

JAN JERZY STANISŁAWSKI

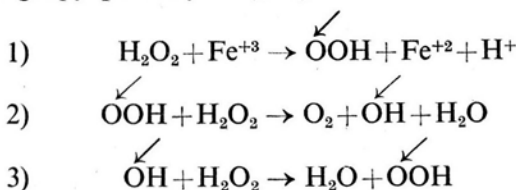
MECHANIZM DZIAŁANIA KATALAZY I PEROKSYDAZY ROŚLINNEJ

Katalaza i peroksydaza roślinna odgrywają doniosłą rolę w licznych procesach oksydoredukcyjnych i zasługują na szczególne zainteresowanie nie tylko ze względu na powszechne występowanie w świecie roślinnym, lecz również z uwagi na funkcję, jaką pełnią w procesach wzrostu i rozwoju roślin.

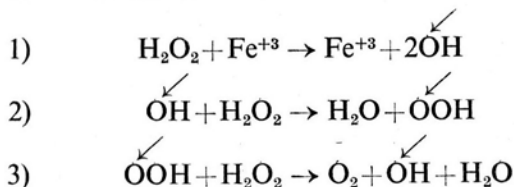
Enzymatyczną funkcję katalazy określili po raz pierwszy Jacobson, Bourquelot i Loew (1901 — cyt. Sumner i Somers 1947) stwierdzając, że wywołuje ona rozkład nadtlenu wodoru na tlen i wodę zgodnie z równaniem:



Dalsze badania, aczkolwiek nie zmieniły pojęcia podstawowej funkcji biochemicznej katalazy, to jednak wykazały bardziej złożony mechanizm działania tego enzymu. Haber i Willstätter (Lück 1953) sądzili, że proces rozkładu nadtlenu wodoru przez katalazę jest reakcją łańcuchową, której towarzyszy zmiana wartościowości żelaza grupy prostetycznej, zgodnie z równaniem:



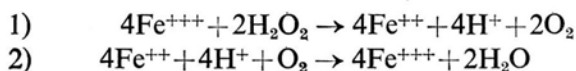
Pogląd Habera i Willstättera potwierdził Kuhn (Zeile 1934), który mechanizm reakcji katalaczej * oparł na utleniającoredukcyjnej własności żelaza. Wyłoniła się jednak zasadnicza trudność w przyjęciu powyższego poglądu, ze względu na brak możliwości udowodnienia zmiany wartościowości żelaza grupy prostetycznej katalazy (Zeile 1934). Trudność tę ominął Stern (Lück 1953), który reakcji katalaczej przypisywał charakter łańcuchowy, lecz bez zmiany wartościowości żelaza, mającej przebiegać według następującego schematu:



* Reakcja katalaczną oznacza reakcję wywołaną przez katalazę w wyniku której następuje rozkład nadtlenu wodoru.

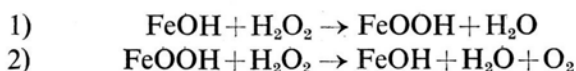
Tłumaczenie mechanizmu działania katalazy, w oparciu o reakcję łańcuchową, było jednak mało prawdopodobne z tego względu, że nie zaobserwowano możliwości przerwania reakcji katalaczej przy pomocy czynników, które przerywają znane reakcje łańcuchowe (Lück 1953).

Pomijając reakcję łańcuchową usiłowali Keilin i Hartree (Sumner i Somers 1947) tłumaczyć specyficzny mechanizm katalazy wyłącznie procesem oksydoredukcyjnym, w którym żelazo ulegałoby pierwotnie redukcji z Fe^{3+} do Fe^{2+} po czym pod wpływem tlenu, następowałoby utlenienie Fe^{2+} do Fe^{3+} zgodnie z równaniem:

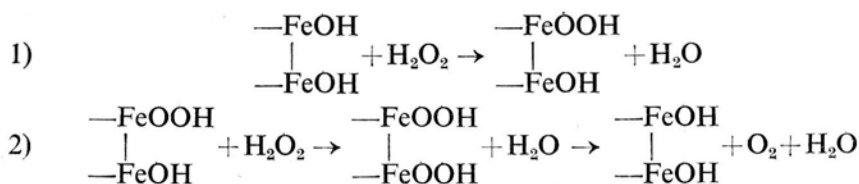


Przeciw temu ujęciu, niezależnie od wspomnianego już uprzednio braku dowodu na występowanie dwuwartościowego żelaza w katalazie, przemawiał fakt niemożliwości zahamowania reakcji katalaczej w wyniku usuwania ze środowiska wytwarzanego tlenu (Lück 1953).

Reakcję katalaczną sformułowali Sumner i Dounce (Sumner i Somers 1947), w oparciu o nadtlenu działanie katalazy, w którym to procesie nadtlenek wodoru byłby zarazem substratem i akceptorem zgodnie z równaniem:

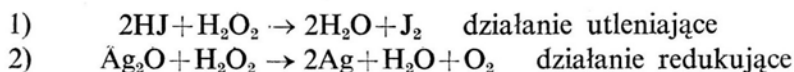


Powyższy schemat został przyjęty przez Chance i Theorella (Lück 1953) jako bardzo prawdopodobny. Wspomniani autorzy wychodząc z założenia, że jedna cząstka katalazy posiada trzy względnie cztery grupy hematynowe, oraz że żelazo w hematynie jest trójwartościowe i nie wykazuje żadnej zmiany wartościowości, widzą również możliwość przebiegu następującej reakcji:

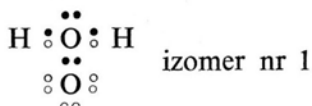


Schemat ten wskazywałby na udział w samym procesie rozkładu nadtlenu wodoru jedynie dwóch grup hematynowych katalazy.

