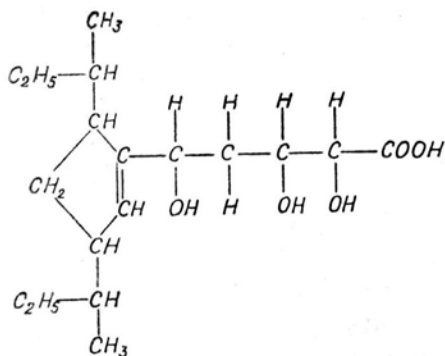


W. MACIEJEWSKA-POTAPCZYKOWA

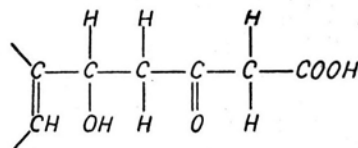
## STRUKTURA CHEMICZNA I AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA HORMONÓW ROŚLINNYCH

Lista stymulatorów wzrostu roślin jest już dziś bardzo długa i coraz częściej podejmowane są próby ustalenia zależności pomiędzy strukturą chemiczną tych związków a ich aktywnością biologiczną. Wyzolowanie auksyn w dostatecznych ilościach i o odpowiednim stopniu czystości pozwoliło poznać ich budowę chemiczną. Köglowi i jego współpracownikom (1933) udało się wyodrębnić z materiału biologicznego i otrzymać w stanie krystalicznym trzy chemicznie różne substancje, a mianowicie: auksynę A, czyli kwas auksentriolowy, który został wyodrębniony z moczu; auksynę B, czyli kwas auksenolowy, wyizolowany ze słoju i oleju kukurydzowego oraz heteroauksynę, czyli kwas  $\beta$ -indoliloctowy, wydzielony z kultur grzybków pleśniowych i innych mikroorganizmów, a także z moczu. Dwa pierwsze z wymienionych związków są bardzo podobne pod względem struktury chemicznej (wzory I i II).

Oba te związki są oksykwasami. Poznanie struktury chemicznej auksyn było bardzo trudne, ponieważ są one *in vitro* nietrwałe. Nawet przechowywane w próżni łatwo ulegają izomerycznej przemianie polegającej na przesunięciu podwójnego

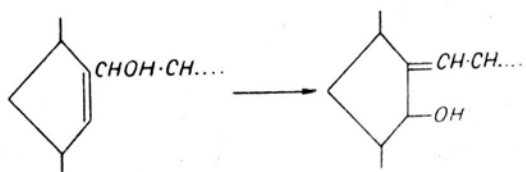


I. Auksyna A — kwas auksentriolowy



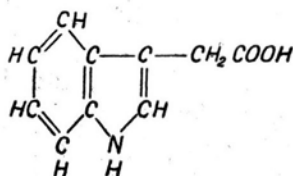
II. Auksyna B — kwas auksenolowy  
(łańcuch boczny)

wiązania pierścienia do łańcucha bocznego z jednoczesnym przejściem związku w nieaktywną pseudoauksynę z następującą zmianą w strukturze:



Zmiana taka nie zachodzi prawdopodobnie w roślinie.

Trzeci związek — heteroauksyna, czyli kwas  $\beta$ -indoliloctowy, wyizolowany nie tylko z moczu i z drobnoustrojów, ale także z różnego materiału roślinnego (mąki, słodu, liści szpinaku) posiada zupełnie inną strukturę niż auksyny. Związek ten znany był w chemii organicznej już w r. 1904, to znaczy od momentu otrzymania go przez Ellingera (cyt. przez Audusa 1959) na drodze syntezy. Budowę kwasu  $\beta$ -indoliloctowego podaje wzór III:



III. Kwas  $\beta$  — indoliloctowy

Fakt, że związek ten stanowi pochodną tryptofanu znany był także już w r. 1903, kiedy to Hopkins i Cole wykazali, że tryptofan pod wpływem bakterii *Escherichia communis* ulega przemianie w kwas  $\beta$ -indoliloctowy. Obecność heteroauksyny u roślin wyższych została wykazana w r. 1909 (Herter cyt. przez Audusa 1959), kiedy rola fizjologiczna tego związku była jeszcze zupełnie nieznaną.

Po wyizolowaniu z moczu auksyny A i heteroauksyny zwrócono baczniejszą uwagę na związki fizjologicznie czynne występujące w roślinach. Ponieważ jednak substancje takie występują w materiale roślinnym w bardzo drobnych ilościach, przeto otrzymywanie ich na przykład z koleoptyli było bardzo żmudne i nie dawało zupełnie możliwości bezpośrednich badań nad ich własnościami chemicznymi. (Według danych Kögla działanie 1 mg auksyny równa się 50 milionom «jednostek owsianych», co odpowiada ilości auksyny zawartej w 7 milionach wierzchołków koleoptyli kukurydzy; każdy bowiem taki wierzchołek zawiera w sobie około 7 «jednostek owsianych». Dla otrzymania więc 250 mg auksyny z koleoptyli kukurydzy trzeba by przerobić około 2 miliardów kielków tej rośliny!). Dlatego też uciekano się wówczas do metod pośrednich, badając na przykład zachowanie się auksyn w stosunku do kwasów i zasad lub oznaczając szybkość dyfuzji tych związków w agarze. Pierwsze prace Kögla wykazały, że auksyny A i B ulegają rozkładowi pod wpływem gorących alkali, podczas gdy kwas  $\beta$ -indoliloctowy jest w tych warunkach stabilny. Pod wpływem natomiast gorących kwasów rozkładowi ulegają

auksyna B i kwas  $\beta$ -indoliloctowy, auksyna A pozostaje stabilna. Te własności auksyn umożliwiały do pewnego stopnia rozróżnianie poszczególnych hormonów naturalnych występujących w wyciągach roślinnych. Okazało się przy tym, że w wyciągach tych występują zawsze trzy związki: auksyny A i B oraz heteroauksyna. Pierwsze wyniki zastosowania tej metody badań nasunęły pogląd, że auksyna A jest hormonem koleoptyli owsa i innych siewek (Went i Thimann 1937). Opierając się na tych danych Guttenberg (1942) zwalczał nawet pogląd, że kwas  $\beta$ -indoliloctowy jest w ogóle stymulatorem wzrostu, uważając go raczej za aktywatora działania auksyn A i B.

Badania jednak lat ostatnich rzuciły nowe światło na to zagadnienie. Söding i Raadts (1953) powtórzywszy próby Kögla i działając gorącymi kwasami i alkaliami na wyciągi koleoptyli owsa doszli do wniosku, że nie zawierają one zupełnie auksyn A i B.

Terpstra (1953a i b) posługując się metodą chromatograficzną stwierdził, że jedyną auksyną występującą w koleoptylach owsa jest kwas  $\beta$ -indoliloctowy.

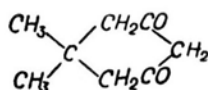
Wprawdzie pomiary współczynników dyfuzji substancji czynnych dyfundujących do bloczków agarowych stosowane przez dawniejszych badaczy (Went 1928, Kögl, Haagen-Smit, Ersleben 1934) ustaliły ciężar cząsteczkowy auksyny A na 376, a więc zgodnie z ciężarem cząsteczkowym związku według zaproponowanej formuły auksyny A ( $M=328$ ), a nie z ciężarem kwasu  $\beta$ -indoliloctowego ( $M=175$ ), to jednak w nowszych badaniach (Wildman i Bonner 1948) okazało się, że zastosowanie tej samej techniki do ziemniaka, pomidora, szpinaku, ananasa i szeregu innych roślin dało wyniki raczej zbliżone do ciężaru cząsteczkowego kwasu  $\beta$ -indoliloctowego niż auksyn A i B.

Być może, że wysokie wartości ciężaru cząsteczkowego auksyn otrzymane w pierwszych próbach Wenta spowodowane były zanieczyszczeniami preparatów auksyn inhibitorami wzrostu, które przeszkadzały w testach biologicznych. Obecność bowiem inhibitora wzrostu w próbce badanej substancji mogła zmniejszać reakcję koleoptylu i dzięki temu można było otrzymać niskie wartości dla aktywności biologicznej. Dzięki temu wartość współczynnika dyfuzji oznaczano zbyt nisko, a ciężar cząsteczkowy badanych substancji zbyt wysoko. Jest również zupełnie możliwe, że dyfundująca auksyna wyizolowana przez Wenta stanowiła kompleks kwasu  $\beta$ -indoliloctowego z nieznanymi komponentami komórki.

Zagadnienie jednak, czy auksyny A i B są substancjami występującymi powszechnie u roślin, można by rozstrzygnąć dopiero wtedy, gdyby zostały one otrzymane w stanie krystalicznym. Dotychczas bowiem auksyny A i B nie były wyizolowane z materiału roślinnego przez żadnych innych badaczy prócz Kögla i jego współpracowników. Również próby odtworzenia auksyn A i B na drodze syntezy w laboratoriach Kögla i Jonesa w Manchester (cyt. przez Audusa 1959) nie powiodły się i nie udało się dokonać syntezy związków o tak złożonej cząsteczce z dużą liczbą asymetrycznych atomów C i w związku z tym możliwością istnienia szeregu stereioizomerów (Kögl i Brim 1950, Brown i współpracownicy 1950). Charakterystyczne jest przy tym, że żaden z badanych związków syntetycznych

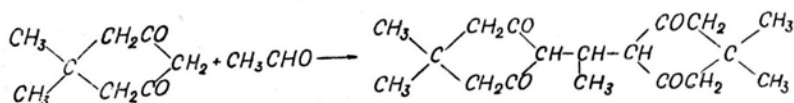
o 5-członowym pierścieniu, zbliżonych budową do auksyn A i B nie wykazywał aktywności. Dlatego też wielu fizjologów roślin wyraża nawet wątpliwość co do ich istnienia, uważając tylko kwas  $\beta$ -indoliloctowy za naturalny hormon wzrostowy występujący w świecie roślin.

Pracami, które rzuciły wiele światła na zagadnienie powstawania tego związku w roślinie były badania nad prekursorami auksyn. Już w 1932 r. Bonner wykazał, że pleśń *Rhizopus suinus* (jedno z dawniej znanych źródeł kwasu  $\beta$ -indoliloctowego), hodowana na peptonie, wykazuje dużą aktywność wzrostową wtedy, kiedy utlenia kwasy aminowe, zawarte w podłożu. Nieco później Thimann (1935) wykazał, że pleśń ta powoduje przemianę tryptofanu w kwas  $\beta$ -indoliloctowy. Późniejsze badania wykazały, że tryptofan jest prekursorem kwasu  $\beta$ -indoliloctowego także i u szeregu roślin wyższych. Skoog (1937) stwierdził, że w koleoptylach owsa zachodzi przemiana tryptofanu w kwas  $\beta$ -indoliloctowy. Według Gordona (1954) proces ten zachodzi również w komórkach wielu organów jak liście, łodygi, pąki, korzenie i nasiona. Synteza kwasu  $\beta$ -indoliloctowego zachodzi w komórce roślinnej na drodze enzymatycznej. Badania przebiegu tej reakcji przeprowadzone na wyciągach z różnych tkanek roślinnych wykazały, że produktem pośrednim tej przemiany jest aldehyd indolo-3-octowy. Larsen (1944) stwierdził, że związek ten występuje w znacznych ilościach w liściach kapusty, osiągając stężenie 4 mg na 1 kg liści i może być łatwo utleniony na kwas  $\beta$ -indoliloctowy przez system enzymów (aldehydazę) obecnych w glebie. Wykazano również, że wyciągi koleoptyli (Larsen 1949, Bentley i Housley 1952) oraz tkanek ananasa zdolne są utleniać syntetyczny aldehyd indolo-3-octowy do kwasu indoliloctowego. Do wyjaśnienia aldehydowej natury pośredniego prekursora kwasu  $\beta$ -indoliloctowego przyczyniły się badania Larsena (1951), który stwierdził, że powstawanie kwasu  $\beta$ -indoliloctowego w liściach ananasa można zablokować «dimedonem». «Dimedon» jest odczynnikiem organicznym (wzór IV).



IV. Dimedon — 5,5 — dwumetylocykloheksanodian — 1,3

Tworzy on z aldehydami produkty nierozpuszczalne w wodzie i nie ulegające hydrolyzie enzymatycznej. Już w 1911 r. Neuberg (cyt. Fieser 1958) użył «dimedonu» do związania aldehydu octowego jako produktu przejściowego fermentacji alkoholowej. Reakcja «dimedonu» z aldehydem octowym przebiega następująco:



Jeśli chodzi o możliwości powstawania kwasu  $\beta$ -indoliloctowego z tryptofanu, to istnieją dwie hipotezy:

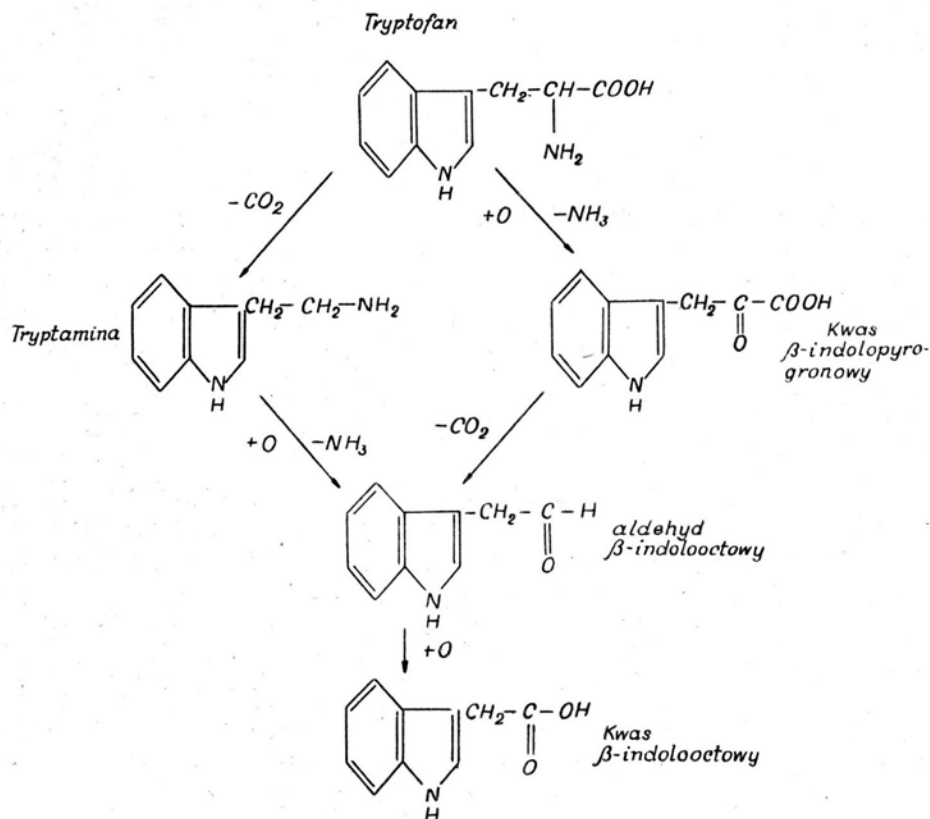
Według jednej z nich jako produkt oksydatywnej dezaminacji tryptofanu powstaje kwas  $\beta$ -indolopyrogronowy. Kwas ten przechodzi następnie w aldehyd  $\beta$ -indolilooctowy, a ten z kolei w kwas  $\beta$ -indolilooctowy. Co do występowania keto-kwasów jako produktów pośrednich przemiany tryptofanu w kwas  $\beta$ -indolilooctowy, to w wyciągach acetonowych zarodków kukurydzy, koleoptyli owsa i korzeni pszenicy stwierdzono obecność kwasu  $\beta$ -indolopyrogronowego (Stowe, Thimann 1954). Związek ten może ulec przemianie na kwas  $\beta$ -indolilooctowy pod wpływem nieoczyszczonych wyciągów enzymatycznych z ananasa (Gordon i Sanchez-Nieva 1949) i siewek fasoli (Gordon, 1954). Studia nad konwersją tryptofanu w kwas  $\beta$ -indolilooctowy w mikroorganizmie *Agrobacterium tumefaciens* ustaliły ostatecznie, że kwas  $\beta$ -indolilooctowy jest produktem pośrednim tych przemian. Przejście tego związku w kwas  $\beta$ -indolopyrogronowy odbywa się drogą redukcji katalizowanej przez odpowiednią dehydrogenazę (Kaper 1957).

