend lang, nämlich 20 Tage lang vernalisierten Pflanzen, selbst

Tabelle 13-a. Blütenbildung der verschieden lange vernalisierten Pflanzen unter verschiedenen Lichtbedingungen. Durchschnittliche Knotenzahl. Zahl der Versuchspflanzen in Klammern (Versuch März bis Juli 1951 in Kagoshima).

	Vernalisationsdauer in Tagen	Aussaatdatum	Dauerlicht	14-stündiger Langtag	Natürliche Tage	8 stündiger Kurztag
Intakte Keimlinge	20	11. April	8.0 ± 1.0 (28)	8.7 ± 1.1 (30)	8.7 ± 1.0 (29)	13.8 ± 1.6 (30)
	15	"	10.0 ± 1.1 (30)	10.4 ± 1.0 (29)	10.6 ± 1.2 (30)	13.6 ± 1.8 (30)
	10	"	10.5 ± 1.3 (26)	10.6 ± 1.2 (30)	11.8 ± 1.2 (30)	14.7 ± 1.8 (29)
	5	"	12.6 ± 1.3 (28)	12.3 ± 1.2 (27)	12.2 ± 1.1 (30)	15.3 ± 1.7 (30)
	0	"	vegetativ (30)	vegetativ (30)	vegetativ (30)	vegetativ (30)
Keimachse ohne Kotyledonen	20	11. April	8.0 ± 1.0 (30)	8.5 ± 1.1 (30)	8.7 ± 1.0 (30)	12.9 ± 1.2 (30)
	15	"	8.4 ± 1.1 (29)	8.8 ± 1.0 (30)	9.0 ± 1.1 (30)	13.5 ± 1.3 (28)
	10	"	8.3 ± 1.0 (28)	10.0 ± 1.0 (29)	10.6 ± 1.1 (30)	14.8 ± 1.1 (30)
	5	"	vegetativ (30)	vegetativ (30)	vegetativ (29)	vegetativ (30)

Tabelle 13-b. Einfluss der Tageslänge auf die Blütenbildung. Durchschnittliche Knotenzahl. Zahl der Versuchspflanzen in Klammern. In den Versuchen Kurztag: 8-stündig, Langtag: Natürlicher Langtag (Versuch März bis Juli 1951 in Kagoshima).

	Vernalisationsdauer in Tagen	Lichtbedingungen					
		10 Kurztage, dann Langtag	20 Kurztage, dann Langtag	Kurztag	10 Langtage, dann Kurztag	20 Langtage, dann Kurztag	Natürlicher Langtag
Intakte Keimlinge	20	11.9±1.3 (25)	13.6±1.5 (23)	13.8±1.6 (30)	8.5±1.1 (25)	8.7±1.2 (25)	8.7±1.0 (29)
	15	12.2±1.3 (23)	12.2±1.4 (23)	13.6±1.8 (30)	10.6±1.2 (23)	10.5±1.0 (25)	10.6±1.2 (30)
	10	12.7±1.5 (25)	13.9±1.6 (21)	14.7±1.8 (29)	11.2±1.1 (25)	11.3±1.1 (24)	11.8±1.2 (30)
	5	15.3±1.6 (24)	15.2±1.8 (24)	15.3±1.7 (30)	13.8±1.2 (24)	12.1±1.2 (25)	12.2±1.1 (30)
Keimachse ohne Kotyledonen	20	11.0±1.1 (23)	12.7±1.3 (25)	12.9±1.2 (30)	8.8±1.1 (23)	8.5±1.1 (21)	8.7±1.0 (30)
	15	12.2±1.2 (25)	13.3±1.4 (25)	13.5±1.3 (30)	9.3±1.0 (23)	9.2±1.2 (23)	9.0±1.1 (30)
	10	12.3±1.3 (24)	14.4±1.2 (22)	14.8±1.1 (30)	10.7±1.2 (25)	10.5±1.1 (23)	10.6±1.1 (29)

wenn sie nach 10 natürlichen Langtagen in Kurztage versetzt wurden, zeigten dieselbe Knotenzahl wie die dauernd unter natürlichen Langtagen gezogenen Pflanzen. Die Blütenanlage scheint während der anfänglichen 10 Tagen determiniert zu werden.

## 6. Blütenbildung bei vollkommenem Lichtabschluss<sup>(3, 15, 20, 32, 53, 54, 90, 91, 92, 93)</sup>

Die mit Chlorkalk sterilisierten Samen wurden auf dem bei 130° C autoklavierten Nährboden in Reagenzgläser mit schwarzem lichtdichtem Papier eingepackt und in den Dunkelkasten gelegt. Der Nährboden enthielt 1 % Agar, 4 % Rohrzucker und die Aschenbestandteile nach W. Haupt.<sup>(32)</sup>



Fig. 7. Ein vollständig im Dunkeln entwickeltes Pflänzchen mit Blütenanlagen.

Nachdem die keimenden Samen 30 Tage lang bei 0–1° C in der Dunkelkammer vernalisiert wurden, wurden sie bei 25±1° C unter drei verschiedene künstliche Lichtbedingungen d.h. unter Dauerlicht, 8 stündigen Kurztag und vollkommene Dunkelheit gebracht. Als Lichtquelle wurden zwei 20 Watt Fluoreszenz Tageslichtlampen benutzt, die ca. 30 cm über den Keimlingen angebracht waren.

Die Beobachtung wurde etwa 40 Tage nach Überführung in warme Temperatur unternommen und die Knotenzahl wurden mit Binokularmikroskop festgestellt (Fig. 7).

Tabelle 14. Blütenbildung bei vollkommenem Lichtabschluss. Durchschnittliche Knotenzahl. Zahl der Versuchspflanzen in Klammern (Versuch September bis November 1952 in Kyoto).

Vernalisationsdauer in Tagen	Datum der Umsetzung in 25° C Zimmer	Kulturbedingung	Knotenzahl
30	25. Okt.	Dunkelheit	8.2 ± 1.1 (50)
30	"	Dauerlicht	8.7 ± 1.3 (30)
30	"	8-stündiger Kurztag	11.0 ± 1.0 (30)
0	"	Dunkelheit	vegetativ (30)
0	"	Dauerlicht	vegetativ (30)
25	1. Nov.	Dunkelheit	8.0 ± 1.0 (50)
25	"	Dauerlicht	8.4 ± 1.3 (30)
25	"	8-stündiger Kurztag	10.3 ± 1.0 (30)

Die Versuche wurden von den Jahren 1952 bis zu 1955 manchmal wiederholt. Da dabei annähernd dieselbe Ergebnisse gewonnen wurden, so werden hier nur die Resultate eines Versuchs im Jahre 1952 in Tabelle 14 angegeben.

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, können die vernalisierten Keimlinge in vollkommener Dunkelheit blühen, und zwar ebenso schnell wie unter Dauerlicht. Nach Vernalisation ist also das Licht für die Blütenbildung von *Raphanus*-Pflanze entbehrlich. Die Zahl der Blätter, welche bis zur Blütenbildung gebildet waren, war 8.2 im Dunkeln, 8.7 unter Dauerlicht und 11.0 unter Kurztag. Daraus folgt, dass die Blütenbildung in *Raphanus*-Pflanze, nicht durch den Langtag befördert sondern vielmehr durch den Kurztag verzögert werden muss.

