
ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN – POLONIA

VOL. V

SECTIO EEE

1997

Katedra Fizjologii Roślin Akademii Rolniczej w Lublinie

EDWARD BOROWSKI, LIDIA KOZŁOWSKA,
ZBYSZEK K. BLAMOWSKI

**Reakcja roślin ogórka traktowanych paklobutrazolem
na okresowe działanie chłodu**

Reaction of Cucumber Plants Treated with Paclobutrazol to Periodical Effect of Cold

Ogórki należą do roślin o dużej wrażliwości na obniżoną temperaturę. Wczesnowiosenne siewy lub wysadzanie rozsady w pole, bez stosowania kosztownych osłon, wiąże się z dużym ryzykiem uszkodzenia roślin. Z tych właśnie powodów wydaje się pożądane poszukiwanie metod zwiększenia odporności ogórków na okresowe chłody. Jednym ze sposobów osiągnięcia tego celu wydaje się być traktowanie młodych roślin związkami chemicznymi z grupy inhibitorów wzrostu. Wiadomo bowiem, że substancje te zwiększając stosunek kwasu abscysynowego do giberelin (ABA/GA) w tkankach powodują zmiany w składzie chemicznym i strukturze membran komórkowych (Willemot, 1977; Wang i Baker, 1979; Yoshida i Uemura, 1989). W efekcie tych zmian modyfikacjom ulegają także procesy fizjologiczne wpływające na zmniejszenie stopnia uszkodzeń błon cytoplazmatycznych wywołanych obniżoną temperaturą.

Paklobutrazol (PBZ) poprzez blokadę biosyntezy giberelin (Couture, 1982; Graebe, 1982) w istotny sposób wpływa na morfogenezę roślin (Wample i Culver, 1983; Wang, 1985; Wieland i Wample, 1985; Aloni i Pashkar, 1987; Deyton i wsp., 1991; Borkowski i Dobrzański, 1992). Należało więc oczekiwać, że powodując równocześnie wzrost stosunku inhibitorów wzrostu do giberelin, będzie zwiększał odporność roślin na obniżoną temperaturę. Potwierdzeniem tego są badania Wanga (1985) stwierdzające zmniejszenie

uszkodzeń chłodowych siewek cukinii i ogórka, poddanych działaniu paklobutrazolu.

Ponieważ w tym zakresie mechanizm działania PBZ nie jest jeszcze dokładnie poznany, celem niniejszej pracy było określenie wpływu tego związku na niektóre cechy fizyko-chemiczne liści ogórków. Ponadto próbując wyjaśnić rolę retardantu w odporności roślin na chłód, przebadano wpływ paklobutrazolu na wymianę gazową roślin poddanych działaniu tego stresu.

MATERIAŁ I METODY

Nasiona ogórków odmiany «Polan F₁» wysiano do doniczek o pojemności 0.5 dm³ napełnionych mieszaniną piasku i substratu torfowego (1:1). Hodowlę roślin prowadzono w komorze wegetacyjnej, w której temperatura powietrza wynosiła 25/20°C (dzień/noc), długość dnia 16 godzin, a gęstość strumienia fotosyntetycznych fotonów (Photosynthetic Photon Flux Density, PPFD) z lamp fluorescencyjnych typu «White» 190 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Po 14 dniach zróżnicowano tempo wzrostu roślin wprowadzając do doniczek po 50 cm³ roztworu paklobutrazolu (PBZ) o stężeniu zapewniającym zawartość: 0; 0.5; 1.5 lub 2.5 mg substancji czynnej w 1 dm³ podłoża. Po następnych 2 tygodniach, kiedy efekty działania retardantu były wyraźnie widoczne, na 6 roślinach z kombinacji oznaczono:

- zawartość chlorofilu *a* + *b* metodą Arnona;
- powierzchnię blaszek liściowych przy pomocy skanera komputerowego i oprogramowania firmy Witra;
- świeżą masę poszczególnych organów;
- zawartość wody w liściach (z różnicy masy 8 krążków o ϕ 0.8 cm przed i po 24 godzinnym suszeniu w temperaturze 85°C).