Według drugiej hipotezy produktem dekarboksylacji tryptofanu jest tryptamina, która ulega konwersji enzymatycznej w aldehyd  $\beta$ -indolilooctowy. Obecność tryptaminy stwierdzono w kwiatach i kielkach *Acacia floribunda* i *A. pruinosa*; prawdopodobnie jednak nie jest ona związana z metabolizmem auksyn (White 1944). Nie udało się również dotychczas poznać enzymu — dekarboksylazy, przeprowadzającej tryptofan w tryptaminę. Preparaty enzymatyczne z liści ananasa i koleoptyli owsa zdolne są do przemiany tryptaminy w kwas  $\beta$ -indolilooctowy, preparaty zaś z liści szpinaku są pozbawione tej własności (Gordon 1956). Być może, że u różnych roślin przemiana tryptofanu w kwas  $\beta$ -indolilooctowy przebiega różnymi drogami, ale ostatecznie wiadomości nasze o tej przemianie sprowadzają się do ustalenia dwu możliwych sekwencji reakcji (wg Audusa 1959) (schemat V).

System enzymów odpowiedzialnych za przebieg tych reakcji został wyizolowany z liści szpinaku i opisany przez Wildmana i współpracowników (1946). Czynnikiem hamującym aktywność tych enzymów okazały się promienie X: naświetlanie roślin małymi dawkami 100 rentgenów promieni X hamowało wydłużanie się łodyg i zmniejszało w nich stężenie rodzimych auksyn. Te same dawki promieni X powodowały również hamowanie aktywności enzymów przeprowadzających *in vitro* konwersję tryptofanu w kwas  $\beta$ -indolilooctowy (Gordon 1953).

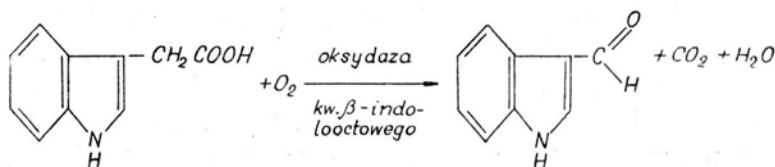
Jeśli chodzi o rozpad kwasu  $\beta$ -indolilooctowego w tkankach, to w liściach, korzeniach i siewkach wielu roślin stwierdzono występowanie enzymu-oksydazy kwasu  $\beta$ -indolilooctowego, który utlenia ten kwas. System enzymów utleniających kwas  $\beta$ -indolilooctowy został wyizolowany z łodyg etiolowanego grochu przez Tanga i Bonnera (1947). Enzymy te atakują kwas  $\beta$ -indolilooctowy przez utlenienie jego łańcucha bocznego w sposób podany w schemacie VI.

Oksydaza kwasu  $\beta$ -indolilooctowego jest inaktywowana przez cyjanki, skąd wynika, że zawiera ona metal ciężki w swojej grupie prostetycznej. Oksydaza kwasu  $\beta$ -indolilooctowego jest enzymem specyficznym, chociaż zostało stwierdzone, że może ona atakować (choć w mniejszym stopniu) i inne kwasy indolokarboksyłowe jak: kwas  $\beta$ -indolopropionowy i  $\beta$ -indolomasłowy (Wagenknecht, Burris 1949) — a zatem



#### V. Drogi przemiany tryptofanu w kwas $\beta$ — indoliloctowy

związki nie występujące w komórkach roślinnych, ale posiadające również własności substancji wzrostowych. Enzym ten jest prawdopodobnie bardzo rozpowszechniony

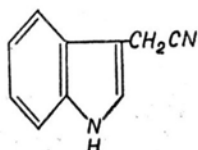


#### VI. Enzymatyczne utlenianie kwasu $\beta$ — indoliloctowego

w tkankach roślinnych, szczególnie w etiolowanych kiełkach i w korzeniach, i był zwykle używany do identyfikowania kwasu  $\beta$ -indoliloctowego jako rodzimej auksyny. Tang i Bonner użyli po raz pierwszy w r. 1947 tego enzymu do zidentyfikowania kwasu  $\beta$ -indoliloctowego u ananasa. Pod jego bowiem działaniem aktyw-

ność auksyny w wyciągach ananasa uległa zniszczeniu. Funkcja tego enzymu w roślinie polega prawdopodobnie na regulacji ilości czynnego hormonu w różnych częściach rośliny.

W miarę rozwoju techniki izolowania substancji wzrostowych z grupy auksyn czy to na drodze rozdziału chromatograficznego na bibule (Bennet-Clark i współpracownicy 1952, Luckwill 1952, Guttenberg i wspólr. 1954, Linser i wspólr. 1954, Stowe i Thimann 1954, Terpstra 1953a, b, Kefford 1955) lub na kolumnach (Linser 1951, Jones i wspólr. 1952, Linser i Maschek 1953) czy też jonoforezy na bibule (Denffer i Fischer 1952) udało się wyizolować szereg związków fizjologicznie czynnych, występujących powszechnie w roślinach. Najczęściej spotyka się kwas  $\beta$ -indolilooctowy, jak również jego aldehyd. Innym związkiem, który został wyodrębniony przez Jonesa i wspólr. (1952) z kapusty brukselki na kolumnach gipsowych był indolo-3-acetonitryl (wzór VII),



VII. Indolo-3-acetonitryl

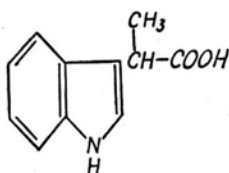
który okazał się bardzo aktywny w testach biologicznych. Inne związki indolowe będące auksynami lub prekursorami auksyn, to: kwas  $\beta$ -indolilopyrogronowy (Stowe, Thimann 1954), ester etylowy kwasu  $\beta$ -indolilooctowego (Teubner 1953), kwas  $\beta$ -indolilopropionowy i skatol (Linser i wsp. 1954), kwas indolo-3-karboksyowy (Cartwright i wsp. 1956) i kwas indolilo-glikolowy (Fischer 1954).

Charakterystyczne jest, że niekiedy w roślinach występują auksyny, które nie mogą być zidentyfikowane jako kwas  $\beta$ -indolilooctowy, gdyż nie poddają się działaniu enzymów wyizolowanych z etiolowanych łodyg grochu. Tak na przykład stwierdzono, że w słoneczniku, ogórkach i łodygach Coleus, (Guttenberg i wsp. 1954) występują znaczne ilości auksyn odpornych na działanie oksydazy kwasu  $\beta$ -indolilooctowego. Wiedow-Pätzold i Guttenberg (1957) tłumaczą ten fakt możliwością występowania w badanych roślinach specyficznych inhibitorów tego enzymu, które uniemożliwiają utlenienie kwasu  $\beta$ -indolilooctowego. Wiadomo bowiem, że tkanki roślinne zawierają takie inhibitory. Struktura tych związków nie została jeszcze poznana, niemniej jednak stwierdzono, że inhibitor wykryty w siewkach rzodkiewki jest odporny na działanie wysokiej temperatury i posiada ciężar cząsteczkowy prawie równy ciężarowi cząsteczkowemu kwasu  $\beta$ -indolilooctowego (Bonner 1950).

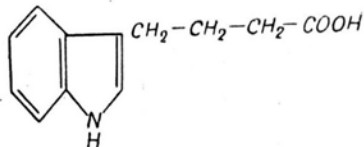
Do substancji czynnych, które nie zostały zidentyfikowane jako kwas  $\beta$ -indolilooctowy należy również związek jeszcze nie zidentyfikowany, ale wyizolowany przez Luckwilla i Powella (1956) z nasion, pyłku, owoców i liści jabłoni i nazwany przez nich *Malus auxin 2*. Charakterystyczne jest, że ta auksyna występuje w miąższu jabłek, natomiast w nasionach i liściach występuje substancja nieco inna.

Poza związkami indolowymi również inne substancje czynne występują w niektórych roślinach. Do nich należy np. kwas cynamonowy i fenylooctowy, które jednakże wykazują znacznie słabsze działanie niż kwas  $\beta$ -indoliloctowy.

Wyizolowanie i zidentyfikowanie szeregu stymulatorów wzrostu z materiału roślinnego zwróciło uwagę na inne związki o podobnej budowie chemicznej i aktywności fizjologicznej. W roku 1935 wielu autorów doniosło o wykryciu aktywności biologicznej wielu innych kwasów indolokarboksylowych jak: (indolo-3)propionowy (VIII)

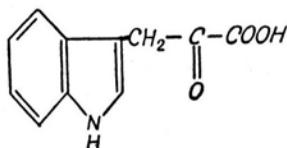


VIII

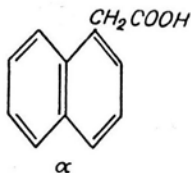


IX

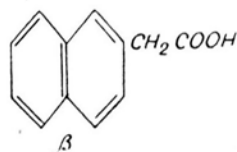
$\beta$ -(indolo-3)masłowy (IX) (Zimmerman i wsp. 1936);  $\beta$ -indolopyrogronowy (X) (Haagen-Smit, Went 1935); kwasy  $\alpha$  i  $\beta$ -naftylooctowe (XI i XII), kwas fenylooctowy (XIII), kwas antraceno-octowy (XIV) (Zimmerman i wsp. 1936), kwas naftoksyoctowy (XV) (Irvine 1938), i kwas fenoksyoctowy (XVI) (Zimmerman i Hitchcock 1942).



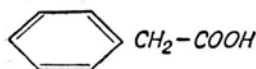
X



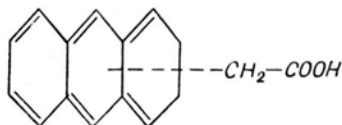
XI



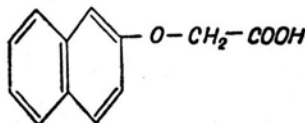
XII



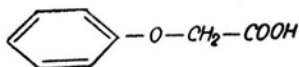
XIII



XIV



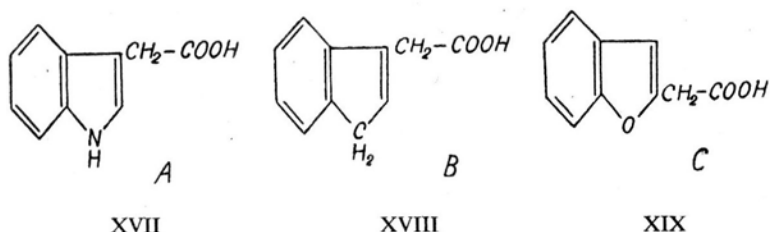
XV



XVI



Przy badaniu jednak aktywności tych związków jako stymulatorów wzrostu wyłonił się szereg trudności. Tak np. Thimann (1935), który badał aktywność kwasów: indolo-3, indeno-3 i kumarylo-2-octowego (XVII—XIX) przekonał się, że kwas



indeno-3-octowy wykazywał bardzo małą aktywność w teście owsianym, a kwas kumarylo-2-octowy nie wykazywał jej zupełnie, natomiast oba te związki okazały się bardzo aktywne przy zastosowaniu testu grochowego.

Wobec wykrycia dużej liczby związków fizjologicznie czynnych, szereg badaczy podjęło próby uogólnienia własności chemicznych tych substancji. W roku 1938 Koepfli, Thimann i Went ustalili pięć cech związków, które przy użyciu testu grochowego okazały się aktywnymi stymulatorami wydłużania się komórek. Zdaniem tych badaczy cząsteczka takiego związku czynnego musi:

- 1) posiadać budowę pierścieniową,
- 2) w pierścieniu musi występować przynajmniej jedno wiązanie podwójne,
- 3) łańcuch boczny zawierający grupę  $\text{COOH}$  lub grupę łatwo przechodzącą w karboksylową,
- 4) co najmniej jeden atom węgla pomiędzy pierścieniem a grupą  $\text{COOH}$ ,
- 5) szczególny układ przestrzenny grupy  $\text{COOH}$  w stosunku do pierścienia.

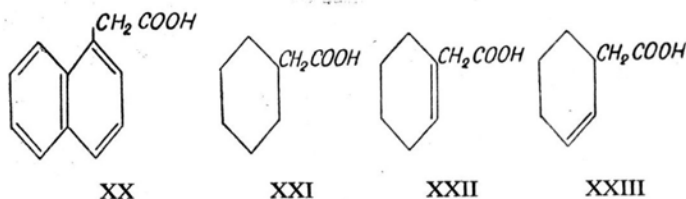
Ponieważ jednak okazało się, że wiele innych związków, nie wykazujących właściwości fizjologicznych substancji wzrostowych, spełnia te warunki. Veldstra (1944) skondensował te pięć punktów do dwu podstawowych, a mianowicie, że związek aktywny musi zawierać:

- 1) pierścień o wysokiej aktywności powierzchniowej,
- 2) grupę karboksylową lub jej dipol, które muszą znajdować się w ściśle określonej pozycji w stosunku do pierścienia.