#### 7. Übertragung des blütenbildenden Reizes durch Pfropfung<sup>(6, 33, 36, 42, 44, 60, 61, 62, 65, 66, 67, 73, 88, 103)</sup>

Nach genügend langer Vernalisation wurden 20-30 Keimlinge in Blumentöpfe pikiert und unter Dauerlicht kultiviert. Nach verschiedenen Tagen wurden sie als Unterlagen zur Pfropfung herausgezogen.

Bei einem Teil der oben erwähnten Keimlinge wurden einer von beiden Kotyledonen sowie alle Sprossvegetationspunkte mit einem scharfen Rasiermesser exstirpiert. Dabei wurde besonders darauf geachtet, dass der Vegetationspunkt der beiden Kotyledonarknospen vollkommen beseitigt wurde.

Auf diese Unterlage mit einem einzigen Kotyledo wurde der Sprossvegetationspunkt, der aus dem nicht vernalisierten Keimlinge stammte, gepfropft und unter Dauerlicht gezogen.

Bei einem anderen Teil der vernalisierten Keimlinge wurde ebenso einer der beiden Kotyledonen beseitigt, und zwar sofort nach der Pikierung, und neu entwickelte Blätter, mit Ausnahme des von anfangs an übrig gelassenen Kotyledo, wurden fortwährend beseitigt, um nach verschiedenen Tagen als Unterlage zu benutzen. Als Pfropfreis diente der Vegetationspunkt des keimenden, nicht vernalisierten Keimlings (Fig. 8).

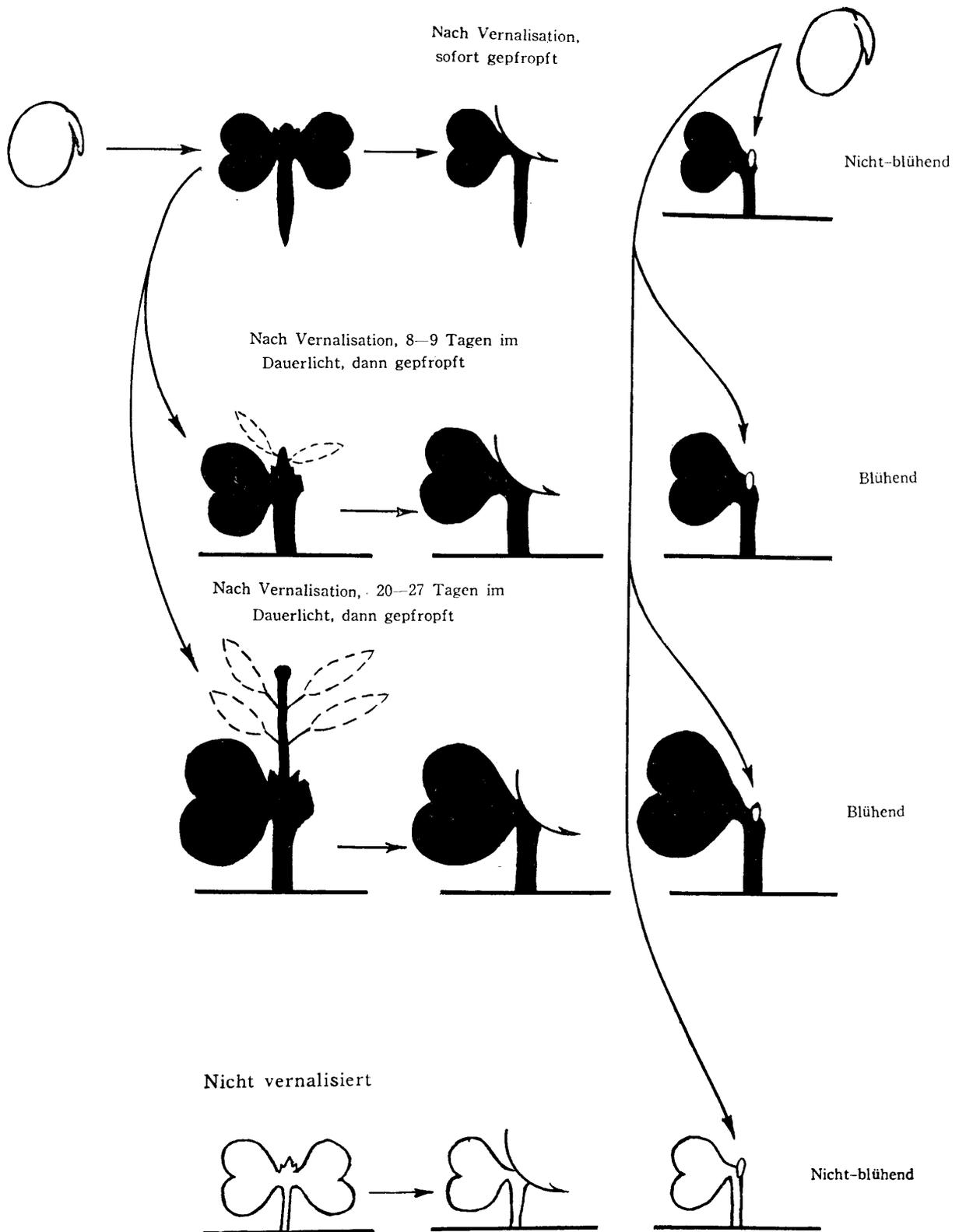


Fig. 8. Pfropfungsmethode.

Schwarz: vernalisierter, weiss: nicht vernalisierter Teil der Pflanzen.

Beim Pfropfen bringt man ein kleines Loch auf die Schnittfläche der Unterlage mit Hilfe eines Kapillarröhrchens von Hartglas von ca. 0.2–0.3 mm Durchmesser, und in dieses Loch wurde ein Sprossvegetationspunkt von ein wenig grösserem Durchmesser als die erwähnten (ca. 0.3–0.4 mm) durchgebohrt wurde, hineingepresst.

Die gepfropften Pflanzen wurden im Dauerlicht gezüchtet bis man die Blütenknospe mit blossem Auge erkennen konnte. Die Ergebnisse wurden in Tabelle 15-a zusammengestellt.

Die Unterlage, die sofort nach der Vernalisation zum Pfropfen benutzt wurde, vermag die Blütenbildung des nicht vernalisierten Pfropfreises nicht hervorzurufen. Das Reis aber wurde zum Blühen gebracht, wenn es auf die Unterlage gepfropft wurde, die nach der Vernalisation von einigen Tagen im Dauerlicht gezüchtet worden war und sich in blühreifem Zustand befand. Die fördernde Wirkung scheint mit der Dauer anzunehmen, in welcher die Unterlage nach der Vernalisation im Dauerlicht gezüchtet wurde. Die Unterlagen, die nach der Vernalisation 8 Tage lang vorgezüchtet waren, veranlassten 40 Tage nach der Pfropfung 36 % der Reiser zum blühen, während durch die 27 Tage lang vorgezüchteten Unterlagen sämtliche Reiser zum Blühen gebracht werden konnte. Die nicht vernalisierten Kontrollunterlagen konnten niemals eine Blütenbildung hervorbringen.

In einem weiteren Versuche entfernte man einer der Kotyledonen sowie den

Tabelle 15-a. Übertragung des Blühimpulses auf den Vegetationspunkt nicht vernalisierter Keimlinge durch Pfropfung.  
(Versuch März bis Juli 1952 in Kyoto).