Na podstawie uzyskanych danych wyliczono stosunek masy organów nadziemnych do korzeni oraz stosunek masy liści do ich powierzchni (Specific Leaf Weight, SLW).

Pozostałe rośliny z każdej serii podzielono na 2 grupy i umieszczono w ciemności, na okres 12 godzin w temperaturze $5\pm 1^\circ\text{C}$ lub $1\pm 1^\circ\text{C}$. Po tym czasie przeniesiono do poprzednich warunków świetlnych i przez 5 godzin adaptowano do temperatury 25°C. Następnie w krążkach wyciętych z 3 i 4 liścia oznaczono całkowitą zawartość elektrolitów oraz wypływ elektrolitów z tkanek (EL) wg metody podanej przez Kościelniaka (1993). Pomiary wykonywano mikrokomputerowym konduktometrem CC-317 produkcji Elmetron Poland.

Po okresie adaptacyjnym a także po 10 i 24 godzinach od zakończenia ekspozycji roślin w temperaturze chłodowej określano również wymianę gazową. Pomiary fotosyntezy, transpiracji i przewodności szparkowej dla pary wodnej wykonywano na 3 liściu, przy pomocy aparatu do kontroli mikroklimatu liścia typu LCA-4 produkcji Analytical Development Co. LTD, England. W czasie rejestracji temperatura w kamerze pomiarowej liścia wynosiła 25°C a gęstość strumienia fotosyntetycznych fotonów była taka sama, jak w czasie wzrostu roślin.

Uzyskane wyniki poddane zostały analizie statystycznej przy pomocy klasyfikacji pojedynczej i testów istotności Tukeya. Średnie wartości nie różniące się istotnie oznaczono tymi

samymi literami. W pracy nie przedstawiono wymiany gazowej roślin chłodzonych w temperaturze $1 \pm 1^\circ\text{C}$, gdyż aparatura nie rejestrowała tego procesu w przyjętych terminach pomiaru.

WYNIKI

Uzyskane wyniki wskazują, iż paklobutrazol wpływał w znacznie większym stopniu na ograniczenie wzrostu organów nadziemnych niż korzeni ogórka, czego dowodem jest zmniejszająca się, wraz ze wzrostem stężenia retardantu, wartość stosunku masy pędu do korzeni (tab. 1). Łączna powierzchnia liści roślin traktowanych PBZ była znacznie mniejsza niż roślin kontrolnych natomiast ich grubość, oceniana wartościami wskaźnika SLW, była większa. Paklobutrazol zwiększał także koncentrację chlorofilu w liściach. Zawartość barwników była bowiem zdecydowanie najwyższa w blaskach liściowych ogórków wyrosłych przy stężeniu 1,5 i 2,5 $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Przeprowadzone badania wykazały także, iż traktowanie roślin ogórków paklobutrazolem wpływa na zawartość wody i elektrolitów w liściach, a także na wartość wskaźnika ich uszkodzeń powstałych w czasie chłodu. Stwierdzono mianowicie, że zarówno uwodnienie liści (tab. 1), jak i zawartość elektrolitów w ich tkankach, określana na podstawie elektroprzewodnictwa roztworów (tab. 2), rosła wraz ze stężeniem retardantu.

Tab.1. Wpływ paklobutrazolu na wielkość powierzchni i specyficzną masę liści (SLW) oraz zawartość w nich chlorofilu i wody ($n = 6$, $p = 0,05$)
Effect of paclobutrazol on the size of the area and specific weight of leaves (SLW) and the content of chlorophyll and water ($n = 6$, $p = 0,05$)

Stężenie PBZ [$\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$]	Powierzchnia liści [cm^2]	SLW [$\text{mg} \cdot \text{dm}^{-2}$]	Zawartość chlorofilu a + b [$\text{mg} \cdot \text{dm}^{-2}$]	Zawartość wody [%]	Stosunek masy pędu do korzeni Relation of shoot weight to the root
PBZ concentration [$\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$]	Leaf area [cm^2]		Chlorophyll content a + b [$\text{mg} \cdot \text{dm}^{-2}$]	Water content [%]	
0	469,7 a	39,5 b	3,59 a	88,65 a	7,60
0,5	357,1 b	44,8 c	3,77 a	89,75 b	6,39
1,5	336,2 b	40,8 c	4,25 b	89,89 b	5,73
2,5	234,4 c	35,3 a	4,03 c	90,17 c	4,44