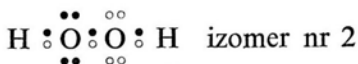
Należy wziąć jednak pod uwagę, że działalność katalazy wiąże się ściśle z samym charakterem nadtlenu wodoru, którą to zależność rozpatrzył szczegółowo Krause (1949). Wykazał on, że wodny roztwór nadtlenu wodoru jest mieszaniną dwóch różnych typów izomerycznych cząstek: mianowicie cząstek redukujących i cząstek utleniających, czego dowodem jest fakt, że jodowodór ulega utlenieniu pod wpływem nadtlenu wodoru, zaś tlenek srebra ulega redukcji zgodnie z równaniem:



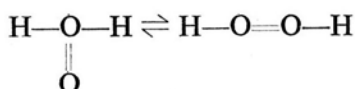
Wodny roztwór nadtlenku wodoru posiada zatem cząstki utleniające



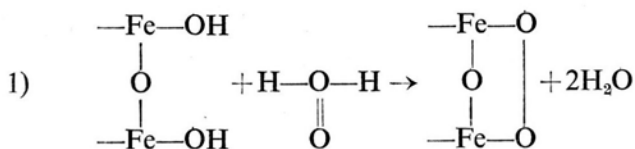
oraz cząstki redukujące:



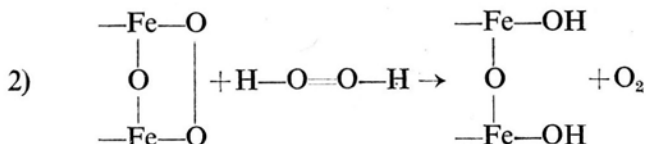
Obydwe izomeryczne cząstki znajdują się w równowadze:



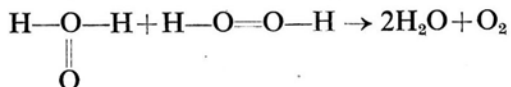
Rozkład nadtlenku wodoru pod wpływem wodorotlenku żelazowego lub hematyny polegałby na tym, że aktywne atomy wodoru grupy hydroksylowej, działając wodorująco na cząstkę utleniającego izomeru nr 1 nadtlenku wodoru, powodują powstanie wody i nadtlenku żelazowego o wyższym potencjale tlenowym:



Nadtlenek żelazowy, działając z kolei na redukujący izomer nr 2 nadtlenku wodoru, powodowałby powstanie tlenu i wodorotlenku żelazowego.



Z chwilą powstania zregenerowanego wodorotlenku żelazowego cały proces może zacząć się od nowa. W procesie tym zachodzi właściwie reakcja między obydwoimi izomerycznymi cząstkami nadtlenku wodoru zgodnie z równaniem:



Inną jeszcze koncepcję mechanizmu rozkładu nadtlenku wodoru przez katalazę widzi Lück (1953) w następującym schemacie ogólnym (E = enzym):

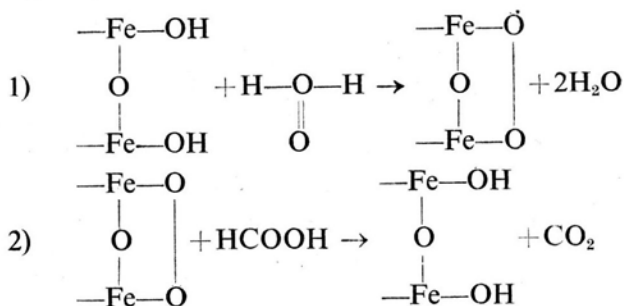
- 1) $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{EOH} \rightleftharpoons \text{EOOH} + \text{H}_2\text{O}$
- 2) $\text{EOOH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightleftharpoons (\text{EOOH} \cdot \text{H}_2\text{O}_2)$
- 3) $(\text{EOOH} \cdot \text{H}_2\text{O}_2) \rightarrow \text{EOH} + \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

Należy jednak wyraźnie stwierdzić, że o ile rozkład nadtlenku wodoru przez katalazę został wielokrotnie udowodniony i nie budzi najmniejszych wątpliwości,

o tyle sam przebieg reakcji w tym procesie pozostaje nadal sprawą otwartą. Przeprowadzone bowiem pomiary szybkości enzymatycznego rozkładu nadtlenu wodoru, w oparciu o kinetykę tego procesu, nie doprowadziłyby do ostatecznego rozstrzygnięcia mechanizmu tej reakcji. Jak wskazuje Lück (1953) jest całkiem prawdopodobne, że proces ten przebiega różnymi drogami. Można jednak przyjąć, że w procesie rozkładu nadtlenu wodoru grupa prostetyczna katalazy nie podlega procesom oksydoredukcyjnym, bowiem żelazo tej grupy nie ma charakteru jonowego, gdyż związana jest z nim czynna grupa hydroksylowa, podobnie jak w zwykłym wodorotlenku żelaza. Obecne zatem w hematinie niejonowe trójwartościowe żelazo nie ulega redukcji pod wpływem nadtlenu wodoru. Pogląd ten oparty jest na zachowaniu się samego wodorotlenku żelazowego, który jest doskonałym katalizatorem oksydoredukcyjnym, a zdolności katalityczne wodorotlenku żelaza związane są z czynnymi grupami hydroksylowymi, które posiadają zdeformowane atomy wodoru zajmujące pod względem energetycznym pośrednie miejsce między atomami a jonami wodoru (Krause 1949).