Behandlung der Unterlage vorm Pfropfen	Zustand der Unterlage beim Pfropfen	Zahl der Versuchspflanzen	Datum der Pfropfung	Blühprozent nach der Pfropfung nach			
				20 Tagen	30 Tagen	40 Tagen	50 Tagen
20 Tage vernalisiert	vegetativ	9	11. April	0	0	0	0
20 Tage vernalisiert, 8 Tage im Dauerlicht	blühreif	11	18. April	0	9	36	82
20 Tage vernalisiert, 27 Tage im Dauerlicht	Blütenknospen sichtbar	13	7. Mai	15	77	100	100
Nicht vernalisiert*	vegetativ	8	11. April	0	0	0	0
28 Tage vernalisiert	vegetativ	14	9. Mai	0	0	0	0
28 Tage vernalisiert, 9 Tage im Dauerlicht	blühreif	18	17. Mai	0	0	22	44
28 Tage vernalisiert, 20 Tage im Dauerlicht	Blütenknospen sichtbar	23	28. Mai	14	48	100	100
Nicht vernalisiert*	vegetativ	9	9. Mai	0	0	0	0

\* Die Pflanzen, die hier als Unterlage benutzt wurden, kamen nach 50 Tagen nicht zur Blüte.

Sprossvegetationspunkt von keimenden Samen vollständig und die knospenlosen Keimachsen wurden genügend lang vernalisiert. Nach Beendigung der Kältebehandlung wurde der Vegetationspunkt aus nicht vernalisiertem Pflänzchen gepfropft. Als Kontrolle diente der genügend lang vernalisierte Sprossvegetationspunkt, der auf eine nicht vernalisierte Unterlage gepfropft wurde. Die so behandelten Pflanzen wurden im Dauerlicht kultiviert.

Wie man aus Tabelle 15-b ersehen kann, kamen nur die Vegetationspunkte von vernalisierten Keimlingen auf der nicht vernalisierten Unterlage zum Blühen. Die knospenlosen Unterlage, wenn sie auch genügend lang vernalisiert wurde, konnte den nicht vernalisierten Vegetationspunkt nicht zur Blütenbildung veranlassen.

Aus diesen Versuchen stellt sich heraus, dass die Induktion nur im Sprossvegetationspunkt vor sich gehen oder verstärkt werden kann; und zwar nicht während oder sofort nach der Vernalisation sondern nach einigen Tagen des Verweilens in warmer Temperatur unter Langtagbedingung.

Tabelle 15-b. Übertragung des Blühimpulses von der in knospenlosem Zustand vernalisierten Unterlage auf den nicht vernalisierten Vegetationspunkt (Versuch März bis Juli 1952 in Kyoto).

Behandlung der Unterlage	Reis	Zahl der Versuchspflanzen	Blühprozent nach			
			20 Tagen	30 Tagen	40 Tagen	50 Tagen
Vor Vernalisation ein Kotyledo und alle Knospen beseitigt, 30 Tage vernalisiert	Vegetationspunkt von keimenden, nicht vernalisierten Samen	25	0	0	0	0
3-4 tägige Keimlinge, nicht vernalisiert*	Vegetationspunkt von den 30 Tage vernalisierten Keimlingen	20	15	50	100	100
"	Vegetationspunkt von keimenden, nicht vernalisierten Samen*	18	0	0	0	0

\* Die Pflanzen, die hier als Pfropfreiser bzw. Unterlagen benutzt wurden, kamen nach 50 Tagen nicht zur Blüte.

## 8. Einfluss von Ribonucleinsäure oder ihren Abbauprodukten auf die Blütenbildung

Die Samen wurden auf einem Nährboden folgender Zusammensetzung im Reagensglas (18 mm × 150 mm) steril kultiviert: 50 g Rohrzucker, 10 g Agar-agar, 200 mg Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 360 mg MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 200 mg Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 80 mg KNO<sub>3</sub>, 65 mg KCl, 16.5 mg KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> und 1.5 mg Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> pro 1000 ccm Lösung.

Die zu prüfenden Substanzen wurden in verschiedener Konzentration dem Nährmedium zugefügt. Die Reagensgläser, die ca. 10 ccm des Nährmediums enthielten, wurden 15 Minuten lang unter einem Überdruck von 1.5 kg/cm<sup>2</sup> sterilisiert. Nach dem Aussäen wurden die Reagensgläser mit schwarzem lichtdichtem Papier umwickelt und in der Dunkelkammer bei 20-28°C, also ohne Vernalisierung gehalten.

Der Versuch wurde von August bis November im Jahre 1954 ausgeführt. Sie wurden am 5. November unter Binokularmikroskop auf die Zahl der entwickelten Knoten untersucht.

Ribonucleinsäure oder Ribonucleinsäure plus Lactflavin, wenn sie dem Nährboden vor der Sterilisation zugesetzt wurden, übten eine fördernde Wirkung auf die Blütenbildung der nicht vernalisierten Keimlinge aus.<sup>(93)</sup> Es lässt sich aber vermuten, dass es sich hierbei nicht um die zugesetzte Ribonucleinsäure selbst sondern um die Zersetzungsprodukte derselben handelt, da sie mit Zucker und Mineralien über 100° C erhitzt wurde. Es handelt sich also bei diesem Versuch vom August bis zum Oktober 1955 um die Untersuchung des Einflusses der Zersetzungsprodukte der Ribonucleinsäure auf die Blütenbildung von nicht vernalisierten *Raphanus*-Pflanzen.

Die zugefügte Nucleinsäure wurde vor der Zugabe den folgenden Zersetzungsverfahren unterworfen:

1. 500 mg Ribonucleinsäure wurde mit einer geringen Menge von destilliertem Wasser zu Brei gerieben und 30 Minuten lang unter einem Überdruck von 1.5 kg/cm<sup>2</sup> autoklaviert. Die ergebene gelbbraune Substanz wurde zu 1000 ccm von unsterilisiertem Nährmedium hinzugefügt.
2. 500 mg Ribonucleinsäure und 50 mg Rohrzucker wurden wie oben behandelt.
3. 500 mg Ribonucleinsäure wurde unbehandelt zu 1000 ccm unsterilisierten Nährmediums hinzugefügt.

Die Wasserstoffionenkonzentrationen wurden beim Beginn des Versuchs alle mit 0.1 N HCl- und 1 Mol Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösungen auf pH 5.2 eingestellt. In diesen Versuchen wurden die Nährmedien in den Reagenzgläsern nicht autoklaviert sondern zweimal je 30 Minuten im 100° C Wasserdampf sterilisiert.

Wie aus Tabelle 16 ersichtlich ist, wirkte die Substanz, die durch Erhitzen von Ribonucleinsäure unter Zusatz von Rohrzucker zustandekam, stark fördernd auf die Blütenbildung; 10 Pflanzen unter 21 kamen 60 Tage nach Aussaat zum Blühen, während Ribonucleinsäure an sich eine nur schwache Wirkung zeigte.

Tabelle 16. Einfluss von Ribonucleinsäure oder ihren Abbauprodukten auf Blütenbildung in Sterilkultur. Nährboden sterilisiert durch 100° C Wasserdampf (Versuch August bis Oktober 1955 in Kagoshima).