Tab. 2. Wpływ paklobutrazolu na elektroprzewodność roztworów i wskaźnik uszkodzeń liścia (EL) roślin poddanych chłodzeniu w temp. $5 \pm 1^\circ\text{C}$ i $1 \pm 1^\circ\text{C}$ ($n = 6$, $p = 0,05$).
Effect of paclobutrazol on electroconductivity of solutions and the rate of the leaf damage (EL) in the plants exposed to chilling at the temperatures of $5 \pm 1^\circ\text{C}$ and $1 \pm 1^\circ\text{C}$ ($n = 6$, $p = 0.05$)

Stężenie PBZ [mg · dm ⁻³]	Elektroprzewodność roztworów [μS · cm ⁻²]	EL w temp. 5°C	EL w temp. 1°C
PBZ concentration [mg · dm ⁻³]	Solution electroconductivity [μS · cm ⁻²]	EL at temp. 5°C	EL at temp. 1°C
0	25,7 a	0	22,6 a
0,5	28,5 b	0	19,1 b
1,5	31,2 b	0	14,1 c
2,5	43,0 c	0	11,7 c

Analiza wartości wskaźnika uszkodzeń chłodowych tkanki liścia wykazała, iż uszkodzane były tylko liście poddane działaniu temperatury bliskiej 0°C , bowiem w temperaturze 5°C nie stwierdzono wpływu elektrolitów z wycinków blaszek. Najwyższy stopień uszkodzeń chłodowych, wynoszący 22,6%, stwierdzono w roślinach kontrolnych. Natomiast podanie roślinom paklobutrazolu powodowało wyraźny spadek wartości EL wraz ze wzrostem stężenia tego preparatu. Przy najwyższym stężeniu retardantu błony komórkowe liści były o prawie 50% mniej uszkodzone niż w liściach roślin kontrolnych.

Traktowanie roślin ogórków paklobutrazolem miało także istotny wpływ na ich wymianę gazową (tab. 3). W liściach roślin kontrolnych stwierdzono najmniejszą przewodność szparkową dla pary wodnej a także najniższy poziom fotosyntezy i transpiracji. Pod wpływem retardantu mierzone parametry zwiększały swoje wartości, przy czym najkorzystniej oddziaływał PBZ w stężeniu $1,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$. Podobny, lecz znacznie mniejszy, wpływ zaobserwowano w przypadku dwóch pozostałych stężeń retardantu.

Stres okresowo działającej na rośliny obniżonej temperatury zmniejszał również poziom wymiany gazowej. Po 5 godzinach od ustąpienia chłodu w roślinach kontrolnych i traktowanych najniższym stężeniem paklobutrazolu stwierdzono brak przewodności szparkowej, co uniemożliwiało dyfuzję gazów do ich wnętrza. Przewodność szparkowa w roślinach traktowanych średnim ($1,5$) i wysokim ($2,5 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$) stężeniem retardantu

Tab. 3. Wpływ paklobutrazolu na wymianę gazową w liściach ogórka po 5, 10 i 24 godzinach od zakończenia okresu działania chłodu.

P_N – fotosynteza netto [$\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$]; T_r – transpiracja [$\text{mmol}(\text{H}_2\text{O}) \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$]; g_s – przewodność szparkowa dla pary wodnej [$\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$] ($n = 6$, $p = 0,05$)

Effect of paclobutrazol on gas exchange in cucumber leaves 5, 10 and 24 hours after the exposure of cold. P_N – net photosynthesis [$\mu\text{mol CO}_2 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$]; T_r – transpiration [$\text{mmol}(\text{H}_2\text{O}) \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$]; g_s – stomatal conductance to water vapour [$\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$] ($n = 6$, $p = 0,05$)