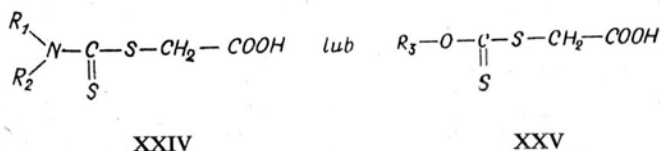
Zasadniczą rolę dla zapewnienia aktywności fizjologicznej substancji odgrywa rodzaj pierścienia. Związki z pierścieniami 5-członowymi wydają się raczej nieaktywne. Auksyny A i B stanowiłyby wyjątek od tej reguły.

Chociaż większość auksyn naturalnych zawiera heterocykliczny układ indolowy, a podstawienie w nim azotu węglem lub tlenem zmniejsza znacznie aktywność otrzymanych w ten sposób pochodnych, to jednak rzut oka na wzory kwasów  $\beta$ -indoliloctowego (wzór III) i naftalenoctowego (wzór XX), będącego również aktywną substancją wzrostową wskazuje, że grupa indolowa nie jest wcale zasadnicza dla aktywności biologicznej związku. Ważne jest natomiast, aby w pierścieniu występowało wiązanie podwójne, które przylegałoby do łańcucha

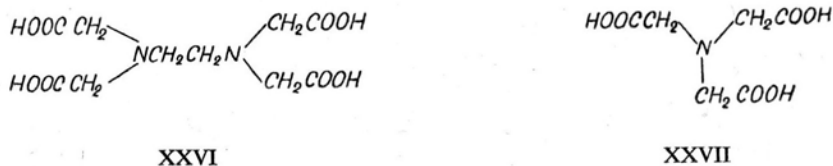
bocznego. Wiadomo bowiem, że z trzech kwasów: cykloheksanooctowego i cykloheksenooctowych z podwójnym wiązaniem w różnych położeniach w stosunku do łańcucha bocznego (XXI, XXII, XXIII) tylko związek XXII spełnia ten warunek i jest przy tym biologicznie aktywny. Formy natomiast XXI i XXIII są nieaktywne.



Pomimo jednak dużej liczby doświadczeń, ilustrujących zależność pomiędzy aktywnością fizjologiczną związku a obecnością nienasyconego pierścienia w jego cząsteczce, pogląd o roli tego pierścienia jako czynnika decydującego o własnościach stymulujących danej substancji, nie da się dłużej utrzymać. W roku bowiem 1955 Kerk i wsp. donieśli, że pewne karbaminiany (por. wzory XXIV i XXV —



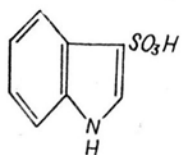
$R^1, R^2, R^3$  — rodniki alkilowe), a szczególnie z niższymi alkoholami jako rodnikami odznaczają się również aktywnością fizjologiczną, co świadczy o tym, że budowa pierścieniowa nie jest konieczna dla stymulacji wzrostu. Inni znów autorzy (Bennet-Clark 1956, Heath i Clark 1956) stwierdzili, że niektóre związki chelatowe, jak np. EDTA (kwas etyleno-dwuamino-tetraoctowy; XXVI) lub NTA (kwas nitrylotrójoctowy — XXVII) są także stymulatorami wzrostu. Być może, że auksyny są związkami ułatwiającymi włączanie się składników mineralnych w połączenia chelatowe, co jest niezmiernie ważne przy odżywianiu się roślin. Wiadomo bowiem, że struktura związków chelatowych czyni je zdolnymi do tworzenia bardzo trwa-



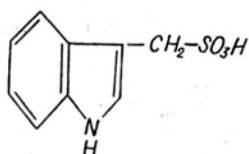
łych kompleksów z atomami metali. W rolnictwie związki chelatujące używane są dla ochrony składników mineralnych występujących w glebie, które mogłyby wejść w połączenia nierozpuszczalne w wodzie z różnymi związkami organicznymi i tym

samym stać się zupełnie niedostępnymi dla roślin. Metale zaś (szczególnie żelazo) wchodzące w skład związków chelatowych są łatwo przyswajalne przez rośliny.

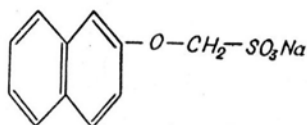
Jednym z podstawowych postulatów Veldstry jest również, aby związek aktywny zawierał grupę karboksylową, lub inną łatwo przechodzącą w COOH. Jeśli chodzi o estry kwasu  $\beta$ -indoliloctowego, stanowiące prawdopodobnie prekursoru auksyn, to aktywność ich maleje wraz ze wzrostem wielkości cząsteczki alkoholu estyfikującego, co wiąże się chyba również z podatnością na hydrolizę enzymatyczną tych estrów w roślinie. Podobnie jak estry, tak i amidy auksyn ulegają przemianie w kwasy karboksylowe. Jones i współpr. (1949) wykazali nawet bardzo ścisłą korelację pomiędzy aktywnością amidów szeregu syntetycznych auksyn, jak kwasy: 2, 4-dwuchlorofenoksyoctowy, 2-metyl-4-chlorofenoksyoctowy, 2, 4, 5-trójchlorofenoksyoctowy i  $\beta$ -naftoksyoctowy i aktywnością odpowiadających im kwasów. Charakterystyczne jest przy tym, że tylko związki posiadające nieparzystą liczbę atomów węgla w nierozgałęzionym łańcuchu bocznym tworzyły homologi kwasu octowego. To wskazywałoby, że konwersja amidów w kwasy musi być poprzedzona  $\beta$ -oksydacją zachodzącą według schematu Knoopa. Podobne doświadczenia przeprowadzono z indoloacetoamidem (Seeley i wsp. 1956). Indolilo-3-acetonitryl, wyizolowany z liści kapusty (Jones i wsp. 1952) jest związkiem, który również może ulec przemianie w kwas  $\beta$ -indoliloctowy. Obok wyżej wymienionych są również związki, których aktywność nie wiąże się z obecnością grupy karboksylowej, jak



XXVIII



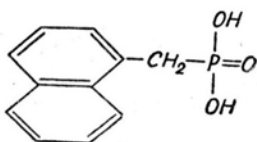
XXIX



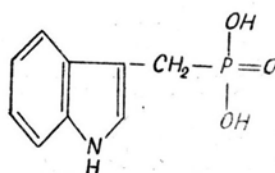
XXX

np. indykan (wzór XXVIII), składnik moczu o aktywności równej około 5% aktywności kwasu  $\beta$ -indoliloctowego (Veldstra 1944), lub kwas indolo-3-metano-sulfonowy (XXIV), który nie jest toksyczny i dlatego może być stosowany w wysokich stężeniach; w tych właśnie wysokich koncentracjach okazał się on aktywnym stymulatorem wzrostu w teście grochowym. Podobnymi własnościami odznacza się jego homolog 2, 3, 6-trójchlorofenyl.

Z drugiej strony związki typu (wzór XXX) są bardzo mało aktywne (Wain 1949). Kwasy  $\alpha$ -naftylo i  $\beta$ -indolilo-metano-fosforowe (wzory XXXI i XXXII), które



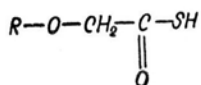
XXXI



XXXII

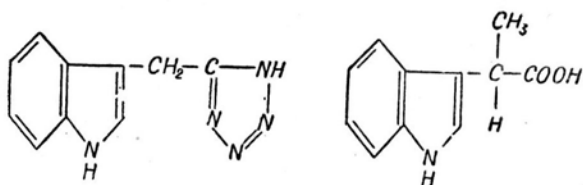
są związkami słabo toksycznymi, wykazują w wysokich stężeniach znaczną aktywność w teście grochowym (Veldstra i współpr. 1954, Veldstra 1955).

Kwasy fenoksy-tio-octowe o wzorze ogólnym:



gdzie R mogą stanowić różne podstawniki fenyłowe, wykazują zadziwiająco wysoką aktywność wzrostową (Burström, Sjöberg i Hansen 1956).

Wysoką aktywnością w teście grochowym odznaczają się również związki zawierające pierścień tetrazolowy, jak np. 5-indolo-3-metyl-tetrazol (Westering 1957) (XXXIII).



XXXIII

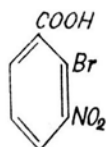
XXXIV

Aktywność regulatorów wzrostu związana jest również z ich izomerią optyczną. Na fakt ten zwrócił uwagę Kögl w r. 1937 pracując nad kwasem  $\alpha$ -(indolo-3)propionowym. Stwierdził on, że izomer prawoskrętny jest około 30 razy aktywniejszy niż izomer lewoskrętny w teście owsianym. Jeżeli chodzi o kwas 2, 4-dwuchlorofenoksy- $\alpha$ -propionowy, to również tylko jego izomer D okazał się aktywny (Miller 1957). Wykazano, że na ogół formy D auksyn są bardziej aktywne jako stymulatory wzrostu, a formy L działają jako antyauksyny.

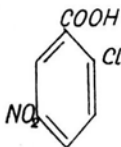
Smith i Wain (1952) rozdzielili racemiczną mieszaninę izomerów kwasu  $\alpha$ -(2-naftoksy)propionowego, który posiada również asymetryczny atom C. Tutaj izomer «+» wykazał wysoką aktywność fizjologiczną w szeregu różnych testów wzrostowych, izomer zaś «-» okazał się zupełnie nieaktywny. Jest charakterystyczne, że większość (ale nie wszystkie) aktywne izomery są formami +, chociaż wszystkie one należą do serii o konfiguracji D (tzn. wywodzą się z D(-) kwasu mlekowego).

Zgodnie z cytowanymi już wyżej założeniami Koepfli w związku fizjologicznie czynnym grupa COOH musi być oddzielona od pierścienia co najmniej jednym atomem C. Kiedy jednak liczba atomów C oddzielających grupę karboksylową od pierścienia zwiększa się, aktywność związku spada. Nie stwierdzono jednak w tym wypadku żadnej proporcjonalności. Interesujące jest przy tym, że w szeregu prac

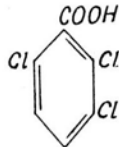
(Zimmerman i Hitchcock 1944, Bentley 1950, Veldstra i Westeringh 1952) wykazano aktywność wielu takich związków, w których grupa COOH jest przyłączona bezpośrednio do pierścienia, jak np.: kwas 2-bromo-3-nitro-benzoowy (XXXV), kwas 2-chloro-5-nitrobenzoowy (XXXVI), kwas 2, 3, 6-trójchlorobenzoowy (XXXVII) lub 1, 2, 3, 4-czterohydro-1-naftoesowy (XXXVIII).



XXXV

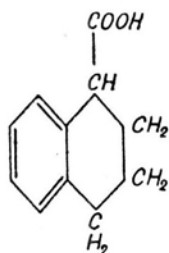


XXXVI

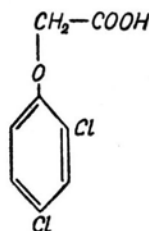


XXXVII

Ponadto w odniesieniu do wyższych homologów kwasu  $\alpha$ -naftylooctowego (Grace 1939), kwasu  $\beta$ -indoliloctowego (Thimann i Bonner 1938) i 2, 4-dwuchlorofenoksyoctowego (Synerholm i Zimmerman 1947 — XXXIX) stwierdzono,



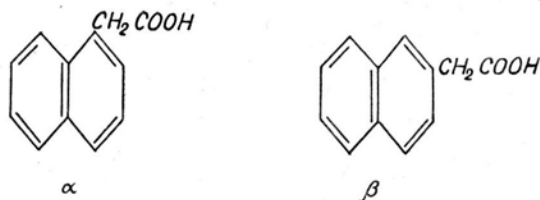
XXXVIII



XXXIX

że związki o nieparzystej liczbie atomów C w łańcuchu bocznym odznaczają się wyższą aktywnością niż związki o liczbie parzystej. Zjawisko to Synerholm i Zimmerman tłumaczą tym, że związki o parzystej liczbie atomów C ulegają  $\beta$ -oksydacji, w wyniku której powstaje nieaktywny fenol, podczas gdy związki o nieparzystej liczbie atomów C przechodzą łatwo w bardzo aktywny kwas fenoksyoctowy. Dowodem tego były doświadczenia Wain'a (1951), który traktował len szeregiem homologów kwasu  $\omega$ -fenoksy-alkilo-karboksyłowego o wzorze ogólnym  $C_6H_5-O-(CH_2)_nCOOH$ . Po zaabsorbowaniu takich związków przez korzenie, tylko te rośliny wykazywały duże ilości fenolu, które były potraktowane kwasami, zawierającymi parzystą liczbę atomów węgla pomiędzy pierścieniem a grupą karboksylową. U roślin zaś potraktowanych kwasami o nieparzystej liczbie atomów C stwierdzono zwiększoną szybkość przebiegu  $\beta$ -oksydacji (Fawcett, Taylor 1956, Wain, Wightman 1954).

Czynnikami mogącym również wywierać wpływ na aktywność fizjologiczną związku może być położenie łańcucha bocznego, co ilustruje dobrze przykład kwasów  $\alpha$  i  $\beta$ -naftylooctowego (XL).



XL

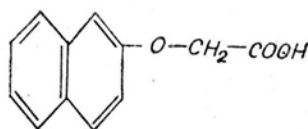
Kwas  $\alpha$ -naftylooctowy jest znacznie aktywniejszy niż kwas  $\beta$ -naftylooctowy.

Podstawienie innych pierwiastków do związków fizjologicznie czynnych wpływa również na ich aktywność. Tak np. wprowadzenie tlenu do cząsteczki kwasu fenyllooctowego, który przechodzi wówczas w kwas fenoksyoctowy, prawie że eliminuje aktywność tego pierwszego. Zamiana tego tlenu przez atom siarki jeszcze bardziej obniża tę aktywność (Wain 1949, Wilske i Burstrom 1950, Fawcett i wsp. 1955).

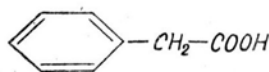
Stopień aktywności substancji może zależeć zarówno od natury podstawnika, jak i jego pozycji. Weźmy za przykład podstawienie chloru do pozycji orto-, meta- i para w kwasie fenoksyoctowym. Chlor w pozycji orto tego kwasu zwiększa jego aktywność tylko nieznacznie, podczas gdy w pozycji meta- lub para powoduje wysoki jej wzrost.