Katalaza posiada jednak dwoisty charakter swego działania. Obok bowiem reakcji katalicznej wykazuje ona działanie peroksydatywne polegające na utlenianiu niektórych związków organicznych (George 1952, Laser 1954). Badanie Keilina i Hartree (1955) nad peroksydatywnymi własnościami katalazy i peroksydazy wykazały, że etanol zostaje utleniany wyłącznie przez katalazę dzięki jej specyficznym własnościom katalitycznym, której to reakcji nie wywołuje peroksydaza. W procesie tym etanol pod wpływem nadtlenu wodoru i katalazy ulega utlenieniu do kwasu octowego. Peroksydatywne własności katalazy badał również Laser (1955), który ustalił ilościową zależność między aktywnością enzymu a jego zdolnością do utleniania etanolu.

Peroksydatywną zdolność katalazy w przeprowadzeniu kwasu mrówkowego w dwutlenek węgla, przedstawia Krause (1949) następującym równaniem:



Uwzględniając zatem peroksydatywne własności katalazy można uważać enzym ten za pewnego rodzaju peroksydazę, która odwodorowuje szczególnie cząstki nadtlenu wodoru.

Sprawą nader interesującą jest zdolność tworzenia przez katalazę połączeń kompleksowych, które rzucają swoje światło na mechanizm działania tego enzymu. Od dawna znany był fakt (Baldwin 1959), że katalaza wytwarza połączenia kom-

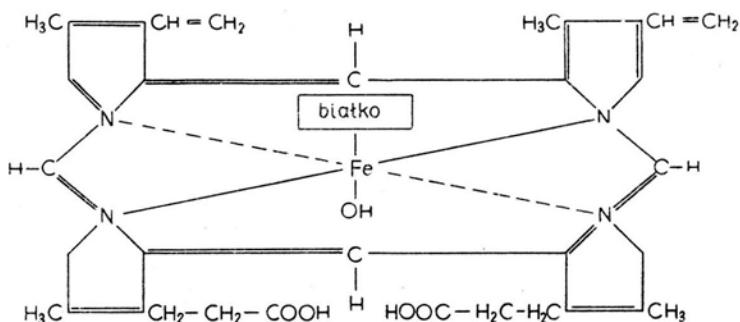
pleksowe z takimi związkami jak: cyjanek, siarkowodór, azydek czy fluorek, które można stwierdzić spektroskopowo. Wszystkie te związki hamują aktywność katalazy. Przeprowadzając katalazę w połączenie kompleksowe z azydkiem sodu uzyskuje się kompleks katalazy i azydku, wykazujący silną absorbcję światła przy 624, 544 i 506 m μ . Dodając do takiego kompleksu nadtlenu wodoru widmo ulega zmianie i wykazuje smugi absorbcyjne przy 588 i 547 m μ . Reakcja rozkładu nadtlenu wodoru zachodzi w tym wypadku wolno i z chwilą gdy cała ilość H₂O₂ zostanie rozłożona, pojawia się pierwotny obraz widma.

Szczegółowe badania Chance (1950) wykazały, że katalaza wytwarza dwa rodzaje połączeń kompleksowych z samym nadtlenukiem wodoru. Kompleks (I) katalazo-wodoro-nadtlenkowy, wykazujący absorbcję przy 635 m μ , posiada dużą aktywność enzymatyczną. Kompleks (I) może jednak przejść w kompleks (II), wykazujący absorbcję przy 536 i 572 m μ , który jest nieaktywny. Stwierdzono, że tempo powstawania kompleksu (II), przy wprowadzaniu katalazy do nadtlenu wodoru, wzrasta w miarę wzrostu stężenia H₂O₂ i w miarę zmniejszania się pH roztworu, bowiem przy pH = 6,5 połowa, a przy pH = 3,6 już prawie wszystkie hematyny katalazy znajdują się w postaci kompleksu (II). Znane zatem od dawna zjawisko inaktywacji katalazy przez sam nadtlenek wodoru, wyrażające się spadkiem jej aktywności w czasie oznaczeń staje się zupełnie zrozumiałe w świetle przedstawionych wyników Chance (1950). Należy dodać, że w przeciwieństwie do nieaktywnego kompleksu (II), kompleks (I) wywołuje bardzo gwałtowną reakcję z nadtlenukiem wodoru, przy czym stała prędkość dla tej reakcji wynosi $3,5 \times 10^7 \text{M}^{-1} \text{sek.}^{-1}$, która według Chance (1959) jest około trzydzieści tysięcy razy większa niż peroksydatywna zdolność utleniania etanolu przez katalazę.

Badania Chance i Herberta (1950) wykazały, że również i katalaza bakteryjna tworzy pierwotne i wtórne połączenia kompleksowe z nadtlenukiem wodoru. George (1948, 1949) na podstawie pomiarów intensywności wydzielanego tlenu, przy rozkładzie nadtlenu wodoru przez katalazę, rozróżnił dwa rodzaje aktywności, a mianowicie aktywność α i β . Wskazuje on, że przy stężeniach H₂O₂ wyższych od 0,07 M, przy których obserwuje się znaczne zmniejszenie tempa reakcji katalaczej, następuje przejście katalazy z α do β aktywności. Jest charakterystyczne, że zmiana samej struktury fizycznej katalazy (rozciągnięta w warstwę jednocząstkową lub skupiona w formie włókien) nie wywołuje zmian aktywności tego enzymu (Kaplan 1952). Na uwagę zasługują jeszcze badania Browna (1952), który wykazał, że katalaza zwierzęca złożona jest z dwu rodzajów katalazy, mających różną aktywność enzymatyczną (pierwsza o kat. f. = 45000 oraz druga o kat. f. = 180000). Autor ten sugeruje, że katalaza o wyższej aktywności enzymatycznej związana jest w komórkach w postaci nierozpuszczalnego kompleksu.