Stężenie PBZ PBZ concentration [$\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$]	kontrola – control			po 5 godz. – after 5 hrs			po 10 godz. – after 10 hrs			po 24 godz. – after 24 hrs		
	P_N	T_r	g_s	P_N	T_r	g_s	P_N	T_r	g_s	P_N	T_r	g_s
0	2,91a	0,90a	0,07a	0	0	0	1,31a	0,77a	0,04a	2,85a	1,21a	0,08a
0,5	3,65b	1,13a	0,10b	0	0	0	2,55b	1,03b	0,07b	3,47b	1,58b	0,09a
1,5	4,24c	1,90b	0,12c	1,54a	0,83a	0,03a	2,77bc	1,13c	0,07b	4,39c	1,59b	0,12c
2,5	3,44ab	1,14a	0,10b	1,39a	0,75a	0,03a	2,56bd	1,05b	0,07b	3,51b	1,70b	0,10b

wynosiła $0,03 \text{ mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, a fotosynteza i transpiracja zachodziły z intensywnością blisko 3-krotnie niższą niż w liściach nie poddanych wpływom stresu.

Wymianę gazową u roślin z wszystkich kombinacji doświadczalnych zarejestrowano dopiero po 10 godzinach od ich ekspozycji w temperaturze chłodowej. Tempo tej wymiany było wyraźnie mniejsze u roślin chłodzonych. Szczególnie duże różnice stwierdzono w wiązaniu CO_2 u roślin nie poddanych działaniu PBZ. Ich fotosynteza stanowiła zaledwie 45% wiązania CO_2 stwierdzonego u roślin nie poddanych wcześniejszemu chłodzeniu. W liściach ogórków traktowanych paklobutrazolem spadek intensywności tego procesu był natomiast znacznie mniejszy. Podobne zależności stwierdzono w odniesieniu do transpiracji, przy czym różnice w jej poziomie, pomiędzy roślinami chłodzonymi i nie chłodzonymi, były znacznie mniejsze niż w przypadku fotosyntezy. Dopiero po 24 godzinach od ustąpienia chłodu intensywność fotosyntezy i transpiracji z liści osiągnęła podobny poziom jak u roślin nie chłodzonych.

Zmierzona w tym czasie przewodność szparkowa świadczyła, iż stopień otwarcia aparatów szparkowych był podobny u roślin chłodzonych i nie poddanych działaniu chłodu.

DYSKUSJA

Uzyskane wyniki wskazują, że paklobutrazol wyraźnie ograniczał wzrost organów nadziemnych, zwłaszcza ich powierzchni asymilacyjnej a równocześnie zwiększał grubość blaszek i koncentrację chlorofili w jednostce powierzchni liści. Podobne rezultaty otrzymali inni autorzy, w badaniach prowadzonych na słoneczniku (Wample i Culver, 1983), ogórkach (Wang, 1985), jabłoniach (Wieland i Wample, 1985), papryce (Aloni i Pashkar, 1987) i pomidorach (Borkowski i Dobrzański, 1992). W znacznie mniejszym stopniu PBZ ograniczał wzrost korzeni, co także znajduje potwierdzenie w literaturze (Aloni i Pashkar, 1987, Denis i wsp., 1991).

Pomiary wpływu elektrolitów z tkanek, a także analiza wymiany gazowej roślin chłodzonych wykazały, że paklobutrazol zwiększał także odporność ogórków na temperaturę chłodową. Potwierdziły się więc doniesienia Wanga (1985), który stwierdził, że rośliny ogórków traktowane tym retardantem były w stanie przeżyć 6 dniowy okres chłódów (5°C), podczas gdy rośliny kontrolne ginęły po 3-4 dniach.

Wyniki laboratoryjnych badań wycinków z liści roślin poddanych działaniu temperatury $1 \pm 1^\circ\text{C}$ wskazują, iż następowała w nich destabilizacja membran cytoplazmatycznych, o czym świadczy wpływ elektrolitów z tkanki. Zastosowanie paklobutrazolu zmniejszało, ale nie eliminowało tego procesu. Działanie PBZ, obniżające stopień uszkodzeń błon komórkowych, można wytłumaczyć hamowaniem biosyntezy giberelin (Couture, 1982; Graebe, 1982), co sprzyjało zwiększeniu stosunku ABA/GA. W konsekwencji wzrastał udział nienasyconych kwasów tłuszczowych i białka w błonach cytoplazmatycznych, dzięki czemu zmniejszała się wrażliwość cytomembran na obniżoną temperaturę (Willemot, 1977; Wang i Baker, 1979; Yoshida i Uemura, 1989).