Podstawniki w więcej niż jednej pozycji pierścienia mogą wpływać bardzo znacznie na aktywność fizjologiczną związku zależnie od charakteru poszczególnych grup i pozycji, w których są one podstawione. Przykładem tej zależności jest kwas 2, 4 D. Jest on bardzo aktywny z chlorem podstawionym w pozycjach 2 i 4. Podstawienie Cl do pozycji 5 zmniejsza nieco tę aktywność, a podstawienie go do pozycji 6 eliminuje ją zupełnie. Kiedy jako podstawniki użyte są inne pierwiastki, jak Br czy J, lub grupy metylowa czy nitrowa, wówczas efekty wzrostowe są mniejsze. Muir i współpr. (1949) ustalili, że w serii kwasów fenoksyoctowych przynajmniej jedna pozycja orto musi być podstawiona.

Wain (1949) ustalili ponadto, że dla aktywności auksyny jest niezbędne, aby przynajmniej jeden atom H był przyłączony do węgla łańcucha bocznego. Tak więc: kwas  $\beta$ -naftoksyoctowy (XLI) i kwas  $\alpha$ (2-naftoksy-propionowy) (XLIII) są bardzo aktywne, podczas gdy: kwas naftoksyizomasłowy (XLIII) posiada aktywność niewielką.

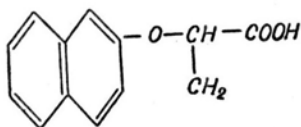


XLI

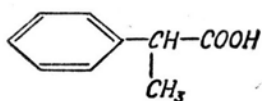


XLII

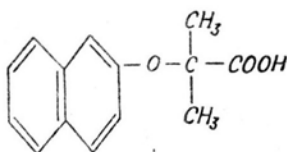
Podobnie jest z kwasami fenylo-alifatycznymi. Np. kwas fenylooctowy (XLII) i  $\alpha$ -fenylopropionowy (XLV) są aktywne, podczas gdy kwas fenyloizomasłowy (XLVI) posiada bardzo słabą aktywność. Wykazano również, że podobne zja-



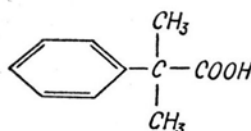
XLIII



XLV



XLIV



XLVI

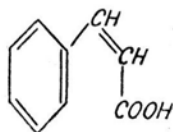
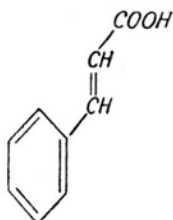
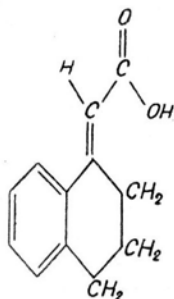
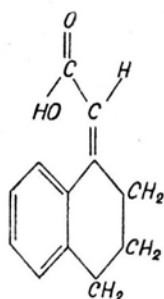
wisko zachodzi u niektórych serii kwasów fenoksyoctowych i fenylotio kwasów (Fawcett i wsp. 1955). Cytowany już wyżej Wain uważa, że rola tego atomu H jest bardzo zasadnicza w podstawowych procesach biochemicznych, związanych z działaniem auksyn. Charakterystyczne jest, że jeżeli ten wodór w łańcuchu bocznym podstawimy grupą hydroksylową, to aktywność związku zaniknie, czego przykładem jest kwas migdałowy:  $C_6H_5-CHOH-COOH$ . Związek ten jest zupełnie nieaktywny, podczas gdy kwas fenylooctowy, z którego się on wywodzi, jest aktywny.

Być może, że zmiana własności fizycznych cząsteczek, związana ze zwiększeniem jej rozpuszczalności, odgrywa w tym wypadku znaczną rolę.

Zgodnie z cytowanymi już wyżej postulatami Veldstry (1944) grupa karboksylowa łańcucha bocznego nie może leżeć w płaszczyźnie pierścienia, lecz poza nią. Maksimum aktywności związku występuje przy prostopadłym ułożeniu grupy  $COOH$  w stosunku do pierścienia. Według tego autora substancja fizjologicznie czynna musi odznaczać się dużą aktywnością powierzchniową, która umożliwia jej adsorpcję na lipidowych komponentach komórki, a łańcuch boczny musi wystawać poza tę powierzchnię. Klasycznym przykładem ilustrującym zależność między konfiguracją przestrzenną i aktywnością biologiczną jest kwas cynamonowy. Forma cis (XLVII) spełnia ten postulat Veldstry i jest bardzo aktywna, podczas gdy forma trans jest nieaktywna.

Rozważania nad modelami Stuarta izomerów cis i trans kwasu 1, 2, 3, 4-tetrahydronaftylideno-1-octowego prowadzą do wniosku, że w obu tych związkach łańcuch boczny zdolny jest obracać się dokoła wiązania  $-C-C$  przytwierdzającego go do pierścienia. Forma trans modeli wykazuje, że ta rotacja może zachodzić o  $360^\circ$  i stąd przeciętna orientacja grupy  $COOH$  wypada w płaszczyźnie pier-

ścienia. Forma *cis* natomiast nie posiada możliwości kompletnego obrotu o 360° gdyż obrót łańcucha bocznego dokoła osi —C—C— jest ograniczony do oscylacji w jednej płaszczyźnie bocznej. W tym wypadku grupa COOH ustawia się pod pewnym kątem do płaszczyzny pierścienia. Zgodnie z Veldstrą najwyższa aktywność izomeru *cis* występuje przy prostym ustawieniu grupy COOH. Rozważania te zastosował Veldstra (1949) do wyjaśnienia różnic w aktywności

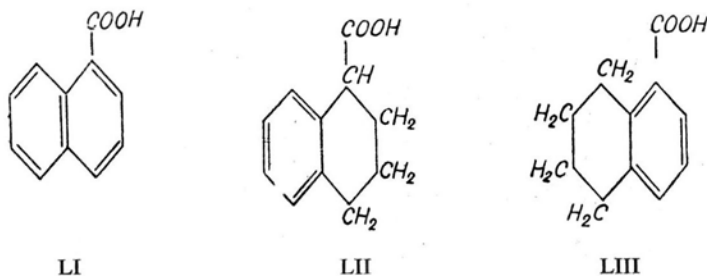
XLVII., *cis*XLVIII, *trans*XLIX, *cis*L, *trans*

biologicznej izomerów kwasów naftylo- i naftoksyooctowego i podstawionych kwasów benzoesowych. Spośród tych pierwszych kwas  $\alpha$ -naftoesowy (LI) wykazuje w teście grochowym małą aktywność. Uwodorowanie pierścienia i utworzenie kwasu 1, 2, 3, 4-tetrahydro-1-naftoesowego (LII) znacznie zwiększa aktywność tego związku. To uwodorowanie ustawia asymetryczny atom C w pozycji, do której przyłączona jest grupa karboksylowa, co przyczynia się do tego, że grupa COOH układa się wtedy w płaszczyźnie poza pierścieniem i zgodnie z założeniem Veldstry zwiększa aktywność związku. Uwodorowanie do 5, 6, 7, 8-tetrahydro-pochodnej (LIII) nie ma wpływu na aktywność (Veldstra 1953).

Jeśli chodzi o mechanizm chemicznego działania stymulatorów wzrostu na komórkę, to według współczesnych poglądów auksyny pobrane przez roślinę tworzą ze związkami występującymi w tkankach odwracalne kompleksy (Bonner 1957). Przyłączanie się auksyn do tych związków zachodzić może poprzez trzy podstawowe struktury ich cząsteczki: nienasycony pierścień, grupę karboksylową i co najmniej jeden atom H w położeniu  $\alpha$ . Wszystkie te komponenty muszą po-



siadać odpowiednie ułożenie przestrzenne w cząsteczce auksyny, tak aby «pasowała» ona do centrum jej działania, stanowiącego jakby jej akceptor w rosnącej komórce (Smith i Wain 1952). Hipotezę Waina zwaną «teorią trzech punktów kontaktu», a obrazującą zależność aktywności auksyn od ich struktury chemicznej, ilustruje następujący schemat (według Audusa 1959, str. 72).

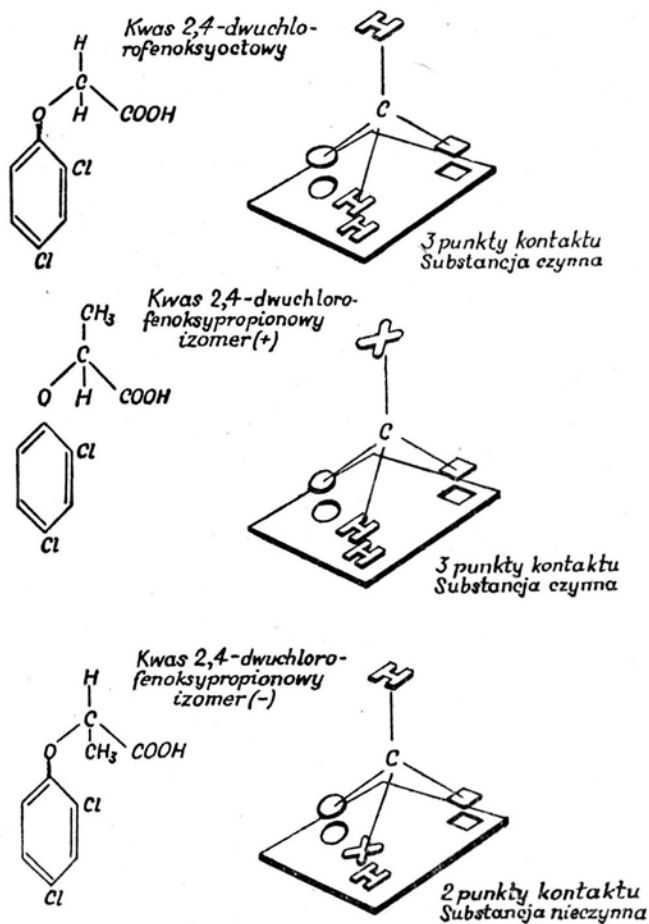


Według Bonnera (1957) auksyny o różnej budowie chemicznej konkurują między sobą o akceptory. Przy wysokiej koncentracji auksyn może przypaść dwie lub więcej cząsteczek tych związków na jeden akceptor i wówczas wywierają one działanie hamujące.

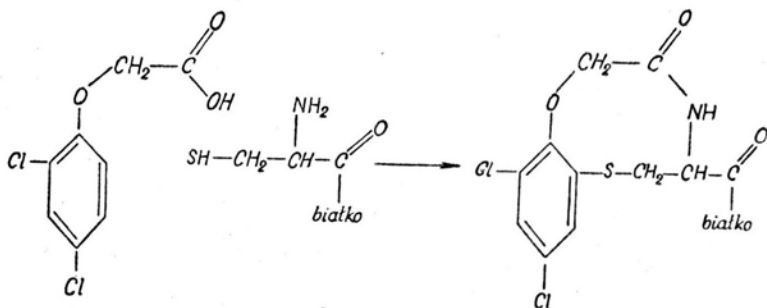
Przy podstawieniu różnych grup do pierścienia pyroloenowego kwasu  $\beta$ -indoliloctowego następuje obniżenie aktywności tego związku. To obniżenie jest najmniejsze przy podstawieniu grupy  $\text{CH}_3$ , większe przy grupie  $\text{C}_2\text{H}_5$ ; podstawienie grupy  $\text{OCH}_3$  w jakiegokolwiek pozycji niszczy tę aktywność zupełnie. Charakterystyczne jest, że różne podstawniki w kwasie 2, 4-dwuchlorofenoksyoctowym zwiększają jego aktywność w następującej kolejności (malejącej):



Podstawniki w pozycjach 2 i 4 dają zwykle lepsze efekty niż w pozycji 3. Podstawnik w jednej pozycji daje na ogół mniejszy efekt fizjologiczny niż podstawniki w dwu pozycjach. Podstawienie 3 lub więcej pozycji nie daje dalszego wzrostu aktywności, a nawet zmniejsza ją. Podstawienie obu pozycji orto- kwasów fenoksyoctowych niszczy zupełnie aktywność tego związku (Muir i współpr. 1949, Hansch i Muir 1950, Seeley i Wain 1950). Takeda (1960) przebadawszy aktywność szeregu pochodnych kwasu fenoksyoctowego i N-fenyloglicyny na teście pomidorowym, stwierdził, że najbardziej czynne okazały się pochodne zawierające grupę trójfluorometylową i grupę nitrową w pozycji meta. Tenże sam autor (1960a) stwierdził również bardzo wysoką aktywność kwasu  $\alpha$ -metoksy-(3, 4-dichloro)fenylowego. Cytowane wyżej wyniki badań wskazują na to, że podstawowa reakcja chemiczna w roślinie, w której bierze udział auksyna ma związek właśnie z położeniem meta atomu węgla. Na tej też podstawie stworzona została przez Fostera i współpracowników (1952) «teoria dwu punktów kontaktu». Założeniem jej jest, że auksyna za pośrednictwem grupy karboksylowej oraz wolnej pozycji orto- włącza się do cysteiny białka roślinnego w sposób przedstawiony na schemacie LIV.



Schemat 1



Podstawienie pozycji di-orto blokuje przyłączenie do pierścienia i zapobiega w ten sposób stymulującemu działaniu auksyny. Chociaż teoria ta wydaje się bardzo pociągająca, to jednak istnieje szereg danych z literatury przeczących jej. Tak np. Thimann (1952) stwierdził, że kwas 2, 6-dwuchlorofenoksyoctowy wykazuje pewną aktywność w teście grochowym, a Wain i Wightman (1953) oraz Fawcett, Wain i Wightman (1955) wykazali aktywność kwasów 2, 3, 6-trójchlorofenoksyoctowego, (2, 6-dwuchlorofenoksy) propionowego i  $\alpha$ -(2, 6-dwuchlorofenoksy) m-słowego.

Jeśli chodzi o rozmieszczenie auksyn w roślinie, to występują one zazwyczaj w sferach aktywnego wzrostu, ale znaleźć je można także i w organach dojrzałych, jak np. w liściach, choć w mniejszych ilościach; pąki szczytowe *Vicia Faba* zawierają zwykle około 6 razy więcej auksyn niż liście. W etiolowanych siewkach owsa miejscami wytwarzania się tych substancji są przede wszystkim wierzchołek koleoptylu, a następnie wierzchołek korzenia.