Zugefügte Substanz	Behandlung der Substanz	Zahl der Versuchspflanzen	Zahl der blühenden Pflanzen	Knotenzahl	
				blühende Pflanzen	nicht blühende Pflanzen
500 ppm RNS	nicht autoklaviert	20	1	13.0	13.1 ± 0.5
500 ppm RNS	autoklaviert	18	1	13.0	12.6 ± 0.5
500 ppm RNS 50 ppm Saccharose	"	21	10	10.7 ± 0.6	11.0 ± 0.9
Kontrolle (ohne Zusatz)	—	19	0	—	12.9 ± 0.7

## V. Allgemeine Betrachtung der Ergebnisse

### 1. Zustandekommen und Umkehrbarkeit der Induktion

*Raphanus sativus* ist eine Winterannuelle, die während des Winters im Rosettenzustand bleibt und erst im nächsten Frühling zum Blühen kommt. Die äusseren Bedingungen, die auf die Blütenbildung den stärksten Einfluss ausüben, sind Temperatur und Tageslänge. Besonders ist eine tiefere Temperatur für die normale Entwicklung und Reproduktion unentbehrlich. Pflanzen, die nicht der Kälte ausgesetzt sind, können schwer zur Bildung von Blütenknospen veranlasst werden.

Die Vernalisation vollzieht sich innerhalb von 15–20 Tagen bei einer Temperatur von 1 bis 7° C. Wie vielfach von anderen Forschern angegeben ist, sind auch bei *Raphanus*-Pflanzen eine genügend zureichende Wasser und Luftzufuhr nötig, damit bei der Kältebehandlung ein voller Erfolg erzielt wird.<sup>(27, 28)</sup> Mangel an Wasser und Sauerstoff beeinträchtigt die vernalisierende Wirkung der Kälte stark.<sup>(24, 48, 62, 63)</sup> Der optimale Wassergehalt für die Vernalisation scheint bei dieser Pflanze mehr als 70 % des Trockengewichts zu sein.

Der Keimling reagiert in seinem jüngsten Stadium gegen die Kälte am empfindlichsten, indem der Effekt bei den eben angequollenen oder erst keimenden Samen am grössten ist, und mit schreitender Entwicklung abnimmt.

Für das Zustandekommen des vernalisierenden Effekts ist das Vorhandensein des Kotyledo nicht immer notwendig. Die Keimachse, die am Anfang der Kältebehandlung von den Kotyledonen befreit wurde, ist ebenso gut vernalisiert wie die intakten Pflanzen durch 15-tägige Kälte. Doch bei der Kältebehandlung kürzerer Dauer, z.B. von 3 bis 5 Tagen, ist der Effekt der Vernalisation durch das Vorhandensein von Kotyledonen bedeutend gesteigert.

Wie bei anderen Pflanzen kann der Effekt auch bei dieser Pflanze durch relativ hohe Temperatur<sup>(25, 68, 70, 81)</sup> bzw. durch Austrocknung<sup>(23, 69)</sup> rückgängig gemacht werden, wenn auch die beiden Behandlungen ganz verschiedene, devernalisierende Wirkungen zur Folge haben.

Kultiviert man die vernalisierten Keimlinge bei 30° C, so wird der Effekt der Kältebehandlung teilweise aufgehoben, während bei 25° C keine Devernalisation zu bemerken ist. Wenn die 5 oder 7 Tage lang, also unvollständig, vernalisierten Keimlinge 5 oder 10 Tage lang bei 30° C gehalten und nachher bei ca. 23° C gezogen werden, entwickeln sie mehr Knoten als die Kontrollpflanzen, die ebenso lang vernalisiert und sofort bei ca. 23° C gezogen werden. Im Gegensatz zu schwach vernalisierten, erfahren die genügend lang vernalisierten Keimlinge keine devernalisierende Wirkung durch die Behandlung bei 30° C. Die Knotenzahl bleibt unverändert, ungeachtet ob die Pflanze nach 15-tägiger Vernalisation bei 23° C oder 30° C gehalten wurde.

Die Austrocknung der Samen ruft bei den 20 Tage lang vernalisierten Keimlingen eine bedeutende Verzögerung der Blütenbildung, indem sie etwa 14 Knoten, im Gegensatz zu den 8 der Kontrollpflanzen entwickeln, bevor sie zur Bildung der Blütenanlagen kommen. Die schwach, z.B. 5 Tage lang vernalisierten Keimlinge dagegen können durch das Austrocknen nicht beeinflusst werden, sie bilden ebenso viele Knoten wie die Kontrollen.

Das Vorhandensein von Kotyledonen nach der Vernalisation hat eine verzögernde Wirkung auf die Blütenbildung. Die Hemmung, welche wohl durch die auf die Kotyledonen einwirkende hohe Temperatur verursacht wird, tritt bedeutender auf bei den schwach vernalisierten Pflanzen als bei den genügend lang vernalisierten.

## 2. Lokalisation und Übertragbarkeit der Induktion

Durch die Versuche einiger Forscher wurde vielfach der Sprossvegetationspunkt als das Aufnahmeorgan der Vernalisation angenommen,<sup>(68, 77, 103)</sup> während andere behaupten, dass andere Organe als der Vegetationspunkt, z.B. der Wurzelstock, durch die Kälte physiologisch beeinflusst werden.<sup>(96)</sup>

Bei den Versuchspflanzen vorliegender Arbeit gelang es, Keimlinge, von welchen die Kotyledonen, Hypokotyl oder Radicula entfernt wurden, bzw. an denen nur die Plumula übrig belassen wurde, zur Blütenbildung kommen zu lassen. Daraus konnte einwandfrei erwiesen werden, dass das Empfangen der Kältewirkung im Sprossvegetationspunkt stattfindet. Dieser Schluss lässt sich durch folgende Beobachtungen bestätigen: Die genügend lang "vernalisierten" Keimlinge, deren Plumula vor der Kältebehandlung beseitigt wurden, vermögen den darauf gepfropften nicht-vernalisierten Vegetationspunkt nicht zur Anlegung von Blütenknospen zu veranlassen. Pflöpft man jedoch den vernalisierten Vegetationspunkt auf die nicht vernalisierte Unterlage, so kann das Pflöpfreis die Blütenknospe ausbilden. Für das Zustandekommen des Vernalisationseffektes ist das Vorhandensein des Vegetationspunktes unentbehrlich.

Wenn der genügend lang vernalisierte Keimling sofort nach der Vernalisation entknospt und als Unterlage benutzt wurde, vermochte er das darauf gepfropfte nicht-vernalisierte Reis nicht zum Blühen zu bringen. Die Unterlage, die nach genügend langer Vernalisation einige Tage lang bei mässiger Temperatur unter Langtag kultiviert, entknospt und gepfropft wurde, konnte dagegen die Blütenbildung eines nicht-vernalisiertem Reis hervorbringen. Der durch Kälte hervorbrachte physiologische Effekt muss etwa in Gegenwart des Sprossvegetationspunktes ergänzt bzw. in demselben mehr oder minder modifiziert werden, um zum Pflöpfpartner zuführbar zu werden, und zwar einige Tage nach der Vernalisation bei mässiger Temperatur unter Langtag.