W przypadku roślin chłodzonych w temperaturze $5 \pm 1^\circ\text{C}$, które nie wykazywały objawów uszkodzenia membran cytoplazmatycznych, działanie paklobutrazolu łagodzące skutki stresu, związane było przede wszystkim z wpływem na gospodarkę wodną ogórków. W roślinach kontrolnych, w przeciwieństwie do traktowanych PBZ, widoczne były objawy wędnięcia liści a także stwierdzono w nich najmniejszą zawartość wody. Należy więc sądzić, że retardant, który w znacznie większym stopniu ograniczał wzrost organów nadziemnych niż korzeni, pośrednio zmniejszał potrzeby wodne roślin i usprawniał zaopatrzenie liści w ten składnik. Zbliżone wnioski, oparte na badaniach prowadzonych na jabłoniach, sformułowali Wieland i Wample (1985). Ten tok rozumowania potwierdzają także wyniki pomiarów wymiany gazowej, które świadczą, iż rośliny ogórków traktowane paklobutrazolem charakteryzują się, w stosunku do kontrolnych, istotnie większą przewodnością szparkową oraz wyższym poziomem fotosyntezy i transpiracji. Podobnie na paklobutrazol reagowały truskawki, u których Deyton i wsp. (1991) wykazali korzystny wpływ tego retardantu na fotosyntezę netto i przewodność szparkową liści.

Na tle wyników własnych, a także danych cytowanych z literatury, zrozumiała wydaje się reakcja ogórków na okresowe traktowanie ich temperaturą 5°C . Ponieważ wiadomo, iż ogórki jako rośliny ciepłolubne nie pobierają wody w temperaturze poniżej 10°C , zatem 12 godzinny okres chłodzenia spowodował wystąpienie stresu wodnego. Rośliny kontrolne i traktowane najniższym stężeniem retardantu, nie były w stanie w ciągu 5 godzin od ustąpienia chłodu wyrównać swego zachwianego bilansu wodnego. Ich aparaty szparkowe pozostawały więc zamknięte, a rośliny nie wykazywały oznak wymiany gazowej. W przeciwieństwie do nich, rośliny traktowane wyższymi dawkami PBZ zdołały w tym czasie uzupełnić niedobór wody w liściach i wznowić wymianę gazową.

Po 10 godzinach od zakończenia działania chłodu liście wszystkich roślin wykazywały wymianę gazową, jednak przewodność szparkowa i wiązanie CO_2 było blisko dwukrotnie wyższe u roślin traktowanych retardantem niż kontrolnych. Takie wyniki sugerują, iż rośliny kontrolne, w warunkach działania światła, miały w dalszym ciągu zachwiany bilans wodny. Według Peele-
ra i Naylora (1988) krótkotrwałe działanie temperatury 5°C w warunkach ciemności, nie uszkadza aparatu fotosyntetycznego roślin. Należy się z tym zgodzić, gdyż po 24 godzinach od ustąpienia chłodu fotosynteza osiągnęła poziom notowany u roślin nie ekspozowanych na chłód. Starck i wsp. (1994) w badaniach prowadzonych na wrażliwej na chłód odmianie pomidora stwierdziła również, że 20-godzinne traktowanie roślin temperaturą $1-2^\circ\text{C}$ w znacz-
nie większym stopniu redukowało przewodność szparkową niż fotosyntezę netto. Powrót fotosyntezy do poziomu sprzed okresu chłodzenia następował u tych roślin dopiero po 6 dniach.