Wiadomo, że auksyny mogą występować w roślinie w stanie wolnym lub związanym. Auksyny wolne łatwo jest wyodrębnić przez dyfuzję lub szybką ekstrakcję, auksyny zaś związane uwolnić można przez hydrolizę enzymatyczną.

Ogólnie powiedzieć można, że w dążeniu do wyjaśnienia mechanizmu działania auksyn, zwraca się coraz większą uwagę na te własności fizyczne i chemiczne, które decydują o ich aktywności hormonalnej. Wielu badaczy stwierdziło na różnym materiale roślinnym, że auksyny działają na ogół intensywniej w środowisku kwaśnym niż alkalicznym. Optimum ich aktywności przypada na *pH* wahające się w granicach 4—5. Tłumaczyć to można w ten sposób, że wszystkie znane auksyny są słabymi kwasami, a ponieważ wiadomo, że związki te są czynne tylko w stanie niezdisocjonowanym, przeto największa ich aktywność przypadać musi na środowisko kwaśne. O aktywności auksyn decyduje również (Veldstra 1953) rozpuszczalność struktury pierścienia w tłuszczach i rozpuszczalność łańcucha bocznego w wodzie. Według tego autora najwyższa aktywność auksyn występuje wówczas, gdy zachodzi równowaga między własnościami hydrofilnymi i hydrofobnymi tych związków.

Jeśli chodzi o auksyny związane, to mogą one występować jako:

- 1) kompleksy auksynowo-białkowe,
- 2) prekursorzy auksyn,
- 3) kompleksy prekursorów,
- 4) białka strukturalne, stanowiące źródło auksyn.

Kompleks auksynowo-białkowy składa się z kwasu  $\beta$ -indoliloctowego luźno zaadsorbowanego na powierzchni frakcji białkowych. Kwas ten jest aktywny w stymulowaniu wzrostu, ale jest niezdolny do przenoszenia się w roślinie. Uwolnić go można przez łagodną proteolizę. Mechanizmy uwalniania się aktywnych substancji wzrostowych z kompleksów białkowych komórki, jak również przenoszenia się ich ze stożków wzrostu do innych części roślin nie są jeszcze poznane.

Za auksynę związaną uważamy również aldehyd  $\beta$ -indoliloctowy, który jest nieaktywny, dopóki nie zostanie zamieniony w kwas  $\beta$ -indoliloctowy.

Co do kompleksów prekursorów, to pozostają one w ścisłej zależności od prekursorów auksyn i pewnych inhibitorów wzrostu. Kompleksy tego typu występują zazwyczaj w tkankach zapasowych, jak np. w nasionach czy bulwach i odgrywają ogromną rolę w procesie kiełkowania. U większości bowiem roślin zarodek po osiągnięciu pewnej wielkości zapada w stan spoczynku. Zahamowanie kiełkowania zarodka tłumaczy się zazwyczaj właściwościami łupiny nasiennej, która na skutek małej przenikliwości uniemożliwia wymianę gazową: z jednej strony utrudnia dostęp tlenu do zarodka, z drugiej zaś umożliwia nagromadzenie się  $\text{CO}_2$  pod łupiną. Obok tych przyczyn wielu autorów (Evenari i cytowani przez niego Ullman, Vahl i inni 1949) tłumaczy zahamowanie kiełkowania zarodka nagromadzeniem się w okrywkach nasiennych lub miększu owoców pewnych inhibitorów, których obecność powstrzymuje kiełkowanie nasion aż do momentu zniszczenia owocu lub okrywk nasiennych. Inhibitory kiełkowania nie są specyficzne. Tak np. inhibitory obecne w soku pomidorów hamują nie tylko kiełkowanie nasion pomidorów, ale i szeregu innych roślin, jak żyto, jęczmień, kukurydza, słonecznik, marchew, kapusta, sałata i wiele innych. Jeśli chodzi o naturę chemiczną inhibitorów kiełkowania, to należą one do różnych grup związków. Najlepiej poznanymi inhibitorami są: HCN wchodzący w skład amygdaliny, amoniak, etylen, olejki gorczyczne ( $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{N}=\text{C}=\text{S}$  i  $\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{N}=\text{C}=\text{S}$ ), występujące u roślin krzyżowych, kwasy organiczne: jabłkowy, cytrynowy, salicylowy i wiele innych, nienasycone laktony, jak kwas parasorbinowy ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_2$ ), obecny w owocach jarzębiny, anemonina ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_4$ ) u jaskrowatych oraz kumaryna ( $\text{C}_6\text{H}_4\text{OCOCH}=\text{CH}$ ), bardzo powszechnie występująca w świecie roślinnym, a będąca ogromnie aktywnym inhibitorem, aldehydy, olejki eteryczne, alkaloidy.

Jeśli chodzi o białka stanowiące źródło auksyn, to Skoog i Thimann (cyt. Miller 1957) pierwsi stwierdzili, że białka zawierające tryptofan są potencjalnymi źródłami auksyn.

Po zidentyfikowaniu auksyny jako kwasu  $\beta$ -indoliloctowego zaczęto próbować działania związków syntetycznych typu auksyn na wywoływanie różnych efektów fizjologicznych, jak: tworzenie się korzeni, kwitnienie i zawiązywanie się owoców, powstawanie owoców partenokarpicznych, zapobieganie przedwczesnemu opadaniu liści i owoców, opóźnianie kiełkowania nasion i niszczenie chwastów, które to reakcje związane są ze wzrostem. Leopold (cyt. Miller 1957) dzieli te reakcje na 6 grup:

- 1) działanie auksyn na sam wzrost,
- 2) „ „ na tropizmy i ruchy,
- 3) „ „ na zahamowanie rozwoju różnych części roślin,
- 4) udział auksyn w dyferencjacji morfologicznej,
- 5) wpływ auksyn na rozwój kwiatów i owoców,
- 6) regulowanie opadania liści i owoców za pomocą auksyn.

Mechanizm tych zjawisk bywa tłumaczony na drodze fizycznej lub chemicznej. Ponieważ do wywoływania efektów wzrostowych wystarczają bardzo drobne ilości hormonów, wydaje się bardzo prawdopodobne, że wchodzą one w skład enzymów mających znaczenie dla wzrostu. Wzrost zależy między innymi od enzymatycznych reakcji utleniania, a auksyny wpływają prawdopodobnie na te reakcje jako kofermenty działające w połączeniu z jednym lub kilkoma rodzajami białek, odgrywających rolę apofermentu. Skoog, Schneider i Malan (1942) — (cyt. Miller 1957) wyrażają pogląd, że auksyny wchodzą w reakcje molekularną, jak się to dzieje przy enzymach. Według tej teorii auksyna działałaby jak rodzaj koenzymu, który stanowi punkt kontaktu między substratem i enzymem, regulującym wzrost. Przy wyższych koncentracjach auksyn następuje zahamowanie wzrostu, ponieważ poszczególne cząsteczki auksyn łączą się i z enzymem, i z substratem, blokując w ten sposób ich wzajemne połączenie się. Według innych teorii rośliny zawierają substancje kompleksowe, które działają jako receptory auksyn. Stwierdzono np., że w grochu wolny kwas  $\beta$ -indoliloctowy stopniowo zanika, a następnie zostaje odnaleziony we frakcji białkowej (cyt. Miller 1957). Reakcję tą ułatwia ATP.

Inne znów badania (cyt. Miller 1957) wykazały, że jeżeli do środowiska zawierającego auksyny wprowadzić koenzym A, jako system pośredniczący w przenoszeniu grup acylowych w procesach metabolizmu, to następuje zanikanie grup sulfhydrylowych koenzymu A. Prawdopodobnie auksyny tworzą z koenzymem A estry tiolowe (Leopold i Guernsey 1953, Siegel i Galston 1953).

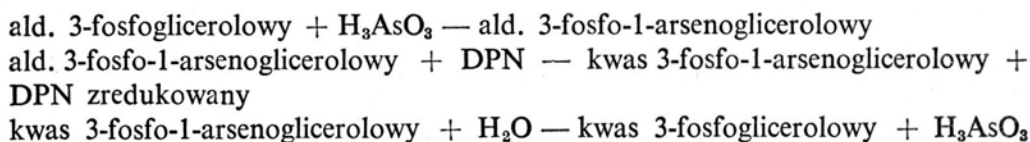
Niektóre teorie zakładają wpływ auksyn na aktywność enzymatyczną, zwłaszcza enzymów oddechowych. Dowodem tego jest fakt, że tkanki roślinne w atmosferze beztlenowej nie reagują na substancje wzrostowe, a inhibitory oddychania, takie jak cyjanki, hamują, jednocześnie działanie tych substancji jako aktywatorów wzrostu. Ta współzależność upoważnia do wniosku, że działanie substancji wzrostowych opiera się na stymulacji oddychania.

Większość podstawowych prac nad biochemią substancji wzrostowych wykonywana była na wycinkach koleoptyli owsa, zanurzanych w roztworach auksyn. Przeprowadzono jednocześnie badania nad metabolizmem tych wycinków. Kiedy skrawki te były traktowane kwasem  $\beta$ -indoliloctowym w stężeniach 1—10 mg/l (optimalnym dla wzrostu) intensywność ich oddychania wzrastała o 10—35%.

Analiza współzależności oddychania i wzrostu jest możliwa przy zastosowaniu pewnych inhibitorów, które nie wywierają wpływu na samo oddychanie. Takim inhibitorem jest kwas jodoctowy i jego pochodne, posiadające własność inaktywacji enzymów zawierających grupę sulfhylową. Dzięki zastosowaniu kwasu jodoctowego możliwe jest osiągnięcie zahamowania wzrostu przez inaktywację kwasu  $\beta$ -indoliloctowego, przy jednoczesnym bardzo małym obniżeniu się intensywności oddychania koleoptyli owsa. Być może, że substancje wzrostowe stanowią ochronę dla enzymów, zawierających grupy sulfhydrylowe, bardziej wrażliwych na inhibitory niż enzymy oddechowe.

Innym typem inhibitora stosowanego w tych badaniach jest kwas arsenowy, który hamuje zarówno wzrost, jak i intensywność oddychania, stymulowanego

przez kwas  $\beta$ -indoliloctowy, ale nie działa na inne procesy u koleoptyli owsa. Kwas arsenowy jest zdolny do zastępowania nieorganicznego fosforanu w systemach utleniających. Kwas arsenowy może być podstawiony na miejsce kwasu fosforowego w utlenianiu triofo-fosforanu z wytworzeniem 3-fosfo-1-arsenoaldehydu glicerolowego. Związek ten jest bardzo nietrwały, jest on od razu utleniany na kwas 3-fosfo-1-arseno-glicerolowy, a następnie podlega hydrolizie do kwasu arsenowego i kwasu 3-fosfo-glicerolowego:



Wpływ toksycznego działania kwasu arsenowego na system dehydrogenaz utleniających triofo-fosforany polega na tym, że utlenianie następuje bez jednoczesnego wykorzystania bogatych w energię wiązań kwasu fosforowego (Loomis i Lipman) (cyt. Bonner 1950) wykazali podobne działanie 2, 4-dwunitrofenolu; prowadzi ono do utleniania bez wykorzystania bogatych w energię wiązań kwasu fosforowego z ATP. Te więc związki są silnymi inhibitorami substancji wzrostowych. Że istotnie działanie kwasu arsenowego wiąże się z metabolizmem ATP w koleoptylach owsa wskazuje fakt, że spowodowane przez kwas arsenowy zahamowanie działania substancji wzrostowych może być usunięte przez dodanie fosforanów do badanych tkanek. Wpływ kwasu arsenowego na inaktywację substancji wzrostowych zależy od konkurencyjnego działania ilości wprowadzonych do tkanek arsenianów i fosforanów. Te obserwacje nasuwają przypuszczenie, że w tkankach roślinnych istnieje współzależność pomiędzy metabolizmem substancji wzrostowych a możliwością wykorzystania w procesie oddychania bogatych w energię wiązań kwasu fosforowego.

Obok auksyn istnieje szereg związków, które choć same nie są stymulatorami wzrostu, to jednak współdziałają synergetycznie z auksynami. Synergetyki te w niskich stężeniach stymulują wzrost, w wysokich zaś hamują go.

Jedną z najlepiej poznanych substancji działających synergetycznie z auksynami jest kwas 2, 3, 5-trójjodobenzoesowy (TIBA). Związek ten w stężeniach 0,01—0,1 mg/l stymuluje w obecności auksyn wzrost koleoptyli owsa. W koncentracjach 10—100 mg/l TIBA zmniejsza efekt działania auksyn, a w wyższych niweczy go zupełnie. Poza kwasem trójjodobenzoesowym wykazano również synergetyczne działanie niektórych nienasyconych laktonów (kumaryny i protoanemoniny), indolu, kwasu chelidonowego, szeregu witaminów, jak: kwas askorbinowy, niacyna, kwas pantotenowy, kwas p-aminobenzoesowy i pirydoksyna oraz niektórych antybiotyków, jak bacitracyna. Jak widać, synergetyki auksyn należą do bardzo różnych grup chemicznych, a mechanizm ich działania nie jest jeszcze poznany. Być może, że związki te, jak przypuszcza Gorter (1958) w odniesieniu do indolu, hamują hydrolizę enzymatyczną auksyn lub też osłabiają ich działanie przez adsorpcję auksyn w miejscach położonych daleko od centrum ich działania. Jest również

bardzo prawdopodobne, że związki synergetyczne ułatwiają wnikanie auksyn do tkanek. Istnieje także sugestia, że niektóre z nich działają konkurencyjnie w stosunku do grup sulfhydrylowych.

Obok związków współdziałających synergetycznie z auksynami znana jest również grupa substancji zwanych antyauksynami, które hamują działanie stymulatorów wzrostu.