## 3. Mechanismus der Vernalisationsvorgänge

(1) Die Versuchsergebnisse weisen eindeutig darauf hin, dass der Vernalisationsvorgang in einigen Teilvorgängen, wenigsten in mehr als zwei, eingeteilt werden kann.<sup>(22, 52, 68, 70, 81)</sup> Der Vorgang, der sich in dem anfänglichen Stadium der Kältebehandlung abspielt, ist labil für die Wärmebehandlung, dagegen stabil für die Austrocknung, während der in dem späteren Stadium auftretende Vorgang sich gegen die genannten Behandlungen ganz umgekehrt verhält. Auch hat das Vorhandensein von Kotyledonen für die beiden Teilvorgänge nicht die gleiche Bedeutung. Im Anfangsstadium vermindert sich der vernalisierende Effekt der Kälte durch die Beseitigung der Kotyledonen entscheidender als im Endstadium. Dies mag wohl darauf zurückzuführen sein, dass anfangs in der Keimung die Keimachse hauptsächlich durch die von Kotyledonen zugeführten Substanzen, und nachher durch den eigenen Reservestoff in der Achse selbst ernährt wird.<sup>(23, 66, 78, 102, 103, 104, 105)</sup> Durch

eingehendere Versuche in der Zukunft erscheint eine noch feinere Einteilung des Vorgangs nicht ausgeschlossen.

(2) Was die Bedeutung der Lichtbedingung für Blütenbildung von *Raphanus* anbelangt, so können die vernalisierten Keimlinge unter allen Lichtbedingungen, d.h. unter Langtag, Kurztag und sogar in vollständiger Dunkelheit zur Blütenbildung kommen; im letzten Falle sogar ebenso schnell wie unter Langtagbedingung. Unter Kurztag dagegen verzögert sich die Anlegung der Blütenknospe. Im dauernden Dunkeln in der Kälte können auch die vernalisierten Pflanzen, wenn auch stark verspätet, und mit geringerer Knotenzahl (ca. 8 Knoten) Blütenknospen ausbilden (Y. Tashima & K. Kimura, unveröffentlicht). Die Beschleunigung, die dabei mit steigender Temperatur beobachtet wird, darf wohl auf die geförderte Geschwindigkeit des physiologischen Geschehens zurückzuführen sein.

(3) Betreffs des Mechanismus der Vernalisation behaupten einige Forscher, dass es sich bei dem Vernalisationsvorgang um eine Entstehung der Vorstufe eines spezifischen Wirkstoffes in der Pflanze handelt, der unter nachheriger Langtagbedingung zum eigentlichen Blühormon stabilisiert wird und die Blütenbildung veranlasst.<sup>(21, 42, 44, 48, 62, 68, 73, 81, 82)</sup>

Im Gegensatz dieser Vorstellung kann man eher eine Veränderung oder Veränderungen annehmen, die die Ablenkung des Stoffwechselforganges in neue spezifische Bahnen hervorrufen und dadurch die Bildung der die Blütenbildung veranlassenden Substanz bedingen.<sup>(1, 72, 74, 89, 94, 95, 98, 99, 100, 101, 106)</sup>

Aus den Ergebnissen vorliegender Arbeit, kann man nicht mit Sicherheit entscheiden, ob eine spezifisch bestimmte Substanz oder Substanzen durch die Kältebehandlung im Pflanzenkörper gebildet werden oder eine physiologische Vorbereitung zu einem besonderen Stoffwechselforgang zustandekommt.

Die Stabilisierung der in der Kälte gebildeten Vorstufesubstanz zum Blühormon unter dem Einfluss von warmer Langtagbedingung scheint bei *Raphanus* nicht wahrscheinlich zu sein, da die Pflanze im vollkommenen Lichtabschluss nach der Vernalisation zur Ausbildung der Blütenanlage kommt.

In dieser Hinsicht ist die Übertragbarkeit des Blühimpulses von grössten Bedeutung. Ein durch die Kälte hervorgebrachter, transportierbarer Erfolg lässt sich nicht sofort nach Beendigung der Vernalisation feststellen, obwohl der Blühimpuls von den eben vor dem Blühen sich befindlichen Pflanzen leicht durch Pfropfung zum nicht vernalisierten Reis transportiert werden kann. Dieser Blühimpuls scheint also nicht während der Kältebehandlung sondern erst einige Tage nach Verweilen bei mässiger Temperatur zustandezukommen. Dies weist auf die Möglichkeit hin, dass wir beim Vernalisationsvorgang eine Veränderung des Stoffwechselforms im Sprossvegetationspunkt vor uns haben, die die Bildung eines spezifischen, blütenbildenden Wirkstoffes mit sich führt.

(4) Betreffs der Natur des transportierbaren Blühimpulses kann zur Zeit nichts gesagt werden. Viele Forscher sind der Meinung, dass es sich hier um eine spezifische chemische Substanz handelt.<sup>(8, 16, 34, 35, 38, 46, 49, 50, 51, 54, 55, 57, 58, 59, 86, 87, 107, 108, 109)</sup> Die Extraktionsversuche von vielen Autoren scheiterten.<sup>(37, 62, 65, 68, 71, 82, 83, 97)</sup> Die pflanzlichen Wirkstoffe, soweit sie bisher geprüft wurden, hatten auch keine för-

dernde Wirkung auf die Blütenbildung. Unter den Substanzen, welche vom vorliegenden Autor geprüft wurden: Vitamine B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, K, Tryptophan, Kynurenin,  $\alpha$ -Naphtholessigsäure, Ribonucleinsäure u.s.w., bringt die letztgenannte oder die Abbauprodukte derselben in zwar schwachem, doch nicht unbedeutendem Grade eine Wirksamkeit hervor, wie in einer früheren, vorläufigen Mitteilung angegeben ist.<sup>(91, 93)</sup> Zu entscheiden, ob die Ribonucleinsäure oder die Abbauprodukte derselben mit dem angenommenen blütenbildenden Stoffe in irgend einem Zusammenhang stehen oder nicht, bedarf eines weiteren, eingehenderen Versuches.

## VI. Zusammenfassung

1) *Raphanus sativus* L. var. "Kuroba-Minowase", eine Winterannuelle, ist bei 1–5° C durch 5-tägige Behandlung schwach und durch 15-tägige vollständig vernalisiert. Die schwach vernalisierten Pflanzen bilden etwa 14 Blätter an der Hauptachse, die vollkommen vernalisierten etwa 8 Blätter, bevor sie zur Blütenbildung kommen.

2) Die anfängliche Phase der Vernalisation ist gegen die höhere Temperatur (30° C) labil aber gegen Austrocknung stabil, während die Endphase sich gerade umgekehrt verhält.

3) Die vernalisierten Keimlinge können unter allen Lichtbedingungen zur Blütenbildung schreiten. Sowohl unter Langtag als auch in vollkommener Dunkelheit kommen die Pflanzen schneller, also mit weniger Blättern an der Hauptachse, zum Blühen als unter Kurztag. Es handelt sich also hier weniger um eine Beschleunigung durch Langtag als um eine Verzögerung durch Kurztag.