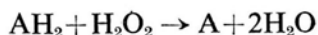
Należy z kolei rozpatrzyć biochemiczną funkcję peroksydazy, czyli drugiego enzymu, którego działalność wiąże się ściśle z nadtlenukiem wodoru. Peroksydaza posiada analogiczną grupę prostetyczną jak katalaza, którą jest hematyna. Hematyna jest połączeniem porfiryny z żelazem, w którym to połączeniu cztery miejsca koordynacyjne żelaza związane są z czterema atomami azotu pierścieni pirolowych,

jedno z grupą hydroksylową oraz jedno łączące hematynę z białkiem. Hematyna posiada wzór sumaryczny $C_{34}H_{32}N_4O_4FeOH$ oraz wzór strukturalny podany niżej:

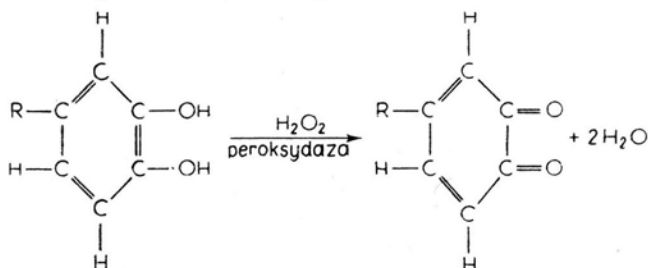


Między katalazą a peroksydazą istnieje jednak zasadnicza różnica. Katalaza rozkłada głównie nadtlenek wodoru na tlen i wodę, podczas gdy peroksydaza nie rozkłada nadtlenku wodoru a pośredniczy jedynie w utlenianiu różnych substratów organicznych nie utleniających się samym nadtlenkiem wodoru.

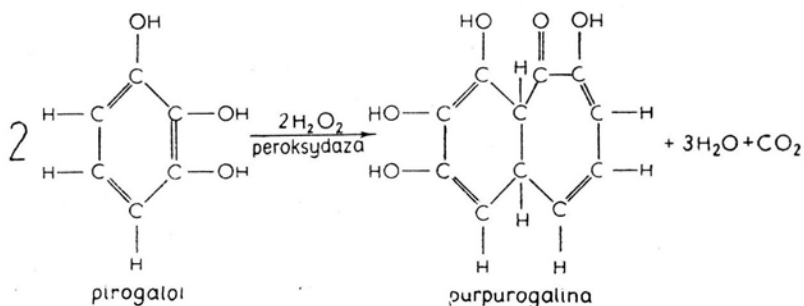
Mechanizm działania peroksydazy przedstawia Wolf (Chmielewska 1953) równaniem:



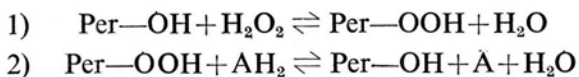
Bardziej wyraźnie można przedstawić mechanizm działania peroksydazy na wzorach strukturalnych, przy pomocy których proces utleniania polifenolu do odpowiedniego chinonu można przedstawić następująco:



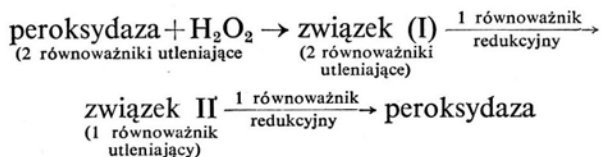
Nieco inny przebieg posiada reakcja przejścia pirogalolu pod wpływem peroksydazy w purpurogalinę opracowana przez Willstättera i Stolla (Kaul 1957), która wiąże się z głębokimi zmianami strukturalnymi samych reagujących cząstek:



Mechanizm działania peroksydazy przedstawia jednak najwierniej schemat ogólny, który uwzględnia tworzone przez peroksydazę połączenia nadtlenowe zgodnie z równaniem:



Od dawna znany był jednak fakt (Baldwin 1959), że peroksydaza wykazująca silną absorpcję przy 645, 583, 548 i 498 m μ po dodaniu nadtlenku wodoru wykazuje gwałtowną zmianę widma, którego pasma absorbcyjne występują przy 561 i 530 m μ . Zmiana ta dowodzi, że między enzymem a nadtlenkiem wodoru zachodzi reakcja, w wyniku której tworzy się połączenie kompleksowe obu składników. Ponadto ilość nadtlenku wodoru niezbędna do przeprowadzenia całej ilości enzymu w nowy związek jest ściśle równoważna z ilością enzymu. Jak wykazały badania George (1953a) mechanizm działania peroksydazy przedstawiać się winno schematem:

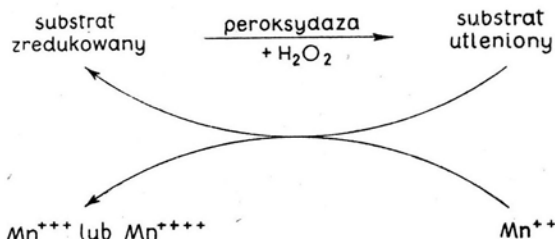


Przebieg ten uzależniony jest w dużej mierze od samego stężenia nadtlenku wodoru (George 1953b).

Szczegółowe badania przeprowadzone przez Jermyna i Thomasa (1954) nad peroksydazą chrzanu, wykazały aż pięć różnych składników o własnościach peroksydatywnych. Stwierdzono również znaczne zmiany sezonowe w stosunkach ilościowych między poszczególnymi peroksydazami. Wspomniani autorzy wskazują, że w soku chrzanu występuje zawsze peroksydaza (I) i peroksydaza (II), natomiast występowanie pozostałych peroksydaz uzależnione jest od zmian sezonowych. Wszystkie jednak wykryte peroksydazy wykazywały swoiste reakcje charakterystyczne. W świetle tych rezultatów stają się zrozumiałe wyniki badań Etti (1949), który stwierdził okresową zmienność aktywności enzymatycznej preparatów peroksydazy. Badania Keilina i Hartee (1955) dostarczyły również licznych dowodów na istnienie dwu rodzajów peroksydazy, które zupełnie odmiennie reagują z cjankiem.