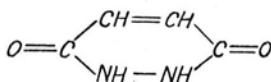
Pomimo że antyauksyny naturalne nie zostały jeszcze zidentyfikowane pod względem chemicznym, to jednak znamy już dziś szereg związków syntetycznych, które hamują działanie auksyn. Nazwa antyauksyny obejmuje związki, które konkurują z auksynami w pewnych specyficznych procesach biochemicznych, odbywających się w aktywnych centrach-rosnącej komórki roślinnej. Stopień zahamowania aktywności auksyny przez antyauksynę zależy od równowagi ilościowej między tymi substancjami, współzawodniczącymi ze sobą o aktywne centra wzrostu, zupełnie podobnie, jak się to dzieje przy tak zwanym zahamowaniu przez współzawodnictwo reakcji enzymatycznych przez swoiste inhibitory enzymów. Inhibitory te wchodzi w reakcję tylko z tym ugrupowaniem atomowym cząsteczki enzymu, które stanowi grupę czynną enzymu lub też z innym ugrupowaniem atomowym cząsteczki, którego niezmienną strukturą jest niezbędna dla utrzymania katalitycznej zdolności grupy czynnej. W przypadku działania tych inhibitorów możemy spotkać się z dwoma rodzajami mechanizmu hamującego działanie enzymu: albo inhibitor hamuje aktywność enzymu, współzawodnicząc z substratem o grupę czynną enzymu, blokując tę grupę i nie dopuszczając do reakcji między enzymem i substratem (zahamowanie przez współzawodnictwo), albo też inhibitor, pozostawiając niekniętą grupę czynną enzymu, wchodzi w reakcję z innym ugrupowaniem atomowym cząsteczki enzymu, niezbędnym do zapewnienia procesu katalizy enzymatycznej. Wówczas powstaje połączenie między enzymem a substratem, ale połączenie to nie ulega dalszym przemianom, które zachodziłyby w nieobecności inhibitora (zahamowanie bez współzawodnictwa).

Podobnie można uzyskać zahamowanie wzrostu różnych bakterii przez zastosowanie sulfanilamidu jako antymetabolitu, a następnie przywrócić im normalny wzrost przez wprowadzenie do środowiska metabolitu podstawowego, mianowicie kwasu para-amino-benzoowego. Podobnie dodanie auksyny znosi hamujące działanie antyauksyny u roślin wyższych.

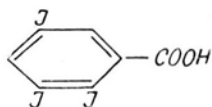
Hamujące działanie antyauksyn przez współzawodnictwo jest najczęściej wynikiem podobieństwa strukturalnego między antyauksynami i stymulatorami wzrostu. Z podobieństwa tego wynika wspólne powinowactwo do tego samego ugrupowania atomowego w cząsteczce centrum wzrostu komórki.

Okazało się, że istotnie w pewnych warunkach wzrost wycinków koleoptyli owsa jest zależny od stosunku ilościowego auksyn do antyauksyn, zawartych w podłożu. Zależność ta jest ściśle matematyczna, podobnie jak to zostało ustalone dla hamowania przez współzawodnictwo prostych systemów enzymatycznych (McRae, Bonner 1953).

Klasycznym przykładem metabolicznego antagonisty auksyn jest hydrazyd maleinowy (LV) (Aberg 1953); związek ten działa hamująco na szereg procesów fizjologicznych, jak pobieranie wody przez roślinę, kwitnienie, zapadanie w stan spoczynku, ale nie jest to hamowanie poprzez obniżenie poziomu wolnych auksyn w roślinie (Audus i Fresh 1956a, b).



LV



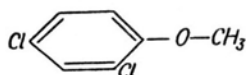
LVI

Innego typu antyauksynę stanowi kwas 2, 3, 5-trójchlorobenzoesowy (LVI), który obniża znacznie poziom auksyn w roślinie i prawdopodobnie na tej właśnie drodze wywiera działanie hamujące. Podobne zmniejszanie się zawartości auksyn zachodzi w kłączach ziemniaczanych pod wpływem etylenu (Michene 1942). Zahamowanie wzrostu może nastąpić także i pod wpływem zablokowania transportu auksyn w roślinie (Niedergang-Kamien i Skoog 1956).

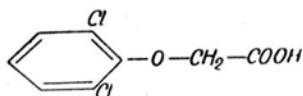
Charakterystyka antyauksyn jest niezmiernie trudna, ale ogólnie można by o nich powiedzieć, że wywołują efekty fizjologiczne zupełnie inne niż auksyny.

McRae i Bonner (1954) wyróżniają 4 grupy antyauksyn:

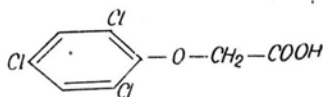
1. Związki zawierające w pierścieniu co najmniej jedną pozycję orto, wolną i pozbawioną grupy karboksylowej na końcu łańcucha bocznego, jak np. 2, 4-dwuchloroanisol (LVII).



LVII



LVIII



LIX

2. Związki zawierające obie pozycje, orto zablokowane, jak np. kwasy: 2, 6-dwuchlorofenoksyoctowy (LVIII) i 2, 4, 6-trójchlorofenoksyoctowy (LIX).

3. Związki, u których struktura i konfiguracja łańcucha bocznego jest taka, że uniemożliwia kontakt substancji z aktywnym centrum wzrostu w komórce w dwu punktach, jak to zakłada «teoria 2 punktów kontaktu» (McRae i Bonner 1954). Do tej kategorii związków należą np. homologi kwasu izomasłowego, jak kwas 4-chloro-fenoksy-izo-masłowy lub nieaktywne stereoisomery kwasów propionowych, jak kwas  $\alpha$ -(1-naftylo-metylo-sulfito) propionowy (NMSP) (LX).

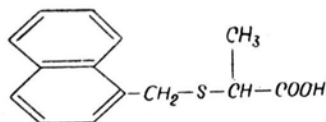


4. Słabe auksyny, jak np. kwas fenoksyoctowy (LXI) lub kwas  $\gamma$ -fenylomasłowy, 3-nitro-fluoro-benzoesowy (LXII), czy kwas 2, 3, 5-trójjodobenzoesowy.

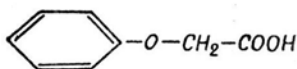
Czynnikiem utrudniającym niezmiernie klasyfikację antyauksyn jest fakt, że efekty wzrostowe tych związków są zupełnie inne dla korzeni niż dla łodyg.

Ogólnie bowiem powiedzieć można, że o ile stymulacja wzrostu łodyg przez związki typu auksyn jest już do pewnego stopnia wyjaśniona, o tyle rola tych substancji w pobudzaniu wzrostu korzeni jest jeszcze zupełnie nie zbadana.

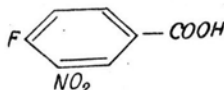
Charakterystyczne jest również, że stężenie auksyn, które stymulują wzrost łodyg, w stosunku do korzeni wykazują działanie hamujące, którego nie można usunąć nawet działaniem tak silnej antyauksyny, jak kwas NMSP. Z drugiej strony bardzo niskie ( $10^{-11}$ ) stężenia, które stymulują wzrost korzeni, nie działają zupełnie na wzrost łodyg. Wobec tych faktów niektórzy autorzy (Hansen 1954) proponują dzielić substancje wzrostowe na auksyny łodyg i auksyny korzeni. Nie jest też wykluczone, że auksyny korzeni są antagonistami auksyn łodyg.



LX



LXI



LXII

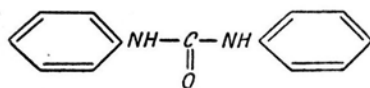
Jak widać z powyższego przeglądu, pomimo że zagadnienie zależności pomiędzy strukturą chemiczną i aktywnością fizjologiczną stymulatorów wzrostu z grupy auksyn zostało już w pewnej mierze wyjaśnione, a na podstawie olbrzymiej wprost ilości materiału doświadczalnego udało się opracować niektóre schematy, ilustrujące te zależności, to jednak ogromna liczba wyjątków od proponowanych przez różnych autorów reguł świadczy o tym, jak jeszcze dalecy jesteśmy od całkowitego wyjaśnienia tego zagadnienia.

O ile jednak mechanizm wzrostu wydłużeniowego i rola auksyn w tym procesie zostały już do pewnego stopnia wyjaśnione, o tyle problem wzrostu embrionalnego, opartego na podziałach komórkowych jest jeszcze prawie zupełnie nie zbadany.

Charakterystyczne jest, że w chwili obecnej poświęca się więcej uwagi raczej naturalnym stymulatorom wzrostu, występującym w roślinach, niż związkowi syntetycznemu tego typu. Poszukiwanie substancji wzrostowych w wyciągach roślinnych ujawniło występowanie ogromnej różnorodności tych związków w endospermie nasion, a badania przeprowadzane na wyizolowanych zarodkach z młodych nasion różnych roślin hodowanych sterylnie na podłożach syntetycznych, z dodatkiem wszystkich znanych składników biosu wykazały, że witaminy grupy B nie są jedynymi, jak dawniej sądzono, czynnikami niezbędnymi dla wzrostu i rozwoju, gdyż oprócz nich zarodkowi potrzebne są jeszcze inne, nie znane związki, które czerpie on z endospermu nasion. Bogatym źródłem takich substancji okazał się płynny endosperm orzecha kokosowego, zwany mlekiem kokosowym. Bardzo drobne

ilości tego «mleka» mogą pobudzić znacznie wzrost tkanki sitowej korzeni marchwi, hodowanej *in vitro*. Charakterystyczne jest, że substancje zawarte w mleku kokosowym w przeciwieństwie do auksyn stymulują nie rozrost komórek, ale ich podziały (Steward i Caplin 1954a), co wskazuje na to, że mleko kokosowe zawiera inne stymulatory wzrostu niż auksyny. Działanie ich jednak związane jest ściśle z działaniem auksyn, gdyż, jak to wykazano na tkankach ziemniaka, podziały komórkowe nie zachodzą w obecności samego mleka kokosowego, ale dopiero po dodaniu śladów auksyn syntetycznych, jak np. 2, 4 D (Steward i Caplin 1951). Wyniki te skierowały uwagę badaczy i na inne źródła stymulatorów podziałów komórkowych, a mianowicie endosperm niedojrzałych zbóż (Steward i Caplin 1954b, Gautheret 1955) i kasztanów (Schantz i Steward 1956). W toku dalszych prac podjęto szereg prób wyizolowania i zidentyfikowania tych substancji. Schantz i Steward (1952) wyekstrahowali 2500 litrów mleka kokosowego, które rozfrakcjonowali na kolumnach z celulozy i z syntetycznych żywic, otrzymując w ten sposób szereg aktywnych frakcji, które podzielili na dwie grupy. Do pierwszej należały stymulatory wzrostu o nieznannej jeszcze budowie chemicznej, do drugiej pewne kwasy aminowe, które wydawały się współdziałać z grupą pierwszą. W wyniku dalszych badań przy zastosowaniu metody hodowli tkanek *in vitro* udało się scharakteryzować niektóre z tych związków. (Steward i Schantz 1956). Cztery z nich zawierały azot, przy czym jeden został zidentyfikowany jako 1, 2-dwufenylo-mocznik (LXIII).

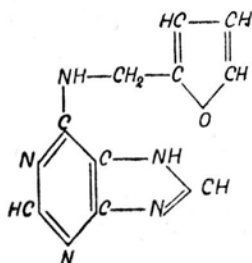
Ze związków nie zawierających azotu wykryto grupę leukoantocjanin, które jednak nie zostały dotychczas bliżej zidentyfikowane.



LXIII

Jeśli chodzi o inne stymulatory podziałów komórkowych, spotykane również w materiale roślinnym, to ostatnio coraz więcej uwagi poświęca się roli kwasów nukleinowych w procesach wzrostu i rozwoju. Niektórzy autorzy (Skoog, Miller 1955) uważają, że auksyny są stymulatorami syntezy kwasów nukleinowych w komórkach roślinnych. W latach 1954—56 ukazały się prace Skooga (1955), których przedmiotem badań jest współzależność między działaniem auksyn oraz niektórych składników kwasów nukleinowych: zasad purynowych i pirymidynowych. Badania Skooga wykazały szczególnie wyraźne współdziałanie między kwasem  $\beta$ -indoliloctowym i adeniną. Autor ten stwierdził na wycinkach łodygi tytoniu, hodowanych *in vitro*, że adenina pobudza, a kwas  $\beta$ -indoliloctowy hamuje powstawanie pąków u tej rośliny, a dopiero określony stosunek między stężeniami adeniny i auksyny jest czynnikiem decydującym o ich powstawaniu. W oparciu o te dane Skoog i jego współpracownicy zaczęli poszukiwać w tkankach rdzenia tytoniu hodowanych *in vitro* jakichś substancji mogących stanowić produkty reakcji

między adeniną i kwasem  $\beta$ -indoliloctowym. W wyniku tych badań ustalono, że w wyciągach z tkanek naczyniowych łądygi tytoniu i w słodzie występują bardzo aktywne stymulatory podziałów komórkowych charakteru nukleinowego. Ponieważ wykazywały one własności podobne do puryn, przeto podjęto próby wyizolowania ich z kwasów dezoksyrybonuleinowych grasicy cielęcej oraz spermy śledzia. Autoklawując stare preparaty KDN grasicy i spermy w temperaturze  $120^{\circ}\text{C}$  przy  $\text{pH } 5$ , w toku częściowego rozpadu KDN udało się uzyskać substancję czynną w pobudzaniu cytokinezy oraz ustalić jej wzór strukturalny (LXIV).



LXIV Kinetyna

Związek ten, będący pochodną adeniny, a mianowicie 6-furfurylometyloamino-puryną otrzymał nazwę kinetyny. Miller i Skoog (1955) wyrażają przypuszczenie, że kinetyna powstaje w tkankach roślinnych z adeniny i kwasu lewulinowego. W dalszych badaniach okazało się, że i pochodne adeniny z innymi ugrupowaniami niż furfurylowe, jak np. benzylo-fenilo-aminopuryny (Skinner, Schive 1955) odznaczają się również dużą aktywnością fizjologiczną.

Najbardziej charakterystyczną cechą biologicznego działania kinetyny jest wywoływanie cytokinezy. Naylor, Sander i Skoog (1954) wykazali, że w wycinkach rdzenia łądygi tytoniu hodowanych *in vitro* na pożywce mineralnej, zestawionej agarom, zawierającej auksynę, zachodzi intensywne zwiększanie się rozmiarów komórek, w których następuje jednocześnie szereg podziałów mitotycznych. Mitozom tym jednak nie towarzyszy cytokineza z zakładaniem się błon komórkowych, co prowadzi do powstawania komórek wielojądrowych. Jeżeli do środowiska dodać kinetyny, wówczas zaczyna przebiegać normalna cytokineza. Współdziałanie kinetyny i kwasu  $\beta$ -indoliloctowego zostało potwierdzone także wynikami obserwacji nad wzrostem i dyferencjacją tkanek mchów, hodowanych *in vitro* (Eakin i Gordon cyt. przez Skooga 1957, Skinner i Shive 1955) oraz rozgałęzianiem się plech wątrobowców (Dmochowski, Maciejewska-Potapczykowa, Sempicka 1957).