4) Für das Zustandekommen des Vernalisationseffekts ist das Vorhandensein des Sprossvegetationspunkts unentbehrlich. Die vernalisierte Pflanze, deren Vegetationspunkt sofort nach der Kältebehandlung beseitigt ist, kann den darauf gepfropften, nicht vernalisierten Sprossvegetationspunkt nicht zur Blütenbildung veranlassen. Der transportierbare Blühimpuls kann erst dann zustandekommen, wenn die vernalisierte Pflanze einige Tage lang unter warmen Langtagen kultiviert wird.

5) Aus den Ergebnissen kann man annehmen, dass es sich bei der Vernalisation nicht um eine etwaige Synthese der Vorstufe-Substanz des Blühhormons, z.B. des Vernalins, sondern um irgend eine physiologische Veränderung handelt. Der dadurch modifizierte Stoffwechsel des Sprossvegetationspunktes, dessen Geschwindigkeit bei wärmerer Temperatur stark gesteigert wird, scheint die Synthese des durch Pfropfung leicht übertragbaren, blütenbildenden Stoffes wie "Florigens" herbeizurufen.

6) Durch sterile Kultur stellt sich heraus, dass die Ribonucleinsäure wirksam ist, indem sie oder ihre Abbauprodukte die Bildung der Blütenknospen an den nicht vernalisierten Pflanzen anregen können.

Besonders grossen Dank schulde ich Herrn Ehrenprofessor Dr. R. Koketsu und Herrn Professor Dr. H. Kojima von der Kyushu Universität, unter deren freundlicher Leitung diese Arbeit ausgeführt wurde. Den Herren Prof. Dr. S. Imamura, Ass. Prof. Dr. M. Hamada von der Universität Kyoto; den Herren Prof. Dr. S.

Hatsushima, Prof. S. Yamazoe, Ass. Prof. K. Hagiya, M. Yahiro, S. Sakai und T. Isogai von der Kagoshima Universität; den Herren J. Ninomiya, S. Inoue und T. Inoue von der Kyushu Universität bin ich ebenfalls für ihre verschiedenartige Hinweise und Erleichterungen bei dieser Arbeit ebenfalls zu grossem Dank verpflichtet.

## VII. Literaturverzeichnis

1. Anonymus (1935): Vernalisation and phasic development of plants. Bull. 17. Imp. Bureau Plant Genetics. Cambridge, England.
2. Bonner, J. & J. Liverman (1953): Hormonal control of flower initiation. Loomis: Growth and differentiation in plants. 283-304.
3. Borgström, G. (1939): Anthogenesis in etiolated pea seedlings. Bot. Notiser, 1939, 830-839.
4. Borthwick, H. A. & M. W. Parker (1941): Effect of photoperiodism and temperature of development of barley. Bot. Gaz. 103, 326-341.
5. Bünning, E. (1950): Über die photophile und skotophile Phase der engen Tagesrhythmik. Planta 38, 521-540.
6. Cajlachian, M. H. (1937): Hormonal Theorie der Entwicklung der Pflanzen. Moskau-Leningrad, (Ber. wiss. Biol. 49, 678-679).
7. Chakravarti, S. C. (1954): Anatomy of roots and shoots of *Brassica campestris* L. in relation to vernalization. Nature 173, 407-408.
8. Chakravarti, S. C. (1955): Inhibition of vernalization in *Linum usitatissimum* L. by certain synthetic Hormones. Nature 174, 461-462.
9. Chinoy, J. J. (1955): Determination of photothermic and vernalization Quanta for the vegetative period of wheat. Physiol. Planta. 9, 1-18.
10. Denffer, D. von, (1939): Über das Zusammenwirken von Keimstimmung und täglicher Belichtungsdauer auf die Entwicklung von *Sinapis* und *Hordeum*. Jb. wiss. Bot. 88, 759-815.
11. Denffer, D. von, (1950): Blühhormon oder Blühhemmung? Neue Gesichtspunkt zur Physiologie der Blütenbildung. Naturwiss. 37, 296-301, 317-321.
12. Denffer, D. von, & L. Schlitt (1951): Blühhförderung durch Ultraviolettbestrahlung. Naturwiss. 38, 564-565.
- 13.\* Eguchi, T. (1950): Untersuchungen über Differenzierung der Blütenanlage (7) (Jap.) Agr. & Hort. 25, 855-856.
- 14.\* Eguchi, T. & M. Koide (1944): Über die Vernalisation und Differenzierung der Blütenanlage von *Brassica*- und *Raphanus*-Arten in Abhängigkeit mit dem Aussattermine. (Jap.) Jour. Hort. Assoc. Jap. 15, 1-27.
15. Fife, J. M. & C. Price (1953): Bolting and flowering of sugar beets in continuous darkness. Plant Physiol. 28, 475-480.
16. Fischer, J. E. & W. E. Loomis (1954): Auxin-florigen balance in flowering of soybean. Science 119, 71-73.
17. Garner, W., & H. A. Allard (1920): Effect of the relative length of day and night and other factors of the environment on growth and reproduction of plants. Jour. Agric. Res. 18,
18. Garner, W., & H. A. Allard (1923): Further studies in photoperiodism. The response of the plant to relative length of day and night. Jour. Agric. Res. 23, 871-920.
19. Gassner, G. (1918): Beiträge zur physiologischen Charakteristik sommer- und winterannueller Gewächse, insbesondere der Getreidepflanzen. Zeits. für Bot. 10, 417-480.
20. Gentcheff, G. & A. Gustafsson (1940): The cultivation of plant species from seed to flower and seed in different sugar solutions. Hereditas 26, 250-256.
21. Gott, M. B., F. G. Gregory & O. N. Purvis (1955): Studies in vernalisation of cereals XIII.

