

J. S. KNYPL

PODSTAWOWY MECHANIZM BIOLOGICZNEJ AKTYWNOŚCI AUKSYN TEORIA J. VAN OVERBEEKA

Wzrost jest wypadkową wszystkich procesów fizjologicznych przebiegających w roślinie i terminem tym objąć należy zarówno zjawiska ilościowe, prowadzące do zwiększenia masy (zwiększanie się liczby komórek, ilości protoplazmy, powiększanie się pewnych struktur komórkowych itp.), jak i zjawiska jakościowe, odnoszące się do typu wzrostu, do stadiów rozwojowych rośliny (np. tworzenie kwiatów i owoców lub pędów ulistnionych). Tak więc pojęcie wzrostu jest pojęciem niezwykle szerokim i mówiąc o auksynach i substancjach wzrostowych należy przede wszystkim sprecyzować, które z wyżej wymienionych aspektów wzrostu ma się na myśli, które przyjmuje się za wielkość standardową, porównawczą: czy terminem «substancja wzrostowa» objąć należy związki chemiczne, wpływające jednocześnie na wszystkie procesy fizjologiczne, czy też tylko na niektóre z nich; jest to tym bardziej ważne, iż w literaturze naukowej spotkać można jeszcze i takie określenia, jak regulatory roślinne, fitohormony, hormony wzrostowe, regulatory kwitnienia itp.

Celem uniknięcia nieporozumień używać będziemy nomenklatury zaproponowanej przez American Society of Plant Physiologists (10), zgodnie z którą:

substancje wzrostowe (synonim: regulatory wzrostu) są to substancje wpływające na wzrost (w pojęciu bardzo szerokim);

auksyny zaś są to substancje odznaczające się zdolnością indukcji wydłużania się komórek kiełków (oczywiście, mogą one również wpływać i na inne procesy, ale wydłużanie się komórek jest cechą standardową, porównawczą); pod względem chemicznym są to kwasy (lub ich pochodne) z pierścieniem posiadającym wiązanie nienasycone.

Wydłużanie się kiełków indukowane przez auksyny (zwykle jako test stosuje się koleptyl owsa lub fasoli) spowodowane jest głównie zwiększonym pobieraniem wody przez komórki wskutek zmian wywoływanych w strukturze błon celulozowo-pektynowych, sprowadzających się — w dużym przybliżeniu — do odwapnienia z następną metylacją uwolnionych wiązań lub przyłączeniem jonów potasowych (5). Nie na tym kończy się jednak rola auksyn: wpływają one na wydłużanie się korzeni, na podziały komórkowe i następne różnicowanie się tkanek, na rozwój pąków kwiatowych i ilościowych, na ilość granularnych struktur cytoplazmatycznych itd.; dla biochemika niezmiernie ważne jest, że pod ich wpływem może wzrosnąć lub

ulec zahamowaniu wymiana gazowa (procesy oddechowe) (9) oraz wybitnie zmienia się aktywność szeregu enzymów. Nasuwa się więc pytanie: co jest przyczyną, iż mogą one wpływać na tak liczne procesy życiowe, z których pewne są wybitnie aerobowe i wymagają dostarczenia ogromnych ilości energii? Jaki jest mechanizm działania auksyn na komórki roślinne?

Spośród licznych teorii wiążących się z tym problemem najwięcej zwolenników znalazł pogląd wysunięty jeszcze w roku 1937 przez Wenta i Thimanna (13), zgodnie z którym auksyny pełnią rolę koenzymów i po przeniknięciu do komórki łączą się wiązaniami kowalencyjnymi z odpowiednim nośnikiem (receptorem) natury białkowej.

Teoria ta (pod nazwą «two-point ortho-reaction hypothesis») została rozwinięta i podbudowana materiałem eksperymentalnym przez Muira i Hanscha (4), którzy — przeprowadzając badania głównie z pochodnymi kwasu fenoksyoctowego — stwierdzili, że gdy obie grupy orto w pierścieniu są zajęte przez jakiś podstawnik, to takie pochodne nie wykazują działania auksyno-podobnego; aby pochodna kwasu fenoksyoctowego była aktywna, przynajmniej jedna grupa orto musi być wolna. Opierając się na powyższym autorzy zakładają, że cząsteczka auksyny w komórce łączy się z jakimś substratem (receptorem białkowym) przy pomocy dwóch wiązań kowalencyjnych: poprzez grupę karboksylową łańcucha bocznego i poprzez węgiel pierścienia znajdujący się w pozycji orto. Ze strony białka w wiązaniach tych biorą udział grupy aminowe oraz grupy sulfhydrylowe (np. cystyny), w wyniku czego z jednej strony tworzy się wiązanie peptydowe, a z drugiej strony wiązanie C—S—C.