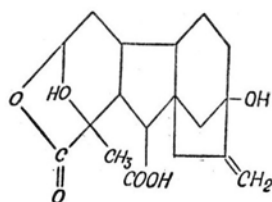
Charakterystyczne jest, że niskie stężenia kinetyny, szczególnie w połączeniu z auksyną lub niektórymi aminokwasami, decydują o powstawaniu nowych organów. Na przykład kinetyna w połączeniu z tyrozyną decyduje o powstawaniu korzeni, stanowiąc jakby rizokallinę (Howell i Skoog 1955). Niższe natomiast stężenia kinetyny hamują powstawanie korzeni (Danckwardt-Lillieström 1957, de Ropp 1956).

Hamujące działanie kinetyny i innych pochodnych adeniny zostało również stwierdzone na materiale zwierzęcym. Ham, Eakin i Skinner (1955), badając przebieg procesu regeneracji odciętych ramion hydry pod wpływem szeregu fenylalkilowych pochodnych adeniny stwierdzili, że związki te w miarę zwiększania się liczby atomów węgla w łańcuchu bocznym, wykazują coraz silniejsze działanie hamujące na podziały komórkowe u hydry. Wyniki te zachęciły szereg badaczy do podjęcia prób zahamowania podziałów komórek nowotworowych za pomocą tych związków (Lettré, Endo 1956, Hampton, Biesele, Moore 1956).

Dla wszystkich związków o działaniu podobnym do kinetyny, to znaczy będących stymulatorami podziałów komórkowych zaproponował Skoog nazwę «kinin». Pod nazwą kinin można by chyba podciągnąć również i witaminy grupy B, o których od dawna wiadomo, że są one bardzo ważnymi czynnikami podziałów komórkowych zarówno dla mikroorganizmów, jak i dla roślin wyższych i zwierząt.

Jeśli jednak chodzi o mechanizm działania stymulatorów podziałów komórkowych w zależności od ich struktury chemicznej, to zagadnienie to jest jeszcze zupełnie niewyjaśnione. Podstawową trudność ustalenia takich zależności stanowi ogromna różnorodność chemiczna stymulatorów cytokinezy. Za jedną z nielicznych prób zaatakowania tego problemu można uważać pracę Kuraishi z Uniwersytetu w Tokio, dotyczącą wpływu analogów kinetyny na wzrost liści. Niestety, praca ta, sygnalizowana tylko w «Biological Abstracts» (1960) jest, jak dotąd, zupełnie niedostępna.

Podobne trudności przedstawia również wyjaśnienie mechanizmu działania giberelin w zależności od ich budowy chemicznej. Pewne związki tej grupy zostały wyizolowane i zidentyfikowane, a także ustalono niektóre ich własności fizykochemiczne. Mimo to jednak dalecy jeszcze jesteśmy od poznania mechanizmu ich działania. Struktura bowiem tych związków nie przypomina struktury opisanych dotąd produktów naturalnych, ani nie jest zbliżona do auksyn. Badania nad chemią giberelin są w toku; z uwagi jednak na wielką złożoność ich struktury, możliwość istnienia wielu izomerów i trudności izolowania oraz identyfikacji, prace te napotykają wiele trudności. Wiele giberelin stanowi mieszaninę kilku związków podobnych, a dotychczas udało się wyizolować w stanie czystym tylko cztery z nich, a mianowicie: gibereliny A — ( $C_{22}H_{26}O_3$ ), giberelinę B — ( $C_{20}H_{22}O_3$ ) i C — ( $C_{19}H_{24}O_6$ ) i kwas giberelinowy o wzorze  $C_{19}H_{22}O_6$ . Wszystkie te związki mają bardzo podobną budowę, a najlepiej z nich został scharakteryzowany kwas giberelinowy, jako kwas tetracykliczny dwuhydroksylaktonowy o wzorze (Cross i wsp. 1956) podanym na schemacie LXV.



LXV Kwas giberelinowy

Nie udało się jeszcze opracować prostych testów chemicznych dla wykrywania tych substancji i dlatego w badaniach nad giberelinami musimy ograniczać się do testów biologicznych. Roślinami szczególnie wrażliwymi na działanie tych związków okazały się karłowate odmiany fasoli i kukurydzy. Badacze brytyjscy pod kierunkiem Briana (1957) stwierdzili, że potraktowanie gibereliną pierwszej pary liści fasoli karłowatej powoduje silny wzrost łodyg tej rośliny. Wzrost ten jest proporcjonalny do logarytmu dawki gibereliny, zastosowanej w doświadczeniu. Neely i Phinney (1957) pracując na karłowatych mutantach kukurydzy stwierdzili również, że bardzo małe ilości gibereliny użyte do zwilżenia pierwszych liści młodych siewek przyspieszały znacznie wzrost pochewek liściowych. Wzrost ten okazał się również proporcjonalny do logarytmu dawki stymulatora w zakresie stężeń od  $10^{-3}$  do 10 mg na roślinę.

Prawdopodobnie gibereliny są bardzo rozpowszechnione w świecie roślinnym. MacMilanowi i Suterowi (1958) udało się wypreparować z niedojrzałych nasion *Phaseolus multiflorus* krystaliczną giberelinę  $A_1$ . West i Phinney (1956) stwierdzili, że wyciągi eterowe młodych nasion grochu, fasoli, łubinu i tytoniu odznaczają się podobną do giberelin aktywnością biologiczną, gdyż stymulują wzrost tych samych karłowatych mutantów kukurydzy. Substancje giberelinopodobne zostały wykryte w nasionach (Radley 1958, West i Phinney 1956) oraz w liścieniach i pierwszych liściach (Wheeler 1960) fasoli karłowatej.

Fakt, że reakcje roślin na różne gibereliny są różne, wskazuje na prawdopodobieństwo istnienia bardzo wielu związków tego typu. Phinney (1956), badając działanie szeregu wyizolowanych przez siebie giberelin na różne karłowate mutanty kukurydzy, stwierdził, że niektóre z badanych związków giberelinopodobnych stanowią produkty pośrednie biosyntezy kwasu giberelinowego.

Pomimo że badania nad chemią giberelin prowadzone są bardzo intensywnie, to jednak nie udało się dotychczas otrzymać tych związków na drodze syntezy. Dlatego wciąż jeszcze musimy posługiwać się giberelinami stanowiącymi produkty metabolicznych przemian grzybka *Gibberella fujikuroi*, a wyjaśnienie mechanizmu działania tych substancji w zależności od ich struktury chemicznej wydaje się kwestią dalekiej przyszłości.

Reasumując powyższe wywody powiedzieć można, że ustalenie zależności pomiędzy strukturą chemiczną i aktywnością biologiczną hormonów roślinnych jest niezmiernie trudne, a dalsze osiągnięcia w tej ważnej dziedzinie związane są z jednej strony z doskonaleniem się metod wyodrębniania, oczyszczania i identyfikowania stymulatorów wzrostu, z drugiej zaś z rozwojem techniki hodowli tkanek roślinnych.

*Zakład Fizjologii Roślin Uniwersytetu Łódzkiego*

#### LITERATURA

1. Aberg B., 1953. On the interaction of 2, 3, 5-triiodobenzoic acid and maleic hydrazide with auxins. *Physiol Plant.*, 6, 277—291.
2. Audus L. J., 1959. *Plant Growth Substances*, London, Leonard Hill, 49—87, 367—383.

3. Audus L. J., Thresh R., 1956a. The effects of synthetic growth-regulator treatments on the level of free endogenous growth substances in plants. *Ann. Bot. N. S.*, 20, Nr 79, 439—459.
4. Audus L. J., Thresh R., 1956b. The effects of synthetic growth substances on the level of endogenous auxins in plants. W: *The chemistry and mode of action of plant growth substances* (Wain i Wightman-wyd.). London, Butterworths, 248—252.
5. Bennet-Clark T. A., 1956. Salt accumulation and mode of action of auxins. A preliminary hypothesis. W: *The chemistry and mode of action of plant growth substances* (Wain i Wightman-wyd.) London, Butterworths, 284—291.
6. Bennet-Clark T. A., Tambiach M. S., Kefford N. P., 1952. Estimation of plant growth substances by partition chromatography. *Nature* (London), 169, 452—453.
7. Bentley J. A., 1950. Growth-regulating effect of certain organic compounds. *Nature* (London), 165, 449.
8. Bentley J. A., Housley S., 1952. Studies on plant growth hormones. I: Biological activities of 3-indolylacetaldehyde and 3-indolylacetonitrile. *J. exp. Bot.*, 3, 393—405.
9. Bonner J., 1932. The production of growth substance by *Rhizopus suinus*. *Biol. Zbl.*, 52, 565—582.
10. Bonner J., 1950. *Plant Biochemistry*, N. York, 299—318, 319—327.
11. Bonner J., 1957. Chemical kinetics of growth. *The Australian Journal Of Science*, Nr. 4, 127—133.
12. Brian P. W., 1957. Symposia of the society for experimental biology, nr XI, *The biological action of growth substances*, Cambridge, 175.
13. Brown J. B., Henbest H. B., Jones E., 1950. Studies on compounds related to auxin-a and auxin-bIII: The preparation and properties of the cyclopentyl analogue of auxin-b lactone. *J. Chem. Soc.*, Nr 718, 3634—41.
14. Burström H., Sjöberg B., Hansen B., 1956. The plant growth activity of phenoxythioacetic acids. *Acta Agric. Scand.*, 6, 155—177.
15. Cartwright P. M., Sykes T. J., Wain R. L., 1956. The distribution of natural hormones in germinating seeds and seedling plants. W: *The chemistry and mode of action of plant growth substances* (Wain i Wightman-wyd.) London, Butterworths, 32—39.
16. Cross B. E., Grove J. F., MacMillan, Mulholland T. P. C., 1956. Gibberellic acid IV: The structures of gibberic and alloogibberic acids and possible structures for gibberellic acid. *Chem. and Ind. Rev.*, 954—955.
17. Danckwardt-Lillieström c., 1957. Kinetin induced shoot formation from isolated roots of *Isatis tinctoria*. *Physiol. Plantarum*, 10, 794.
18. Denffer D., Fisher A., 1952. Papierchromatographischer Nachweis des  $\beta$ -indolaldehyds in photolytische Zersetzer IES-Lösung. *Naturwissenschaften*, 23, 549—550.
19. Dmochowski A., Maciejewska-Potapczykowa W., Sempłowska E., 1957. Działanie kinetyny wyizolowanej z kwasu dezoksyrybonukleinowego (z grasicy) na tkanki roślinne. I. *Acta Soc. Bot. Pol.* 26(2), 361—371.
20. Evenari M., 1949. Germination inhibitors. *Bot. Rev.* 15, 153—194.
21. Bawcett C. H., Wain R. L., Wightman F., 1955. Studies on plant growth substances regulating VIII: The growth-promoting activity of certain aryloxy- and arylthio-alkane-carboxylic acids. *Ann. Appl. Biol.*, 43, 342—354.
22. Fawcett C. H., Taylor H. F., Wain R. L., Wightman F., 1956. The degradation of certain phenoxy acids, amides and nitriles within plant tissue. W: *The chemistry and mode of action of plant growth substances*, London, Butterworths, 187—194.
23. Fieser L. F., Fieser M., 1958. Warszawa, PWN, 599—602.
24. Fischer A., 1954. Über die papierchromatographische und papierelektrophoretische Trennung von Indolderivativen, *Planta*, 43, 288—314.
25. Boster R. J., McRae D. H., Bonner J., 1952. Auxin-induced growth inhibition a natural consequence of two-point attachment. *Proc. Nat. Acad. Sci. Wash.*, 38, 1014—1022.
26. Gautheret R. J., 1955. The nutrition of plant tissue cultures. *Ann. Rev. Pl. Physiol.*, 6, 433—484.

27. Gordon S. A., 1953. Physiology of hormone action, Rozdz. 13, Growth and differentiation in plants (W. E. Loomis-wyd.). Iowa State Coll. Press.
28. Gordon S. A., 1954. Occurrence, formation and inactivation of auxins. Ann. Rev. Pl. Physiol. 5, 341.
29. Gordon S. A., 1956. The biogenesis of natural auxins. W: The chemistry and mode of action of plant growth substances (Wain i Wightman-wyd.) London, Butterworths, 65—675.
30. Gordon S. A., Sanchez-Nieva F., 1949. The biosynthesis of auxin in the vegetative pineapple I: Nature of active auxin. II: The precursors of indoleacetic acid. Arch. Biochem., 20, 256—266 i 267—285.
31. Gorter C. J., 1958. Synergism of indole and indole-3-acetic acid in root production of Phaseolus cuttings. Physiol. Plantarum. 11, 1.
32. Grace N. H., 1939. Physiological activity of a series of naphthyl acids. Canad. J. Res., C. 17, 247—255.
33. Guttenberg H., 1942. Über die Bildung und Aktivierung des Wuchsstoffes in den höheren Pflanzen Naturwissenschaften, 30, 109—12.
34. Guttenberg H., 1951. Wuchsstoffstudien. Ber. dtsh. bot. Ges., 64, (1)—(3).
35. Guttenberg H., Nehring G., Blanke L., 1954. Papierchromatographische Untersuchung und Molekulargewichtebestimmung des sauresten Wuchsstoffes. Naturwissenschaften, 14, 334—335.
36. Haagen-Smit A. J., Went F. W., 1935. A physiological analysis of the growth substance. Proc. Kon. Nederl. Akad. Wetensch. Amsterdam, 38, 852—857.
37. Ham R. J., Eakin R. E., Skinner Ch. G., 1956. Inhibition of regeneration in Hydra by certain new 6(phenylalkyl)-aminopurines. J. Amer. Chem. Soc., 78, Nr 11, 2648.
38. Hampton A., Biesele J., Moore A., Brown G., 1956. 6-furfurylamino-3-D-Ribofusanosylpurine synthesis and differential toxicity to mammalian cells in vitro. J. Amer. Chem. Soc., 78, 5695.
39. Hansch C., Muir R. M., 1950. The orto-effect in plant growth-regulators. Plant Physiol., 25, 389—393.
40. Hansen B. A. M., 1954. The physiological classification of „shoot auxins“ and „root auxins“ I, II: Bot. Notiser, 3, 230—268 i 318—325.
41. Heath O. V. S., Clark J. E., 1956. Chelating agents as plant growth substances. A possible clue to the mode of action of auxin. Nature (London) 177, 1118—1121.
42. Howell R. W., Skoog F., 1955. Effect of adenine and other substances on growth of excised Pisum epicotyls cultured in vitro. Amer. J. Bot. 42, 356—360.
43. Irvine V. C., 1938. Studies in growth-promoting substances as related to X-radiation and photoperiodism. Univ. Colo. Stud., 26, 69—70.
44. Jones R. L., Metcalf T. P., Sexton W. A., 1949. The relationship between the constitution and effect of chemical compounds on plant growth. 1, 2-phenoxy-ethylamine derivatives. Biochem. J., 45, 143—149.
45. Jones E. R. H., Henbest H. B., Smith G. F., Bentley J. A., 1952. 3-indolylacetonitrile, a naturally occurring plant growth hormone. Nature (London), 169, 485.
46. Kaper J. M., 1957. On the breakdown of tryptophan by *Agrobacterium tumefaciens*. Teza doktorska.
47. Kefford N. P., 1955. The growth substances separated from plant extracts by chromatography. J. Exp. Bot., 6, 129—151.
48. Kerk G. J. M., Raalte M. H., Slijpstejn A. K., Veen R., 1955. A new type of plant growth-regulating substances. Nature (London), 176, 308—310.
49. Koepfli J. B., Thimann K. V., Went F. W., 1938. Phytohormones: Structure and physiological activity I. J. Biol. Chem., 122, 763—780.
50. Kögl F., Haagen-Smit A. J., Ersleben H., 1934. Über ein neues Auxin (Hetero-auxin) aus Harn. Hoppe-Seyl. Z., 228, 90—103.
51. Kögl F., 1937. Wirkstoffprinzip und Pflanzenwachstum. Naturwissenschaften, 25, 465.
52. Kögl F., de Bruin O. A., 1950. Syntheses dans le domaine des auxines. II: Simples analogue de l'auxin-b. Rec. Tran. Chim. Pays-Bas, 69, 729—752.
53. Kuraishi S., 1960. Effect of kinetin analogs on leaf growth. Biol. Abstracts nr 5, 4781.
54. Larsen P., 1944. 3-indoleacetaldehyde as a growth hormone in higher plants. Dansk. Bot. Ark, 11, 11—132.