Z tych to względów staje się współcześnie ponownie aktualne zagadnienie mechanizmu działania peroksydazy względnie peroksydaz, które do niedawna uważane było za zupełnie wyjaśnione. Trudno bowiem przyjąć, by różne peroksydazy wykazujące specyfikę reakcji charakterystycznych miały posiadać analogiczny mechanizm działania względem nadtlenku wodoru. Mechanizm działania peroksydazy jest jednak jeszcze bardziej złożony, bowiem uzależniony jest od samego charakteru utlenianego substratu. Jak wykazuje praca Saundersa i Watsona (1950), aminy posiadające grupy silnie przyciągające elektrony są odporne na działanie peroksydazy.

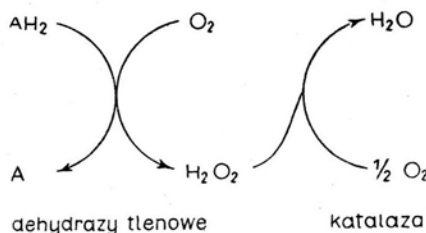
Działalność peroksydazy zależy również od szeregu czynników chemicznych działających w organizmie roślinnym. Doświadczenia Kenten i Manna (1950) wykazały, że preparaty roślinnej peroksydazy w obecności fenolu, p-krezolu, o-krezolu czy rezorcyny, zdolne są utleniać przy udziale nadtlenu wodoru sole manganu zgodnie ze schematem:



Kenten i Mann (1953) donoszą, że peroksydaza w obecności Mn^{++} może utleniać takie związki jak szczawian, octan szczawiowy, keto-malanian (ester kwasu metanodwukartoksyłowego — 1,1), czy dwuhydroksywinian. Wiadomo dalej (Kenten i Mann 1951), że system wytworzony przez peroksydazę z odpowiednim substratem fenolowym jest efektywniejszym katalizatorem reakcji utleniania żelazocjanku przez nadtlenek wodoru, niż sama peroksydaza.

Powyższe fakty wskazują, że mechanizm działania peroksydazy podobnie jak i katalazy mimo licznych prac, pozostaje nadal sprawą otwartą, bowiem trudno przyjąć dla tak złożonego problemu jeden wszystko tłumaczący schemat.

Zarówno katalaza jak i peroksydaza spełniają w organizmie roślinnym dużą rolę. Przede wszystkim katalaza jest enzymem charakteryzującym się najwyższą liczbą obrotów, ze znanych dotychczas procesów katalizowanych przez enzymy (Baldwin 1959). Liczba obrotów katalazy wynosi 2500000, podczas gdy peroksydazy 150000 (Skarżyński 1956). Dzięki ogromnej liczbie obrotów, katalaza nie dopuszcza w organizmie roślinnym do szkodliwego działania nadtlenu wodoru, powstającego przy udziale dehidraz tlenowych (oksytropowych), który to mechanizm przedstawia Wolf (Chmielewska 1953) za pomocą równania:

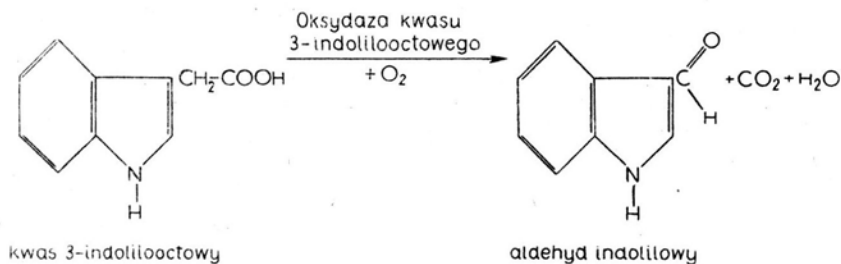


Według Kenten i Manna (1952a) nadtlenek wodoru powstaje również w roślinach w czasie utleniania mleczanów (sole lub estry kwasu 1-hydroksyetanokarboksyłowego — 1) i glikolanu (ester kwasu glikolowego), który to proces katalizuje oksydaza hydroksykwasowa. Produkty utleniania w tym procesie uzależnione są od aktywności katalazy. Kenten i Mann (1952a) dostarczyli nie tylko licznych do-

wodów na występowanie nadtlenu wodoru w roślinach wyższych, lecz opracowali również metodę pozwalającą na wykrywanie H_2O_2 w wyciągach roślinnych.