- Photoperiodic control of stages in flowering between initiation and ear formation in vernalised and unvernalsed petkus winter rye. *Ann. Bot. N. S.* 19, 87-126.
22. Gregory, F. G. (1948): The control of flowering in plants. *Symposia Soc. Exptl. Biol.* 2, 75-103.
  23. Gregory, F. G. & O. N. Purvis (1938a): Studies in vernalisation of cereals II. The vernalisation of excised mature embryos and developing ears. *Ann. Bot. N. S.* 2, 237-251.
  24. Gregory, F. G. & O. N. Purvis (1938b): Studies in vernalisation III. The use of anaerobic conditions in the analysis of vernalising effect of low temperature during germination. *Ann. Bot. N. S.* 2, 753-764.
  25. Gregory, F. G. & O. N. Purvis (1948): Reversal of vernalisation by high temperature. *Nature* 161, 859-860.
  - 26.\* Hagiya, K. & K. Furuta. (1952): Untersuchungen über die Vernalisation von *Raphanus sativus*. I. Einfluss der Düngung auf Schossung. (Jap.) *Agric. & Hort.* 27, 1140.
  - 27.\* Hagiya, K. & K. Furuta (1953): Untersuchungen über die Vernalisation von *Raphanus sativus* II. Beziehung zwischen Wasserzufuhr während der Vernalisation und Schossung. (Jap.) *Agric. & Hort.* 28, 459.
  - 28.\* Hagiya, K. (1954): Untersuchungen über die Vernalisation von *Raphanus sativus*. III. Einfluss der Atmungsintensität während der Vernalisation auf Schossung. (Jap.) *Nogyo-Gijyutsu* 8, 255-256.
  - 29.\* Hagiya, K. (1955): Untersuchungen über die Vernalisation von *Raphanus sativus*. IV. (Jap.) *Agric. & Hort.* 30, 597-598.
  - 30.\* Hagiya, K. (1951): Über die Wirkung von Vernalisation und Photoperiodismus auf *Raphanus sativus*. (Jap.) *Agric. & Hort.* 26, 673.
  31. Hänsel, H. (1953): Vernalisation of winter rye negative temperatures and the influence of vernalisation upon the Lamina length of the first and second leaf in winter rye, spring barley and winter barley. *Ann. Bot. N. S.* 17, 417-432.
  32. Haupt, W. (1952): Untersuchungen über den Determinationsvorgang der Blütenbildung bei *Pisum sativum*. *Zeits. für Bot.* 40, 1-32.
  33. Haupt, W. (1954a): Die Übertragung blühhördernder Prinzipien bei *Pisum sativum* durch Pfropfung. *Zeits. für Bot.* 42, 125-134.
  34. Haupt, W. (1954b): Die stoffliche Beeinflussung der Blütenbildung bei *Pisum sativum*. *Ber. dtsh. bot. Ges.* 67, 75-83.
  35. Haupt, W. (1956): Gibt es Beziehungen zwischen Polarität und Blütenbildung? *Ber. dtsh. bot. Ges.* 67, 75-83.
  36. Heinze, P. H., W. M. Parker & A. H. Borthwick (1942): Floral initiation in Biloxi soybean as influenced by grafting. *Bot. Gaz.* 103, 518-530.
  37. Highkin, H. R. (1955): Flower-promoting activity of pea seed diffusates. *Plant Physiol.* 30, 390.
  38. Hussey, G. & F. G. Gregory (1954): The effect of auxin on the flowering behaviour of winter barley and petkus rye. *Plant Physiol.* 29, 292-296.
  - 39.\* Imamura, S. (1950): Die Physiologie der Blütenbildung. (Jap.) *SA'KIN NO SEIBUTUGAKU* 3, Tokyo, 197-221.
  - 40.\* Imamura, S. (1955): Die Chemie der Blütenbildung. (Jap.) *SEIMEIGENSHO NO KAGAKU*, Tokyo, 251-281.
  41. Inoue, S. & M. Yahiro (1956): Physiological changes in the germinating seeds during low temperature treatment II. On the activity of catalase and peroxidase. *Bot. Mag.* 69, 215-218.
  42. Kagawa, A. (1955): Studies on the effect of low temperature induction in radish plant. I. Studies on the transmission of thermo-inducing stimulus and the effect of removing cotyledon upon the flowering induction of Japanese radishes. (Jap.) *Bull. Nat. Insti. Agric. Sci. E (Hort.)* 4, 215-218.

43. Kagawa, A. (1956): Studies on the effect of low temperature induction in cabbage. I. Effects of vernalisation on the bolting, flowering and fruiting. (Jap.) Res. Bull. Fac. Agric. Gifu Univ. 7, 21-33.
44. Kojima, H., S. Inoue, & M. Yahiro (1953): On the transmission of the effect of vernalisation in *Raphanus sativus* L. var. *raphanistoides* Makino, Race "MINOWASE." (Jap) Jap. Jour. Breeding 3, 51-54.
45. Kojima, H., M. Yahiro, & S. Inoue (1954): The vernalisation and the cotyledon of the seedling. Bot. Mag. 67, 112-121.
46. Konishi, M. (1956): Studies on development of flowering stalks in long-day plants in relation to auxin metabolism. Mem. Coll. Agric. Kyoto Univ. 75, 1-74.
47. Lang, A. (1951): Untersuchungen über des Kältebedürfnis von zweijährigen *Hyoscyamus niger*. Züchter 21, 241-243.
48. Lang, A. (1952): Physiology of flowering. Ann. Rev. Plant Physiol. 3, 265-306.
49. Lang, A. (1954): Auxin and Photoperiodism in plants. Proc. 1st Internat. Photobiol. Congr., Amsterdam, 62-64.
50. Lang, A. (1956a): Stem elongation in a rosette plants, induced by Gibberellic acid. Naturwiss. 43, 257-258.
51. Lang, A. (1956b): Induction of flower formation on biennial *Hyoscyamus* by treatment with Gibberellin. Naturwiss. 43, 284-285.
52. Lang, A. & G. Melchers (1947): Vernalisation und Devernalisation bei einer zweijährigen Pflanze. Zeits. Naturforsch. 2b, 444-449.
53. Leopold, A. C. (1949): Flower initiation in total darkness. Plant Physiol. 24, 530-533.
54. Leopold, A. C. & F. S. Guernsey (1953a): Flower initiation in Alaska pea. I. Evidence as to the role of auxin. Amer. Jour. Bot. 40, 46-50.
55. Leopold, A. C. & F. S. Guernsey (1953b): Modification of floral initiation with auxins and temperatures. Amer. Jour. Bot. 40, 603-606.
56. Liverman, J. L. (1955): The physiology of flowering. Ann. Rev. Plant Physiol. 6, 177-210.
57. Liverman, J. L. & A. Lang (1956): Induction of flowering on long day plants by applied indoleacetic acid. Plant Physiol. 31, 147-150.
58. Lona, F. (1956): L'acido gibberellico determina la germinazione dei semi di *Lactuca scariola* in fase di scotoinibizione. L'ATENEO PARMENSE, 27, 641-644.
59. Lona, F. (1956): L'azione dell'acido gibberellion sull'accrescimento caulinare di talune piante erbacee in condizioni esterne controllate. Nuovo Giornale Botanico Italiano, n. s., 63.
60. Melchers, G. (1937): Die Wirkung von Genen, tiefen Temperatur und blühenden Pflanzpartnern auf die Blühreife von *Hyoscyamus niger* L. Biol. Zbl. 57, 568-614.
61. Melchers, G. (1938): Die Auslösung von Blütenbildung an zweijährigen Pflanzen in ersten Sommer durch implantierte Reiser selbst nicht blühfähiger Kurztagpflanzen in Langtagbedingungen. Naturwiss. 26, 496.
62. Melchers, G. (1939): Die Blühormone. Ber. dtsh. bot. Ges. 57, 29-48.
63. Melchers, G. (1952): The physiology of flower initiation. Lectures at Univ. of London, 1-33.
64. Melchers, G. & H. Ciaes (1943): Auslösung von Blütenbildung bei Langtagpflanze *Hyoscyamus niger* in Kurztagbedingungen durch Hemmung der Atmung in der Dunkelphasen. Naturwiss. 31, 249.
65. Melchers, G. & A. Lang, (1941): Weitere Untersuchungen zur Frage der Blühormone. Biol. Zbl. 61, 16-39.
66. Melchers, G. & A. Lang (1942): Auslösung von Blütenbildung bei der Langtagpflanze *Hyoscyamus niger* in Kurztagbedingungen durch Infiltration der Blätter mit Zuckerlösungen. Naturwiss. 30, 489-590.
67. Melchers, G. & A. Lang (1948): Versuche zur Auslösung von Blütenbildung an zweijährigen *Hyoscyamus niger*-Pflanzen durch Verbindung mit einjährigen ohne Gewebeverwachsung. Zeits. Naturforsch. 30, 105-107