55. Larsen P., 1949. Conversion of indole acetaldehyde to indoleacetic acid in excised coleoptiles and in coleoptile juice. *Amer. J. Bot.*, 3632.
56. Larsen P., 1951. Enzymatic conversion of indole acetaldehyde and naphthalene acetaldehyde to auxins. *Plant Physiol.*, 26, 697—707.
57. Larsen P., 1955. Growth substances in higher plants. W: modern methods of plant analysis (Peach K., Tracey M. wyd.) Springer Verlag, vol. III, 565—625.
58. Leopold A. C., Guernsey F. S., 1953. A theory of auxin action involving coenzyme A. *Proc. Nat. Acad. Sci. Wash.*, 39, 1105.
59. Lettr H., Endo H., 1956. Zur Wirkung von Kinetin und analogen auf tierischen Zellen. *Naturwissenschaften*, 43, 85.
60. Linser H., 1951. Versuche zur chromatographischen Trennung pflanzlicher Wuchsstoffe, *Planta*, 39, 377—401.
61. Linser H., Maschek F., 1953. Kolorimetrische und Biologische Bestimmung sowie Chromatographische Trennung von Wuchsstoffen aus Pflanzen, *Planta*, 41, 567—588.
62. Linser H., Mayr H., Maschek F., 1954. Papierchromatographie von Zellsteckend wirksamen Indolkörpern aus Brassica-arten, *Planta*, 44, 103—120.
63. Luckwill L. C., 1952. Application of paper chromatography to the separation and identification of auxins and growth-inhibitors, *Nature (London)* 169, 375.
64. Luckwill L. C., Powell I. E., 1956. Absence of indoleacetic acid in the apple. *Science*, 123, 225—226.
65. MacMillan T., Suter P., 1958. The occurrence of gibberellin A<sub>1</sub> in higher plants. Isolation from the seed of runner bean (*Phaseolus multiflorus*) *Naturwissenschaften*, 45, 46.
66. Mc Rae D. H., Bonner J., 1953. Chemical structure and antiauxin activity. *Physiol. Plantarum*, 6, 485.
67. Michener H. D., 1942. Dormancy and apical dominance in potato tubers. *Amer. J. Bot.*, 29, 558—568.
68. Miller C. O., Skoog F., Okumura F. S., von Saltza M. H., Strong F. M., 1955. Structure and synthesis of kinetin. *J. Amer. Chem. Soc.*, 77, 2662.
69. Miller E. V., 1957. The chemistry of plants. N. York. London. rozdz. Plant hormones, 94—109.
70. Muir R. M., Hansch C., Gallup A. H., 1949. Growth regulation by organic compounds. *Plant Physiol.*, 24, 359—366.
71. Naylor J., Sander G., Skoog F., 1954. Mitosis and cell enlargement without cell division in excised tobacco with tissue. *Physiol. Plantarum*, 7, 25.
72. Neely P. M., Phinney B. O., 1957. The use of mutant dwarf-1 of maize as a quantitative bioassay for gibberellin activity. *Plant Physiol.*, 32, XXXI (Suppl.).
73. Niedergang-Kamien E., Skoog F., 1956. Studies on polarity and auxin transport in plants. I: Modification of polarity and auxin transport by triiodobenzoic acid. *Physiol. Plantarum*, 9, 60—73.
74. Phinney B. O., 1956. Growth response of single-gene dwarf mutants in maize to gibberellic acid. *Proc. Nat. Akad. Sci. Wash.*, 42, 185—189.
75. Radley M., 1958. The distribution of substances similar to gibberellic acid in higher plants. *Ann. Bot.*, 22, 297.
76. Ropp de R. S., 1956. Kinetin and auxin activity. *Plant Physiol.*, 31, 253.
77. Schantz E. M., Steward F. C., 1952. Coconut milk factor: The growth promoting substances in coconut milk, *J. Amer. Chem. Soc.*, 74, 6133.
78. Schantz E. M., Steward F. C., 1956. Growth promoting substances in the liquid endosperm of immature *Aesculus* fruits. *Plant Physiol.*, 31, suppl. XXVIII, 10:45.
79. Seeley R. C., Wain R. L., 1950. A note on the growth-regulating activity of 2, 6-dichlorophenoxyacetic acid. *J. Hort. Sci.*, 25, 264—265.
80. Seeley R. C., Fawcett C. H., Wain R. L., Wightman F., 1956. Chromatographic investigations on the metabolism of certain indole derivatives in plant tissues. W: The chemistry and mode of action of plant growth substances (Wain i Wightman-wyd.), London, Butterworths, 234—237.



81. Siegel S. M., Galston A. W., 1953. Experimental coupling of indoleacetic acid to pea root protein in vivo and in vitro. Proc. Nat. Acad. Sci. Wash, 39, 1111—1118.
82. Skinner Ch., G., Shive W., 1955. Synthesis of some 6-(substituted) aminopurines. J. Amer. Chem. Soc., 77, 6692.
83. Skoog F., 1937. A de-seeded Avena test method for small amounts of auxin and auxin precursors. J. Gen. Physiol., 20, 311—334.
84. Skoog F., 1955. Growth factors, polarity and morphogenesis. Int. Union Biol. Soc. Colloquium, 20, Ann. Biol., 31, 1—13.
85. Skoog F., Miller C. O., 1957. Chemical regulation of growth and organ function in plant tissues cultured in vitro. The Biological Action of growth substances (Porter H. K.-wyd.) Symp. Soc. Exp. Biol., Nr 11, 118—31.
86. Smith M. S., Wain R. L., 1952. The plant growth regulating activity of dextro and laevo  $\alpha$ -(2-naph-toxy) propionic acid. Proc. Roy. Soc., B, 139, 118—127.
87. Söding H., Raadts E., 1953. Über das Verhalten des Wuchsstoffes der Koleoptilenspitze gegen Säure und Lange. Planta, 43, 25.
88. Steward F. C., Schantz E. M., 1956. The chemical induction of growth in plant tissue culture. W: The chemistry and mode of action of plant growth substances (Wain i Wightman wyd.). London, Butterworths, 165—186.
89. Steward F. C., Caplin S. M., 1951. A tissue culture from potato tuber; the synergistic action of 2, 4-D and coconut milk, Science, 113, 518—520.
90. Steward F. C., Caplin S. M., 1954. a The growth of carrot tissue explants Int. Union Biol. Sci. Col-loquium, 20, Ann. Biol., 30, 385—394.
91. Steward F. C., Caplin S. M., 1954. b. The growth of carrot tissue explants and its relation to the growth factors present in coconut milk 1. (B) The role of the coconut milk growth factor in develop-ment and its relation to proliferated and tumorous growth. Ann. Biol., 30, 395—398.
92. Stowe B. B., Thimann K. V., 1954. The paper chromatography of indole compounds and some indole-containing auxins of plant tissues. Arch. Biochem. Biophys., 51, 499—516.
93. Synerholm M., Zimmerman P. W., 1947. Preparation of a series of  $\omega$ -(2, 4-dichlorophenox) aliphatic acids and some related compounds with a consideration of their biochemical role as plant growth regulators. Contr. Boyce Thompson Inst., 14, 369—382.
94. Takeda A., 1959. a. m-nitro- and m-trifluoromethyl-aryl acids as plant growth regulators, Contr. Boyce Thomp. Inst., 20, Nr. 3, 191.
95. Takeda A., 1959. b.  $\alpha$ -substituted aryl acetic acids as plant growth regulators. Contr. Boyce Thomp. Inst., 20, Nr. 3, 197.
96. Tang Y. M., Bonner J., 1947. The enzymatic inactivation of indoleacetic acid. I: Some characte-ristics of the enzyme contained in pea seedlings. Arch. Biochem., 13, 11—25.
97. Terpstra W., 1953. a. Extraction and identification of growth substances. Teza doktorska — Uniw. w Utrechtie.
98. Terpstra W., 1953. b. Chromatographic identification of the growth-substance extracted from Avena coleoptile tips. Proc. Kon. Nederl. Akad. Wetensch. Amsterdam, Ser. C, 56, 206—213.
99. Teubner F. G., 1953. Identification of auxin present in apple endosperm. Science, 118, 418.
100. Thimann K. V., 1935. a. On the plant growth hormone produced by Rhizopus suinus. J. Biol. Chem., 109, 279—291.
101. Thimann K. V., 1935. b. On an analysis of the activity of two growth promoting substances on plant tissues. Proc. Kon., Nederl. Akad. Wetensch., Amsterdam, 38, 896—912.
102. Thimann K. V., 1952. The role of ortho-substitution in the synthesie auxins. Plant. Physiol., 27, 392—404.
103. Thimann K. V., Bonner J., 1938. Plant growth hormones. Phys. Rev., 18, 524—533.
104. Wagenknecht A. C., Burris R. H., 1949. Indoleacetic acid inactivating enzymes from bean roots and pea seedlings. Arch. Biochem., 25, 30—53.

105. Wain R. L., 1949. Chemical aspects of plant growth-regulating activity. *Ann. Appl. Biol.*, 36, 559—662.
106. Wain R. L., 1951. Plant growth-regulating and systemic fungicidal activity. The Aryloxyalkylcarboxylic acids. *J. Sci. Fd. Agric.*, 3, 101—106.
107. Wain R. L., Wightman F., 1953. Studies of plant growth-regulating substances. VII: Growth-promoting activity in the chlorophenoxyacetic acid. *Ann. Appl. Biol.*, 40, 244.
108. Wain R. L., Wightman F., 1954. The growth-regulating activity of certain  $\omega$ -substituted alkyl carboxylic acids in relation to their  $\beta$ -oxidation within the plant. *Proc. Roy. Soc. B.*, 142, 525.
109. Went F. W., 1928. Wuchsstoff und Wachstum. *Rec. Trav. Bot. Neerl.*, 25, 1—116.
110. Went F. W., Thimann K. V., 1937. *Phytohormones*. Experimental Biology Monographs. Macmillan and Co.
111. West C. A., Phinney B. O., 1956. Properties of gibberellin-like factors from extracts of higher plants. *Plant Physiol.* (suppl.) 31, XX.
112. Westeringh C., 1957. Researches on plant growth substances. Variation in the polar group and their influence on growth-substance transport. Teza doktorska Uniw. w Leidzie.
113. Wheeler A. W., 1960. Changes in a leaf growth substance in cotyledons and primary leaves during the growth of dwarf bean seedlings. *J. Exp. Bot.*, 11, 217—226.
114. White E. P., 1944. Alkaloids of the Leguminosae. VIII—XIII. *N. Z. J. Sci. Tech.* 25 B, 137—162.
115. Wiedow-Pätzold H. L., Guttenberg H., 1957. Weitere Untersuchungen über den nativen Wuchsstoff. *Planta*, 49, 588—597.
116. Wildman S. G., Ferri M., Bonner J., 1946. The enzymatic conversion of tryptophan to auxin by spinach leaves. *Amer. J. Bot.* 33, 839—840.
117. Wildman S. G., Bonner J., 1948. Observations on the chemical nature and formation of auxin in the *Avena coleoptile*. *Amer. J. Bot.*, 35, 742—746.
118. Wilske C., Burström H., 1950. The growth inhibiting action of thiophenoxyacetic acids. *Physiol. Plantarum*, 3, 58—67.
119. Veldstra H., 1944. Researches on plant growth substances IV and V. Relation between chemical structure and physiological activity. *Enzymologia*, 11, 97—136, 137—163.
120. Veldstra H., 1949. On the relation structure/activity with plant growth regulators. *Proc. 2nd Inst. Congr. Pl. Prot.*
121. Veldstra H., 1953. The relation of chemical structure to biological activity in growth substances. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 4, 151—198.
122. Veldstra H., Westeringh C., 1952. On the growth substance activity of substituted benzoic acids. *Rec. Trav. Chim. Pays Bas*, 71, 318—320.
123. Veldstra H., Kruyt W., Stein E., Aberg B., 1954. Researches on plant growth regulators. XXII: Structure activity, VII: Sulphonic acids and related compounds. *Rec. Trav. Chim. Pays Bas*, 74, 23.
124. Veldstra H., 1955. Stereochemistry in the living cell. *Chem. Weekbl.*, 51, 158—167.
125. Zimmerman P. W., Hitchcock A. E., Wilcoxon F., 1936. Several esters as plant hormones. *Contr. Boyce Thompson Inst.*, 13, 273—280.
126. Zimmerman P. W., Hitchcock A. E., 1942. Substituted phenoxy and benzoic acid growth substances and the relation of structure to physiological activity. *Contr. Boyce Thompson Inst.*, 13, 313—322.
127. Zimmerman P. W., Hitchcock A. E., 1944. Substances effective for increasing fruit set and inducing seedless tomatoes. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 45, 353—361.