Już jednak w tym okresie znano fakty sprzeczne z wyżej opisaną teorią: udowodniono, że pochodne kwasu benzoowego, mimo podstawionych obu pozycji orto, mogą wykazywać aktywność auksyno-podobną (1), a później wykazano, że na przykład kwas 2,6-dwuchlorobenzoowy i kwas 2,6-dwuchlorofeniloctowy są wysoce aktywne, podczas gdy kwas 2,4-dwuchlorobenzoowy jest nieaktywny, a kwas 2,4-dwuchlorofeniloctowy wykazuje aktywność bardzo słabą, przy czym przykładów takich można przytoczyć znacznie więcej (12).

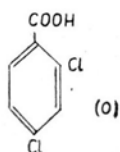
Można sądzić, że podstawienie pozycji orto atomami chloru niczego nie dowodzi, gdyż mogą być one szczególnie reaktywne i *in vivo* wejść w reakcję z białkami; przypuszczenie takie jednak należy odrzucić z uwagi na fakt, iż 2,6-metylo podstawione kwasy są również aktywne biologicznie. Wagę tego odkrycia ocenić można wiedząc, iż grupy metylowe są elektrododatnie, a chlorowe elektroujemne, co dowodzi, iż mamy do czynienia z wiązaniami kowalencyjnymi i związki z podstawionymi grupami orto, *in vivo* nie mogą (w tym położeniu) tworzyć wiązań chemicznych z odpowiednimi receptorami.

Jeżeli wykreślić zależność intensywności wzrostu koleoptyli owsa od stężenia auksyny znajdującej się w środowisku, to otrzymuje się charakterystyczną krzywą, zwaną optymalną. Na początku szybkość wzrostu jest proporcjonalna do stężenia auksyny, a następnie, po przejściu przez punkt maksymalny (V_{max}), dalsze zwiększanie ilości auksyny powoduje zahamowania wzrostu (2). Zgodnie z teorią

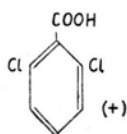
Muira i Hanscha punkt maksymalnego wzrostu odpowiada całkowitemu nasyceniu receptorów komórkowych przez cząsteczki auksyny, a następne zahamowanie wzrostu tłumaczy się konkurencją o receptory, w wyniku której do jednego nośnika przyłączają się dwie molekuly auksyny; ponieważ jednak każda z nich połączona jest tylko w jednym punkcie, nie mogą one wykazać swojej potencjalnej aktywności.

Tablica I

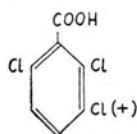
Wzory omawianych w tekście auksyn z zaznaczeniem, czy dany związek jest aktywny biologicznie (+), czy też nie (-)



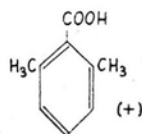
I



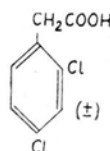
II



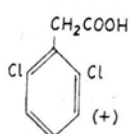
III



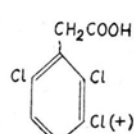
IV



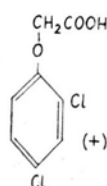
V



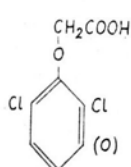
VI



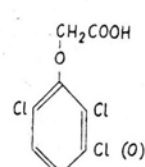
VII



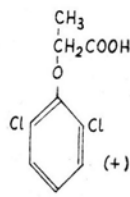
VIII



IX



X



XI

I — kwas 2,4-dwuchlorobenzoesowy
 II — kwas 2,4-dwuchlorobenzoesowy
 III — kwas 2,3,6-trójchlorobenzoesowy
 IV — kwas 2,6-dwumetylobenzoesowy
 V — kwas 2,4-dwuchlorofenylaoctowy
 VI — kwas 2,6-dwuchlorofenylaoctowy

VII — kwas 2,3,6-trójchlorofenylaoctowy
 VIII — kwas 2,4-dwuchlorofenoksyaoctowy
 IX — kwas 2,6-dwuchlorofenoksyaoctowy
 X — kwas 2,3,6-trójchlorofenoksyaoctowy
 XI — kwas 2,6-dwuchloro- α -metylofenoksyaoctowy

Intuicyjnie biorąc, takie tłumaczenie jest sztuczne, tym bardziej że znamy fakty dowodzące czego innego. Mianowicie, jeżeli do hodowli koleoptyli owsa, rosnącej na pożywce, zawierającej optymalne stężenie cukru i kwasu indolooctowego (V_{max}), dodać argininy, to szybkość wzrostu można przyspieszyć o 50%, a dodając argininę i siarczan magnezowy osiąga się wzrost zwiększony o 75%.