Fizjologiczne znaczenie katalazy i peroksydazy polega jednak na tym, że enzymy te oddziałują na regulatory wzrostu roślin. Współcześnie przyjmuje się, że zasadniczym regulatorem wzrostu z grupy auksyn, który występuje powszechnie w roślinach jest kwas 3-indoliloctowy (Linser i Mascher 1953, Kefford 1955, Kentzer 1957, Maciejewska-Potapczykowa 1961). Wspomniany kwas określa się w literaturze takimi nazwami jak: kwas indoloctowy, kwas indolo-3-octowy, kwas 3-indoloctowy, kwas indoliloctowy, kwas β -indoliloctowy (Stanisławski 1958a). Współczesny pogląd na powstawanie oraz rolę kwasu 3-indoliloctowego jako regulatora wzrostu roślin podaje Maciejewska-Potapczykowa (1961). Aktywny fizjologicznie kwas 3-indoliloctowy występuje jednak w roślinach w bardzo minimalnych ilościach, gdyż jest on w tkankach z jednej strony nieustannie produkowany, a z drugiej zaś strony przeprowadzany w formę nieaktywną pod wpływem oksydazy kwasu 3-indoliloctowego (Galston i Dalberg 1954, Strebeyko 1956) jak również pod wpływem peroksydazy (Guttenberg, Lehle-Joerges 1948, Kenten 1955). Jak wskazuje Galston i Baker (1951) oraz Pilet i Galston (1955) peroksydaza przy udziale H_2O_2 utlenia kwas 3-indoliloctowy i tym samym inaktywuje jego czynność fizjologiczną. Proces ten uwarunkowany jest z kolei od aktywności katalazy, która rozkładając nadtlenek wodoru usuwa z tkanek substrat, przy udziale którego peroksydaza utlenia najbardziej aktywną auksynę.

Katalaza spełnia zatem w tym procesie oksydoredukcyjnym funkcję enzymu ochronnego względem auksyny. Antagonistyczne działanie katalazy względem peroksydazy w różnych procesach redoksowych udowodnili Stern i Bird (1951). Badania Kentena (1955) nad zdolnością peroksydazy do utleniania związków indolopochodnych, nie doprowadziły jednak do wyjaśnienia mechanizmu tych reakcji. Jest jednak całkiem prawdopodobne, że mechanizm działania peroksydazy jest podobny do reakcji, jaka zachodzi przy przejściu kwasu 3-indoliloctowego w aldehyd indolowy pod wpływem oksydazy kwasu 3-indoliloctowego, którą przedstawia znane równanie:



Nie ulega jednak wątpliwości, że zarówno katalaza jak i peroksydaza wpływają tak na działalność auksyny, jak i też na kwas askorbinowy, który odgrywa również doniosłą rolę w procesach wzrostu i rozwoju roślin (Michniewicz 1960, Michniewicz i Rowicka 1961, Michniewicz 1961). Według Keilina i Hartree (1955)

jak również według Ovczarova (1958) peroksydaza utlenia kwas askorbinowy do dehydroaskorbinowego, której to własności nie wykazuje zupełnie katalaza. Powyższe fakty wskazują wyraźnie, że nie tylko podobieństwo w aspekcie chemicznym, lecz również spełniane funkcje fizjologiczne skłaniają do łącznego rozpatrywania mechanizmu tych enzymów.

Katalaza i peroksydaza odgrywają jednak szczególnie doniosłą rolę w procesach kiełkowania i wschodów roślin. Jak stwierdził Prokopienko (1927) podczas kiełkowania pszenic ozimych i jarych, zachodzą głębokie zmiany w aktywności katalazy i peroksydazy, które przebiegają w zależności od temperatury kiełkowania roślin. Demkovskij (1932) oraz Filippienko (1936 — cyt. Oparin, Zjenczenko 1949) wykazali, że w procesie jaryzacji pszenic ozimych zachodzą energetyczne zmiany w aktywności katalazy i peroksydazy, które są szczególnie wyraźne w okresie kwitnienia. Według Michajłovej (1949) rośliny jaryzowane zawierają w porównaniu do kontrolnych wyższą aktywność peroksydazy oraz niższą katalazy, który to fakt tłumaczy się wzmogoną zawartością katalazy w przypadku silnego wzrostu, oraz wzmogoną zawartością peroksydazy podczas słabego wzrostu roślin. Podobnie Lauza (1953) wiąże zmiany aktywności katalazy i peroksydazy z procesem jaryzacji pszenicy ozimej. Reifer, Kleczkowska i Sobecka (1956) wykazali natomiast wzrost aktywności katalazy jedynie w samym procesie jaryzacji pszenicy ozimej, nie stwierdzili jednak wyższej aktywności tego enzymu u zielonych roślin uprzednio jaryzowanych w porównaniu z kontrolnymi. Gavriłova (1954) badając aktywność katalazy i peroksydazy u pszenic ozimych i jarych stwierdziła w okresie spoczynku wyższą aktywność tych enzymów u form ozimych, natomiast w trakcie kiełkowania formy jare odznaczały się intensywniejszymi procesami enzymatycznymi. Badania Sokołovej (1956) wykazały, że aktywność peroksydazy u ozimych i jarych pszenic zmienia się w zależności od pory roku, bowiem podczas wysiewu jesiennego formy ozime mają wyższą aktywność niż jare, jednak przy wysiewie wiosennym pszenice jare znacznie przewyższają zawartością peroksydazy formy ozime. Przedstawione dane eksperymentalne wskazują wyraźnie na dużą rolę katalazy i peroksydazy w procesach wzrostowych roślin.

Należy z kolei wspomnieć o wpływie regulatorów wzrostu na zmiany enzymatyczne. Badania Wort i Cowie (1953) dowiodły, że pszenice poddane działaniu syntetycznego preparatu wzrostowego 2,4 D (kwas 2,4-dwuchlorofenoksyoctowy) wykazały wzrost aktywności katalazy i peroksydazy. Również i gibereliny, które są silnymi regulatorami wzrostu (Michniewicz 1959) wywołują wzrost aktywności katalazy (Munehato i Kato — cyt. Bergqvist, Steusgard i Nielson 1959). Michniewicz i Stanisławski (1961) badając wpływ kwasu 3-indoliloctowego i gibereliny na aktywność katalazy pszenicy, stwierdzili obniżenie aktywności katalazy pod wpływem auksyny oraz wzrost aktywności tego enzymu pod wpływem gibereliny. Wspomniane rezultaty wskazują na ścisłą zależność między działaniem regulatorów wzrostu a aktywnością omawianych enzymów.