PIŚMIENICTWO

- ✓ Aloni B., Pashkar T., 1987. Antagonistic effects of paclobutrazol and gibberelic acid on growth and some biochemical characteristics of pepper (*Capsicum annuum*) transplants. *Scientia Hort.* 33: 167-177.
- Borkowski J., Dobrzański A., 1992. The influence of paclobutrazol and other retardants on the growth and yield of tomato plants. XXII Int. Hort. Congress. Abstract of Contributed Papers, 2 Poster. abstr. no 4263.
- ✓ Couture R.M., 1982. PP 333: A new experimental plant growth regulator from JCI. *Proc. Plant Growth Regulator Soc. Am.*, 9: 59.
- ✓ Deyton D.E., Sams C.E., Cummins J.C., 1991. Strawberry growth and photosynthetic responses to paclobutrazol. *Hort. Sci.* 26: 1178-1180.
- Graebe J.E., 1982. Gibberellin biosynthesis in cell-free systems from higher plants. [in:] *Plant Growth Substances*. Acad. Press, London, pp. 71-80.
- Kościełniak J., 1993. Wpływ następczy temperatur chłodowych w termoperiodyzmie dobowym na produktywność fotosyntetyczną kukurydzy (*Zea mays* L.). *Zesz. Nauk. AR w Krakowie. Rozpr. hab.* nr 174.
- ✓ Peeler T.C., Naylor A.W., 1988. A comparison of the effects of chilling on leaf gas exchange in pea (*Pisum sativum* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Physiol.* 86: 143-146.
- ✓ Starck Z., Chołuj D., Niemyska B., 1994. Source-sink response to chilling stress in tomato plants. 9th Congres of the FESPP. *supp. Biolog. Plant.* 36 p. 254.
- ✓ Wample R.L., Culver E.B., 1983. The influence of paclobutrazol, a new growth regulator, on sunflower. *J.Am.Soc.Hort.Sci.*, 108: 122-125.
- ✓ Wang C.Y., 1985. Modification of chilling susceptibility in seedlings of cucumber and zucchini squash by the bioregulator paclobutrazol (pp 333). *Scientia Hort.*, 26: 293-298.

- Wang C.Y., Baker J.E., 1979. Effects of two free radical scavengers and intermittent warming on chilling injury and polar lipid composition of cucumber and sweet pepper fruits. *Plant Cell Physiol.*, 20: 243-251. ✓
- Wieland W.F., Wample R.L., 1985. Root growth, water relations and mineral uptake of young «Delicious» apple trees treated with soil- and stem- applied paclobutrazol. *Scientia Hortic.*, 26: 129-137. ✓
- Willemot C., 1977. Simultaneous inhibition of linolenic acid synthesis in winter wheat roots and frost hardening by BASF 13 - 338, a derivative of pyridazinone. *Plant Physiol.*, 60: 1-4. ✓
- Yoshida S., Uemura M., 1989. Alterations of plasma membranes related to cold acclimation of plants. [in:] *Low temperature stress physiology in crops.* (ed.) P.H. Li., CRC Press.

SUMMARY

14-day-old cucumber plants cv. «Polan F₁» grown in controlled conditions were treated with paclobutrazol (PBZ) in the concentrations of 0; 0.5; 1.5 or 2.5 mg·dm⁻³ of the bedding. After further 14 days the studies determined the effect of the retardant on certain parameters of the plants' growth, the content of chlorophyll and water in the leaves and the rate of gas exchange (photosynthesis and transpiration). A part of plants treated with PBZ were placed for 12 hours in the darkness at the temperatures of 5±1°C or 1±1°C. Immediately after the cooling period the effect on electrolytes from the leaf tissue (EL) was determined and after 5, 10 and 24 hours the studies observed the course of gas exchange. The studies showed that PBZ had an inhibiting effect on the growth of the leaf area and at the same time it increases the thickness of leaf blades and their content of chlorophyll, electrolytes and water. It also increased stomatal conductance as well as intensity of photosynthesis and transpiration. Exposition of plants at the temperature of 5°C for the period of 12 hours did not bring about any damage of cell membrans, while at the temperature of 1°C the damages were bigger in control plants than in those treated with the retardant.

In the leaves of plants exposed to the temperature of 1°C the studies found no stomatal conductance, hence no gas exchange in the period of 24 hours after the cold treatment. The plants cooled at the temperature of 5°C showed higher stomatal conductance and faster stomatal opening with higher concentrations of PBZ used before the period of chilling.