Tak więc granicę maksymalnego wzrostu należy przypisać nie brakowi receptorów auksynowych w komórkach, ale raczej brakowi innych czynników natury pokarmowej lub fizyko-chemicznej. Zahamowanie zaś wzrostu wywołane dużymi stężeniami auksyny może być spowodowane po prostu jej toksycznym wpływem na błony cytoplazmatyczne. Zresztą, czy tak kompleksowe zmiany, jakie obserwuje się po zadziałaniu auksyną, można sprowadzić li tylko do chemicznej reakcji określonego typu? I dlaczego auksyny *in vitro* nie wpływają na aktywność enzymów, podczas gdy *in vivo* działają one równocześnie na szereg systemów enzymatycznych, przy czym szczególnie wyraźnie zmienia się aktywność enzymów «powierzchniowych», tzn. enzymów rozmieszczonych na powierzchni struktur cytoplazmatycznych.

Tego rodzaju spostrzeżenia i wątpliwości stały się punktem wyjścia dla drugiej grupy hipotez zakładających, iż substancje wzrostowe działają na komórkę jako na całość (8), przy czym szczególną uwagę zwraca się na tzw. «anatomie płynną» komórki (fluid. anatomy), przez co rozumie się tak oponki cytoplazmatyczne, jak i pochewki (matrix) otaczające enzymy oraz wszystkie fizjologiczne błonki na pograniczu struktur cytoplazmatycznych; na określenie tego pojęcia istnieje precyzyjny termin angielski «cytoskeleton» i wyrażenia tego będziemy używali przy dalszych rozważaniach. Ideą hipotez tej grupy jest przypuszczenie, że biologiczna aktywność substancji wzrostowych nie zasadza się na reakcjach chemicznych, lecz raczej należy ją odnieść do zjawisk z dziedziny chemii koloidów, do zjawisk powierzchniowych, zachodzących na granicy faz.

Przed przystąpieniem do szczegółowego przedstawienia teorii J. van Overbeeka (5), (6) należy uprzednio zatrzymać się nad fizykochemicznymi właściwościami auksyn (11).

Porównując wzory chemiczne szeregu naturalnych i syntetycznych substancji wzrostowych wysunięto początkowo pięć cech, jakoby niezbędnych do tego, by dana substancja wykazywała aktywność biologiczną: a) jądro pierścieniowe b) podwójne wiązanie w pierścieniu, c) łańcuch boczny, d) grupa karboksylowa (lub grupy dające się łatwo przeprowadzić w karboksyl) w łańcuchu bocznym, e) specjalna konfiguracja przestrzenna między pierścieniem i grupą karboksylową łańcucha bocznego. Później zaszła konieczność krytycznego przejrzania wysuniętych kryteriów, ponieważ okazało się, że istnieje szereg substancji nie spełniających powyższych warunków, a jednak aktywnych i odwrotnie. W związku z tym pierwotne pięć cech zredukowano do dwóch: I) pierścień podstawowy (część niepolarna) odznaczający się wysoką aktywnością międzypowierzchniową i II) grupa karboksylowa (część polarna) lub inna grupa o charakterze kwasowym w takim ułożeniu przestrzennym w stosunku do pierścienia, by po adsorpcji cząsteczki na powierzchni jakiegoś receptora komórkowego, była ona ustawiona możliwie jak najbardziej peryferycznie, prostopadle do części aromatycznej cząsteczki.

Warunki te ustalono na podstawie wyników badań polarograficznych, które wykazały, że pierścień wysoko aktywnych auksyn nie bierze udziału w reakcjach oksydo-redukcyjnych; wykazuje on natomiast wysoki współczynnik podziału mię-