68. Melchers, G. & A. Lang (1948): Die Physiologie der Blütenbildung. Biol. Zbl. 67, 105-174.
69. Murneek, A. D. & R. O. Whyte (1948): Vernalization and Photoperiodism. Waltham, Mass., U.S.A.
70. Napp-Zinn, K. (1953): Thermostabile und thermolabile Zwischenstadien in Vernalisationsprozess. Ber. dtsh. bot. Ges. 66, 362-367.
71. Napp-Zinn, K. (1956): Zur Frage nach der Übertragbarkeit des durch die Vernalisation bewirkten Blühimpulses. Ber. dtsh. bot. Ges. 69, 193-198.
72. Ninomiya, J. (1953): Change of the state of water in plant tissue during the vernalization. (Jap.) Mem. Beppu Women's Univ. 3, 1-8.
73. Okuda, M. (1953): Flower formation of *Xanthium canadense* under long day conditions induced by grafting with long day plants. Bot. Mag. 66, 247-255.
- 74.\* Oparin, A. I. (1953): Biochemischen Grundlage von Lysenko-Theorie. (übersetzt ins Japanische von F. Egami & M. Itabashi) KAGAKU 23, 453-457.
75. Purvis, O. N. (1934): Analysis of the influence of temperature during germination on the subsequent development of certain winter cereals and its relation to the effect of length of day. Ann. Bot. 48, 919-955.
76. Purvis, O. N. (1939) : Studies in vernalisation of cereals. V. The inheritance of the spring and winter habit in hybrids of petkus rye. Ann. Bot. N.S. 3, 719-731.
77. Purvis, O. N. (1940): Vernalisation of fragments of embryo tissue. Nature 145, 462.
78. Purvis, O. N. (1947): Studies in vernalisation of cereals. X. The effect of depletion of carbohydrates on the growth and vernalisation response of excised embryos. Ann. Bot. N.S. 11, 269-283.
79. Purvis, O. N. (1948): Studies in vernalisation of cereals. XI. The effect of date of sowing and of excising the embryo on the response of petkus winter rye to different periods of vernalisation treatment. Ann. Bot. N.S. 12, 183-206.
80. Purvis, O. N. & F. G. Gregory (1937): Studies in vernalisation of cereals. I. A comparative study of vernalisation of winter rye by low temperature and by short days. Ann. Bot. N.S. 1, 569-592.
81. Purvis, O. N. & F. G. Gregory (1952): Studies in vernalisation of cereals. XII. The reversibility by high temperature of the vernalised condition in petkus winter rye. Ann. Bot. N.S. 16, 1-21.
82. Purvis, O. N. & F. G. Gregory (1953): Accelerating effect of an extract of vernalized embryos of winter rye on flower initiation in unvernallized embryos. Nature 171, 687-688.
83. Roberts, R. H. (1951): The induction of flowering with plant extract. Plant growth substances. Univ. Wisconsin Press. 347-350.
84. Roberts, R. H. & B. E. Struckmeyer (1938): The effects of temperature and other environmental factors upon the photoperiodic response of some of the higher plants. Jour. Agric. Res. 56, 633-677.
85. Schwabe, W. W. (1950): Factors controlling flowering of the Chrysanthemum. I. Jour. Exp. Bot. 1, 329-343.
86. Schwabe, W. W. (1951): Factors controlling flowering of the Chrysanthemum. II. Jour. Exp. Bot. 2, 223-237.
87. Schwabe, W. W. (1955): Acceleration of flowering in non-vernallized Chrysanthemums by the removal of apical sections of the stem. Nature 174, 1022.
88. Stout, M. (1945): Translocation of the reproductive stimulus in sugar beets. Bot. Gaz. 107, 86-95.
89. Stout, M. (1949): Relation of oxidation-reduction potential, respiration, and catalase activity to induction of reproductive stimulus in sugar beets. Bot. Gaz. 110, 438-449.
90. Tashima, Y. (1953): Flower initiation in total darkness in a long day plants, *Raphanus sativus* L. Proc. Jap. Acad. 29, 271-273.

91. Tashima, Y. (1956): Flower initiation of the dodder, *Cuscuta japonica* in total darkness on artificial culture medium. Mem. Fac. Agric. Kagoshima Univ. 2, 1-6.
92. Tashima, Y. & S. Imamura (1953): Flower initiation in total darkness in *Pharbitis Nil* Chois., a short day plant. Proc. Jap Acad. 29, 581-585.
93. Tashima, Y. & S. Imamura (1954): Substitutive effect of ribonucleic acid in the vernalisation of *Raphanus sativus* in dark culture. Bot. Mag. 67, 281-282.
94. Teraoka, H. & S. Usami (1956): Biochemical studies on the temperature stage (jarovization stage) of plant growth. (Jap.) Biol. Sci. (Tokyo) 8, 15-19.
95. Teraoka, H. & S. Usami (1957): Biochemical studies on the early developmental stages of wheat germ. (Jap.) Biol. Sci. (Tokyo) 9, 30-34.
96. Thompson, H. C. (1953): Vernalization of growing plants. Loomis: Growth and differentiation in plants. 179-196.
97. Tomita, T. (1956): Effects of diffusate obtained from vernalized winter rye seeds. (Jap.) Proc. Crop. Sci. Soc. Jap. 24, 260-261.
- 98.\* Usami, S., *et al.* (1955): Vernalisation und Wachstum der Pflanzen. (Jap.) Biol. Sci. (Tokyo) 6, 45-49.
99. Whyte, R. O. (1939): Phasic developmens of plants. Biol. Rev. 14, 51-87.
100. Wort, D. J. (1939): Vernalisation of Marquis wheat and other spring cereals. Bot. Gaz. 101, 457-481.
101. Wort, D. J. (1941): Phasic development of Marquis spring wheat and Fulhio winter wheat. Bot. Gaz. 103, 725-736.
- 102.\* Yamasaki, Y. (1941): Einfluss von Endosperm auf die Vernalisation der gepfropften Weizenembryonen. (Jap.) KAGAKU 11, 513-516.
- 103.\* Yamasaki, Y. (1943): Theoretische Untersuchungen über die Vernalisation von Weizen durch die Embryo-Pfropfung. (Jap.) KAGAKU 13, 159-164.
- 104.\* Yamasaki, Y. (1944): Über den Einfluss der zugeführten Zuckerkonzentration auf die Vernalisation der herauspräparierten Weizenembryonen. (Jap.) Agric. & Hort. 19, 989-990.
- 105.\* Yamasaki, Y. (1946): Untersuchungen über die Vernalisation von Weizen mit Hilfe von Pfropfung der Embryonen. Agri. & Hort. 21, 354-358.
- 106.\* Yamasaki, Y. (1955): Vernalisation. (Jap.) SAKUMOTU NO SEIRI-SEITAI, Tokyo, 234-243.
107. Wittwer, S. H., H. Jackson, & D. P. Watson (1954): Control of seedstalk development in celery by Maleic hydrazide. Amer. Jour. Bot. 41, 435-439.
108. Zeeuw, D. & A. C. Leopold (1956): The promotion of floral initiation by auxin. Amer. Jour. Bot. 43, 47-50.
109. Zimmerman, P. W. & A. E. Hitchcock (1942): Flowering habit and correlation of organs modified by TIBA. Contrib. Boyce Thompson Inst. 12, 491-496.

---

\* Die Überschrift der Arbeit wurde vom Verfasser ins Deutsche aus dem Japanischen übersetzt.