Zmiany w aktywności katalazy i peroksydazy roślinnej zachodzą jednak nie tylko pod wpływem regulatorów wzrostu. Jak wykazał bowiem Czajłachjan

i Bojarkina (1955), szereg roślin uprawianych na długim dniu wykazuje wyższą aktywność peroksydazy w porównaniu z roślinami uprawianymi na krótkim dniu, bez względu na sam charakter fotoperiodyczny tych roślin. Według nich peroksydaza wywiera również znaczny wpływ na przechodzenie roślin z fazy wegetatywnej do generatywnej. Również Michniewicz i Stanisławski (1961) wykazali odmienne zmiany aktywności katalazy u pszenicy uprawianej na świetle w porównaniu z roślinami etiolowanymi.

Przedstawiony mechanizm działania obu enzymów jest *in vivo* jeszcze bardziej złożony. Działalność enzymów w organizmie roślinnym uzależniona jest bowiem od zespołu czynników chemicznych i fizycznych, od aktywatorów i inhibitorów, od temperatury, od pH środowiska, czy też wreszcie od samej struktury plazmy, co wskazuje, że udział enzymów w określonym procesie fizjologicznym uwarunkowany jest całym kompleksem czynników. Nie ulega jednak wątpliwości, że działalność katalazy i peroksydazy wiąże się ściśle z procesami wzrostowymi, który to fakt ma niewątpliwie duże znaczenie w fizjologii wzrostu i rozwoju roślin.

LITERATURA

- Baldwin E., 1949, *Biochemia dynamiczna*, P. W. R. i L., Warszawa.
- Bergqvist G., Steusgard A. M., Nielsen N., 1959, The influence of gibberellic acid on the transaminase content of germinating barley seeds, *Physiol. Plant.*, 12, 2: 386—389.
- Brown G. L., 1952, A solubility analysis of crystalline ox-liver catalase. *Biochem. Journ.* 51, 4: 569—573.
- Chance B., 1950, The reactions of catalase in the presence of the notatin system. *Biochem. Journ.* 46, 4: 387—402.
- Chance B., Herbert D., 1950, The enzyme-substrate compounds of bacterial catalase and peroxides. *Biochem. Journ.* 46, 4: 402—414.
- Chmielewska J., 1953, *Biologiczne procesy oksyredukcyjne*, PWN, Warszawa.
- Czajłachjan M. H., Bojarkin A. N., 1955, Vlijaniye dliny dnia na aktivnost oksilitelnykh fermentov v rastenijach. *Doklady Akad. Nauk SSSR*, 105, 3: 592—595.
- Ettori J., 1949, The estimation of peroxidase activity, *Biochem. Journ.*, 44, 1: 35—38.
- Galston A. W., Baker R. S., 1951, Studies on the physiology of light action. III. Light activation of a flavoprotein enzyme by reversal of a naturally occurring inhibition. *A. Journ. Bot.* 38: 190.
- Galston A. W., Dalberg L. Y., 1954, The adaptive formation and physiological significance of indoleacetic acid oxydase. *A. Journ. Bot.*, 41, 5: 373—380.
- Gavriłova N. N., 1954, Fermenty jarovizimujemych i prorastajuszczich siemjan. *V. Saratovsk. Zooteknik Vet.* 5: 154—164.
- George P., 1949, The effect of the peroxide concentration and other factors on the decomposition of hydrogen peroxide by catalase. *Biochem. Journ.* 44, 2: 197—205.
- George P., 1948, A comparison of the decomposition of hydrogen peroxide by catalase, ferrous and ferric ions, haemin and ferrous phthalocyanine. *Biochem. Journ.*, 43: 287—294.
- George P., 1952, Redox reactions of catalase intermediate compounds and a new «peroxidatic» role for catalase. *Biochem. Journ.*, 52, 4: X i X.
- George P., 1953a, The chemical nature of the second hydrogen peroxide compound formed by cytochrome C, peroxidase and horseradish peroxidase. *Biochem. Journ.*, 54, 2: 267—276.
- George P., 1953b, The chemical nature of the second hydrogen peroxide compound formed by cytochrome C, peroxidase and herseradish peroxidase. 2. Formation and decomposition. *Biochem. Journ.*, 55, 2: 220—230.