dzyfazowego. Zademonstrować to można na przykładzie kwasu fenyllooctowego i kwasu fenoksyoctowego: jeżeli wytrząsać te kwasy z mieszaniną wody i glicero-trójoleinianu, to w wypadku kwasu fenoksyoctowego na każde cztery części przechodzące do fazy wodnej trzy części przechodzi do fazy tłuszczowej, podczas gdy w wypadku kwasu fenyllooctowego analogiczne liczby przedstawiają się jak 4:1,6. Tak więc kwas fenoksyoctowy jest prawie dwa razy lepiej rozpuszczalny w tłuszczach, co powoduje, iż jest on aktywny biologicznie, podczas gdy kwas fenyllooctowy nie wykazuje żadnej aktywności. Współczynnik aktywności międzyfazowej jest wielkością zdeterminowaną równowagą, wytwarzającą się między grupą karboksylową, wykazującą powinowactwo do wody, a pierścieniem będącym składnikiem lipofilowym: im współczynnik podziału między fazy tłuszcz/woda jest większy, tym wyższa jest aktywność biologiczna danej substancji. Jest to niezmiernie ważne z tego względu, że tak oponki cytoplazmatyczne, jak i błonki na powierzchni struktur komórkowych (cytoskeleton) mają naturę lipoproteidową (7) i jakakolwiek substancja, aby wykazać swe działanie, musi albo przez nie przejść, albo rozpuścić się w nich. Tak więc rola pierścienia sprowadzałaby się do udziału w zjawiskach związanych z adsorpcją molekuly auksyny na powierzchni cytoskeletonu.

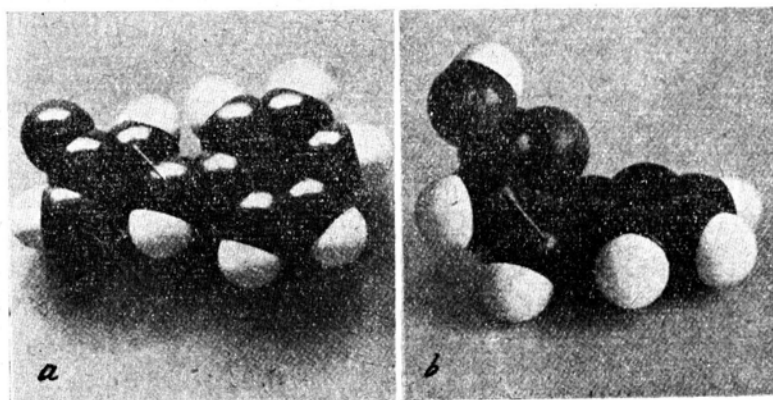
Przechodząc do omówienia roli odpowiedniej konfiguracji przestrzennej posłużmy się modelami Fishera i przeanalizujmy przykładowo kwasy cis- i trans-cynamonowe, z których tylko forma cis jest aktywna biologicznie, co na pierwszy rzut oka wydaje się trochę dziwne, ponieważ kwas cis-cynamonowy jest kwasem mocniejszym i posiada słabsze właściwości lipofilowe niż forma trans. O jego aktywności biologicznej przesądza fakt, iż nie może on tworzyć formy płaskiej, to znaczy konfiguracji, przy której łańcuch boczny znajdowałby się w płaszczyźnie pierścienia, gdyż swobodną rotację łańcucha utrudnia atom wodoru w pozycji orto: powoduje to przesunięcie grupy karboksylowej w bok; przy formie trans, nieaktywnej biologicznie, rotacja łańcucha bocznego nie jest niczym ograniczona i pozycja jego pokrywa się z płaszczyzną pierścienia (rys. 1).

Omówiona tutaj zależność jest zasadą ogólną: wszystkie dotychczas znane auksyny posiadają łańcuch boczny leżący poza płaszczyzną pierścienia (11).

Co się tyczy grupy karboksylowej w łańcuchu bocznym okazuje się, że jest ona niezastąpiona w tym sensie, że podstawienie jej jakąś inną grupą kwasową (np. SO_3H) doprowadza albo do zupełnego zaniku aktywności biologicznej, albo do jej znacznego obniżenia. Dla nas szczególnie interesujący jest wypadek drugi, gdzie zastąpienie grupy karboksylowej przez inne (w tym również i tetrazole) nie prowadzi do inaktywacji, ponieważ jest to fakt jawnie przeczący słuszności teorii Muira i Hanscha bazującej na reakcji grupy COOH z NH_2 z wytworzeniem wiązania peptydowego $-\text{CONH}-$, i mamy prawo wysnuć wniosek, że *in vivo* do wiązania takiego nie dochodzi.

Opierając się na wyżej omówionych zależnościach J. van Overbeek z końcem 1959 r. ogłosił teorię tłumaczącą działanie auksyn na organizmy roślinne za pomocą zjawisk natury fizyko-chemicznej (5, 6).

Jak wiadomo, na powierzchni cząsteczek koloidalnych istnieje sieć wiązań wodorowych (wiązania mostka wodorowego) i w wypadku, gdy dana grupa polarna (np. —OH) jest równocześnie donorem i akceptorem atomu wodorowego, czyli stanowi zakończenie dwu wiązań wodorowych, powstają łańcuchy lub pierścienie praktycznie nieskończone; stabilność takich łańcuchów lub pierścieni wybitnie może wzrosnąć wskutek jednoczesnej oscylacji atomów wodorowych związanych wiązaniem mostka wodorowego i znajdujących się w pośrodku systemów elektronów walencyjnych (3).



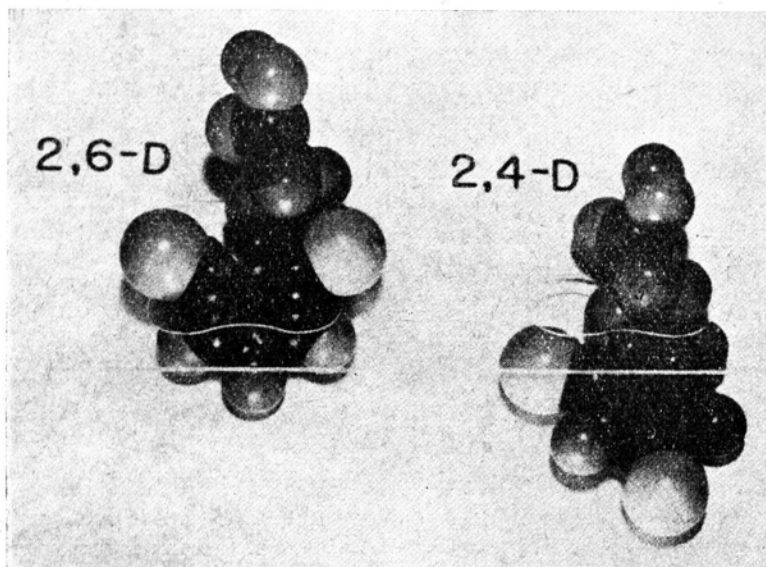
Rys. 1. Modele strukturalne cząsteczek kwasu trans-cynamonowego (a) i kwasu cis-cynamonowego (b) (wg Veldstra, 1953)

Według van Overbeeka w pierwszym etapie molekula auksyny pogrąży się w oponkę cytoplazmatyczną (lub matrix otaczającą systemy enzymowe) i zakotwiczy się w niej, a grupa polarna łańcucha bocznego wchodzi w kontakt z systemem wiązań wodorowych cytoskeletonu pełniąc rolę «brakującego ogniwa», dostarczenie którego powoduje, iż cały system zaczyna oscylować. Wytworzenie układu oscylacyjnego wiązań wodorowych zmienia wybitnie strukturę cytoskeletonu poprzez zmiany w hydratacji, a to ze swej strony zmienia odległości między systemami enzymatycznymi rozłożonymi na powierzchni lub w głębi cytoskeletonu. Deformacja normalnej «mozaiki» enzymatycznej zmienia względne stosunki reakcyjne między nimi i specyficznymi substratami, co odbić się musi na proporcjach produkowanych metabolitów; zmienione ilości specyficznych metabolitów już bezpośrednio determinują odmienny przebieg procesów życiowych.

Rozpatrzmy bardziej szczegółowo teorię J. van Overbeeka.

Jak wspomniano, oponki struktur cytoplazmatycznych (cytoskeletonu) mają naturę lipidową i celem rozpuszczenia się w nich cząsteczka auksyny musi odznaczać się odpowiednio wysokim współczynnikiem podziału, umożliwiającym wniknięcie w fazę tłuszczową i wszystkie podstawniki chemiczne, zwiększające powinowactwo do tłuszczów (jak np. formy halogenkowe, esirowe, nitrylowe lub obecność chlorowca w pierścieniu), z reguły prowadzą do zwiększonej aktywności

biologicznej (w porównaniu do aktywności form wyjściowych). Rozpuszczenie możliwe jest dzięki temu, że w cytoskeletonie istnieją przestrzenie intermolekularne tworzące trójwymiarowe zagłębienia, w które wskutek ruchów termicznych, mogą pogrążyć się molekuly auksyny. Dla wykazania aktywności biologicznej konieczne jest, by grupy polarne łańcucha bocznego weszły w skład istniejącego na powierzchni cytoskeletonu systemu wiązań wodorowych, czyli że dana molekula nie może wnikać ani zbyt płytko, ani zbyt głęboko.



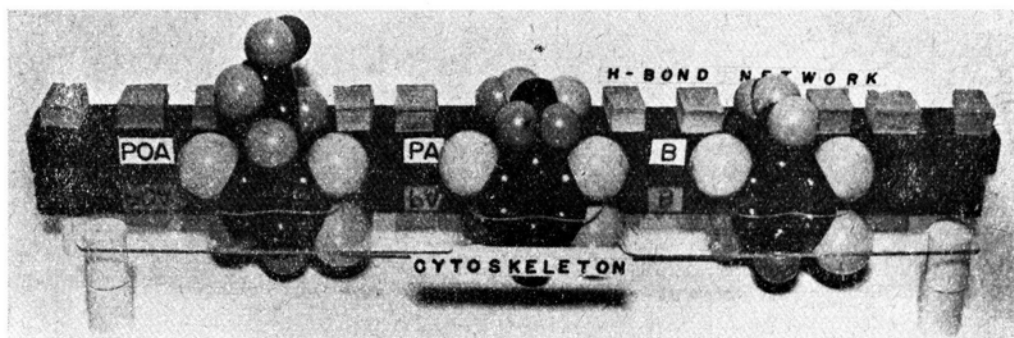
Rys. 2. Różnice w stopniu pogrążenia się modeli cząsteczek kwasu 2,4-dwuchlorofenoksyoctowego i 2,6-dwuchlorofenoksyoctowego w zagłębienia intermolekularne o maksymalnej średnicy $6,5 \times 3,5$ Å. Arkusz plastiku z otworami symbolizuje odcinek cytoskeletonu (wg J. van Overbeeka, 1959)

Zalóżmy, że średnica zagłębień intermolekularnych wynosi $6,5 \times 3,5$ Å i dla lepszego zobrazowania zachodzących tutaj zależności posłużmy się modelami przestrzennymi cząsteczek auksyn. Jak widać z rys. 2 molekuly kwasu 2,4-dwuchlorofenoksyoctowego, kwasu 2,5-dwuchlorofenoksyoctowego i 2,4,5-trójchlorofenoksyoctowego przechodzą swobodnie, podczas gdy molekula kwasu 2,6-dwuchlorofenoksyoctowego — ze względu na obecność dwóch atomów chloru w pozycji orto — jest za szeroka (najmniejsza średnica $8,5$ Å) i zagłębia się tylko częściowo, co powoduje, iż stosunkowo długi łańcuch boczny znajduje się ponad systemem wiązań wodorowych i nie może wejść z nimi w kontakt; w konsekwencji pierwsze trzy pochodne kwasu fenoksyoctowego są aktywne biologicznie, a ostatnia nie.

Z drugiej strony jednak związki o stosunkowo krótkim łańcuchu bocznym (jak np. pochodne kwasu fenylooctowego lub benzoesowego) zyskują na obecności dwóch dużych grup w pozycji orto, ponieważ zapobiegają one zbyt głębokiemu

pograżeniu się cząsteczek w cytoskeleton, umiejscawiając boczne łańcuchy dokładnie w pozycji sprzyjającej wytworzeniu się systemu oscylacyjnego wiązań wodorowych (rys. 3); w tym wypadku obojętne jest, czy grupami tymi są reszty halogenkowe, czy też grupy metylowe.

Aby mogły wytworzyć się nowe systemy wiązań wodorowych konieczne jest, by cząsteczka auksyny po wnikięciu w cytoskeleton została w nim zakotwiczona na stałe. Dochodzą tutaj do głosu wiązania Van der Waalsa, których siła jest proporcjonalna do ciężaru atomowego; wypływa z tego wniosek, że podstawniki pozycji 3, 4 i 5 o dużej masie cząsteczkowej (np. atomy chloru) wpływać będą dodatkowo na moc tego typu wiązań i tym, między innymi, należy tłumaczyć fakt, iż kwas 4-chlorofenoksyoctowy jest mocniejszą auksyną niż kwas 4-metylofenoksyoctowy.



Rys. 3. Porównanie modeli cząsteczek 2,3,6-trójkloro pochodnych kwasu fenoksyoctowego (POA), kwasu fenoksyoctowego (PA) i kwasu benzooesowego (B) w ich powiązaniach z powierzchnią cytoskeletonu. Ze względu na dwa duże atomy chloru w pozycji orto cząsteczki zagłębione są stosunkowo płytko; atom chloru w pozycji 3 (pod płaszczyznę) zakotwicza cząsteczki we właściwym położeniu. Grupy karboksylowe kwasu benzooesowego (B) i kwasu fenoksyoctowego (PA) mogą wejść w skład systemu wiązań wodorowych istniejących na powierzchni cytoskeletonu (przestawionych symbolicznie za pomocą kostek z gąbki: H-bond network) i utworzyć układ oscylujący, podczas gdy grupa boczna kwasu fenoksyoctowego (POA) ustawiona jest zbyt wysoko, w wyniku czego nie powstają nowe wiązania wodorowe i pochodna ta nie wykazuje aktywności biologicznej (wg J. van Overbeeka, 1959)

Należy teraz zastanowić się nad rolą łańcucha bocznego, o którym z porównania modeli przestrzennych Fishera wiadomo, że powinien być ustawiony jak najbardziej prostopadłe do płaszczyzny pierścienia. Jest zrozumiałe, że wiązania wodorowe nie mogą blokować przestrzeni, w którą ma zagłębić się cząsteczka auksyny, lecz że muszą okalać go, i łańcuch boczny auksyny, jeżeli ma wejść z nimi w kontakt, musi być także ustawiony peryferycznie. Poprzednio wspomniano, że kwas 2,6-dwuchlorofenoksyoctowy nie jest aktywny biologicznie, można go jednak przekształcić w pochodną wykazującą działanie auksynowe przez wprowadzenie do łańcucha bocznego (przy węglu alfa) grupy metylowej lub etylowej, przez co grupa karboksylowa przyjmuje położenie bardziej boczne, sprzyjające powstaniu nowych wiązań wodorowych. Na karb budowy przestrzennej cząsteczek należy również zaliczyć fakt, iż kwas benzooesowy jest słabszą auksyną niż kwas

fenylooctowy: w drugim wypadku dłuższy łańcuch jest ułożony bardziej lateralnie niż krótka grupa karboksylowa kwasu benzoowego.

I na koniec jeszcze jeden bardzo ważny warunek: aby doszło do powstania wiązania wodorowego grupa polarna auksyny nie może być zdysocjowana, nie może pozostawać w rezonansie z pierścieniem i musi być od niego izolowana pod względem elektronowym, słowem: im słabszy kwas, tym zasadniczo większa zdolność tworzenia wiązań typu mostka wodorowego. Elektronową izolację grupy polarnej osiągnąć można albo przez obecność dodatkowego atomu węgla pomiędzy grupą karboksylową i pierścieniem (pochodne kwasu fenylooctowego lub kwasu fenoksyoctowego), albo przez maksymalne odsunięcie w bok grupy karboksylowej przez podstawienie dwóch dużych grup w pozycji orto, lub przez wysycenie wiązań podwójnych, co prowadzi do zmniejszenia rezonansu grupy bocznej z pierścieniem i stwarza lepsze warunki przestrzenne dla powstania wiązania wodorowego.

Reasumując powyższe rozważania odpowiedzmy, za J. van Overbeekiem, dlaczego cała cząsteczka auksyny jest aktywna biologicznie, biorąc jako przykład kwas 2,3,6-trójchlorobenzoowy. Jest on auksyną, gdyż:

a) atomy chloru, zwiększając powinowactwo do tłuszczów (w porównaniu do kwasu benzoowego), ułatwiają tym samym proces rozpuszczania się w lipidowych otoczkach struktur cytoplazmatycznych;

b) atomy chlorowe w pozycji orto izolują grupę karboksylową od rezonansu z pierścieniem i odsuwają ją w bok od płaszczyzny pierścienia, co powoduje, iż może ona włączyć się w sieć wiązań wodorowych na powierzchni cytoskeletonu;

c) atomy chlorowe w pozycji orto zwiększając średnicę cząsteczki zapobiegają zbyt głębokiemu pogrążeniu się molekuly w cytoskeleton;

d) atom chloru w pozycji 3 wzmacnia siły Van der Waalsa, konieczne do zakotwiczenia się cząsteczki w sprzyjającej pozycji.

Jak widać z przytoczonego opisu, idea teorii J. van Overbeeka sprowadza się — przez wytworzenie oscylującego systemu wiązań wodorowych — do zmian w hydratacji substratu będącego akceptorem molekuly auksyny, co ma swe konsekwencje w tak olbrzymich zmianach, jakie obserwujemy po zadziałaniu na roślinę odpowiednią substancją wzrostową. Czy jednak rzeczywiście zmiany stopnia uwodnienia cytoskeletonu mogą mieć aż tak duże następstwa fizjologiczne i biochemiczne? Problemowi temu warto poświęcić parę uwag.

Żywa komórka jest gigantycznym systemem koloidowym i wszystkie reakcje biochemiczne (a przynajmniej znaczna ich większość) w niej przebiegające są to reakcje zachodzące między cząsteczkami koloidowymi lub katalizowane przez specyficzne układy koloidalne (fermenty). Molekuly tego typu co białka są otoczone pochwą wodną (ilość H_2O dochodzić może do 30%), przy czym cząsteczki wody zwykle ułożone są regularnie, przypominając strukturę lodu. Przyłączenie do takiej micelli jakiejś nowej cząsteczki chemicznej (np. auksyny) wywołuje jakościowe i ilościowe zmiany w strukturze zewnętrznej płaszczyzny wodnej, przy czym zmiany te przenoszą się na pewną odległość. Jeszcze bardziej skomplikowana sytuacja

powstaje w wypadku, gdy przyłączająca się cząsteczka chemiczna wchodzi w związek z istniejącym na powierzchni micelli systemem wiązań wodorowych połączonych w łańcuchy lub pierścienie i indukuje powstanie systemu oscylującego: zmiany w hydratacji mogą być wtedy przenoszone na znaczne obszary, co radykalnie odbija się na wzajemnym ułożeniu micelli względem siebie. Skoro mamy do czynienia z lipoproteidami cytoskeletonu, to zmienione odległości między nimi bezpośrednio udzielają się systemom enzymatycznym, integralnie związanym z cytoskeletonem, które w zmienionych warunkach produkują metabolity w odmiennych proporcjach. Bezpośrednim dowodem na słuszność takiego rozumowania jest fakt, iż po zadziałaniu substancją wzrostową przede wszystkim zmienia się przepuszczalność oponek cytoplazmatycznych dla wody, a izolowane struktury cytoplazmatyczne (mitochondria) w roztworach auksyny wykazują tendencję do pęcznienia. Ostatni fakt jest szczególnie ważny, ponieważ mitochondria są centrami grupującymi szereg z najważniejszych życiowo systemów enzymatycznych. I nie można zapominać, że opisana teoria dotyczy pierwszego etapu w mechanizmie działania auksyn, a nie dotyczy reakcji wtórnych, będących konsekwencją zaproponowanego mechanizmu i przejawiających się w odmiennym przebiegu procesów fizjologicznych.

Oczywiście, jak każda teoria, tak i ta nie jest czymś idealnym; w każdym razie stoi w zgodzie z wynikami dotychczasowych badań eksperymentalnych i stanie się na pewno odskocznią do projektowania nowych, interesujących badań eksperymentalnych.

Podziękowanie

Panu Profesorowi J. van Overbeekowi składam gorące podziękowania za nadesłanie egzemplarzy autorskich Jego prac.

Zakład Fizjologii Roślin Uniwersytetu Łódzkiego, Łódź

LITERATURA

1. Bentley J. A., 1950. Growth regulating effect of certain organic compounds. *Nature*, 165, 449.
2. Bonner J., and R. J. Foster, 1956. The kinetics of auxin induced growth. W książce: Wain R. L., and F. Weightman (red.) «The chemistry and mode of action of plant growth substances». Butterworths Sci. Publ., London, str. 295.
3. Huggins M. L., 1957. Hydrogen bonding in high polymers and inclusion compounds. *J. Chem. Ed.*, 34, 480.
4. Muir R. M., and C. H. Hansch, 1953. On the mechanism of action of growth regulators. *Plant Physiol.*, 28, 218.
5. Overbeek J. van, 1959. Auxins. *Bot. Rev.*, 25, 269.
6. Overbeek J. van, 1959. New theory on the primary mode of auxin action. IV-th Intern. Congress on Plant Growth Regulation, Yonkers-New York, Aug. 10—19.
7. Overbeek J. van, 1956. Absorption and translocation of plant regulators, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 7, 355.

8. Peters R. A., 1956. Hormone and cytoskeleton. *Nature*, 177, 426.
9. Stiles W., 1960. Respiration III, *Bot. Rev.*, 26, 209.
10. Tukey H. B., F. W. Went, R. M. Muir, and J. van Overbeek, 1954. Nomenclature of chemical plant regulators. Report by a Committee of the American Society of Plant Physiologist. *Plant Physiol.*, 29, 307.
11. Veldstra H., 1953. The relation of chemical structure to biological activity in growth substances. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 4, 151.
12. Veldstra H., 1956. On form and function of plant growth substances. W książce: Wain R. L. and F. Weightman (red.) «The chemistry and mode of action of plant growth substances», Butterworths Sci. Publ., London, str. 117.
13. Went F. W., 1945. Auxin, the plant-growth hormone. II., *Bot. Rev.*, 11, 487.