- Guttenberg H., Lehle-Joerges E., 1948, Über das Vorkommen von auxin und heteroauksin in Ruhenden und Keimenden Samen. *Planta*, 35: 281—296.
- Jermyn M. A., Thomas R., 1954, Multiple Components in horse — radish peroxidase. *Biochem. Journ.* 56, 4: 631—639.
- Kaplan J. G., 1952, The activity of catalase unfolded at the air-water interface. *Journ. Colloid Science* 7: 382—395.
- Kaul R., 1957, Ein Schnellverfahren zur Quantitativen Bestimmung der Peroxydase — Aktivität in Pflanzenpress-säften. *Planta*, 48: 622—626.
- Kefford N. P., 1955, The growth substances separated from plant extracts by chromatograph. *J. Exper. Bot.*, 6, 16: 129—151.
- Keilin D., Hartree E. F., 1955a, Catalase, peroxidase and metmyoglobin as catalysts of coupled peroxidatic reactions. *Biochem. Journ.*, 60, 2: 310—324.
- Keilin D., Hartree E. F., 1955b, Cyanide compounds of ferropoxidase and myoglobin and their reversible photodissociation. *Biochem. Journ.*, 61, 1: 153—171.
- Kenten R. H., Mann P. J. G., 1950, The oxidation of manganese by peroxidase systems *Biochem. Journ.*, 46, 1: 67—73.
- Kenten R. H., Mann P. J. G., 1951, The action of peroxidase systems on ferrocyanide, molybdate, tungstate and vandate. *Biochem. Journ.*, 50, 1: 29—34.
- Kenten R. H., Mann P. J. G., 1952a, Hydrogen peroxide formation in oxidations catalysed by plant α -hydroxyacid oxidase. *Biochem. Journ.*, 52, 1: 130—134.
- Kenten R. H., Mann P. J. G., 1952b, The oxidation of amines by extracts of pea seedlings. *Biochem. Journ.*, 50, 3: 360—369.
- Kenten R. H., Mann P. J. G., 1953, The oxidation of certain dicarboxylic acids by peroxidase systems in presence of manganese. *Biochem. Journ.*, 53, 3: 498—505.
- Kenten R. H., 1955, The oxidation of β -(3-Indolyl) propionic acid and γ -(3-Indolyl) n-butric acid by peroxidase and Mu^{2+} . *Biochem. Journ.*, 61, 3: 353—359.
- Kentzer T., 1957, Krytyczne uwagi o metodyce badań regulatorów wzrostu roślin. *Wiadom. Bot.*, 1: 115—126.
- Krause A., 1949, Katalaza i peroksydaza jako fermenty tego samego typu. *Rozprawy Wydziału Lekarskiego*, 10, 1, 7: 247—258.
- Lanza F., 1953, Contributo allo studio della jarovizzazione di alcuni triticum. *Nota I. Ricerche agrobiologiche*, 7, 6: 1887—1906. (Ref. *Żurnal* 1955, 17: 107).
- Laser H., 1954, Peroxidatic activity of catalase. *Biochem. Journ.*, 56, 3.
- Laser H., 1955, Peroxidatic activity of catalase. *Biochem. Journ.*, 61, 1: 122—127.
- Linser H., Mascher F., 1953, Kolorimetrische und Biologische Bestimmung sowie chromatographische Trennung von Wuchsstoffen aus Pflanzen. *Planta*, 41: 567—588.
- Lück H., 1953, Zur Reaktionskinetik der katalatischen H_2O_2 —Spaltung. *Biochem. Zeitschrift.*, 324: 351—363.
- Maciejewska-Potapczykowa W., 1961, Struktura chemiczna i aktywność biologiczna hormonów roślinnych. *Wiadom. Bot.*, V, 4: 300—334.
- Michajłowa L. W., 1949, K voprosu ob obmene veščestv u rastenii pri prochożdenii stadii jarovizacii. *Dokłady Akad. Nauk*, 64, 6: 857—860.
- Michniewicz M., 1959a, Wpływ auksyn i gibereliny na zawartość kwasu askorbinowego w okresie kiełkowania i wschodów pszenicy. *Zeszyty Naukowe U. M. K.*, 6, IV: 103—112.
- Michniewicz M., 1959b, Znaczenie badań nad giberelinami dla wyjaśnienia procesów prowadzących do zakwitania. *Wiadom. Bot.*, III, 4: 191—201.
- Michniewicz M., 1961, Wpływ jaryzacji na zawartość kwasu askorbinowego u pszenic ozimych. *Acta Agrobot.*, X, 2: 119—131.
- Michniewicz M., Rowicka K., 1961, Badania nad zawartością kwasu askorbinowego u pszenic jarych i ozimych w okresie kiełkowania i wschodów. *Acta Agrobot.*, X, 2: 19—34.
- Michniewicz M., Stanisławski J., 1961, Wpływ auksyny i gibereliny na aktywność katalazy w okresie kiełkowania i wschodów pszenicy. *Acta Agrobot.*, 11: 157—175.

- Oparin A. J., Zjenczenko V. A., 1949, Napravlennost dejstvija fermentov i vljane na ne jarovizaciji. Probl. Biochimii w Micz. Biologii, 1: 81—91.
- Ovczarov K. E., 1958, Rola vitaminov v žizni rastenij. Moskva.
- Pilet P. E., Galston A. W., 1955, Auxin destruction peroxidase activity and peroxidase genesis in the roots of lens culinaris. Physiol. Plant, 8: 4.
- Prokopienko N. E., 1927, K voprosu ob izuczenii koliczestva fermentov v prorastajuszczzej ozimoi i jarovoj pszenice. Nauczno Agronom. Žur., 5, 6: 347—354.
- Reifer I., Kleczkowska D., Solecka M., 1956, Badania nad wpływem jaryzacji na aktywność niektórych enzymów w pszenicach ozimych. Acta Biochem. Pol., III, 1, 41—53.
- Saunders B. C., Watson G. H. R., 1950, Studies in peroxidase action 4. The oxidation of 4-methoxy-2,6-dimethylaniline suggestions for a mechanism. Biochem. Journ., 46, 5: 629—633.
- Skarżyński B., 1956, Chemia fizjologiczna, P. W. R. i L., Warszawa.
- Sokołova S. M., 1956, K charakteristike osobiennostiej ozimych i jarovych pszenic. Dokłady W. A. S. Ch. N. i L., 12: 15—21.
- Stanisławski J. J., 1958a, Krytyczne uwagi odnośnie nomenklatury kwasu β -indolilooctowego. Wiadom. Bot. II, 4: 237—240.
- Stanisławski J. J., 1958b, Modyfikacja chromatograficznej metody wykrywania kwasu β -indolilooctowego i przystosowanie jej do oznaczeń w kielkach pszenicy. Acta Biochim. Pol., V, 4: 427—430.
- Stanisławski J. J., 1961, Chromatograficzna metoda ilościowego oznaczania kwasu 3-indolilooctowego w kielkach pszenicy. Zeszyty Naukowe U. M. K., 8, VI: 15—20.
- Stern R., Bird L. H., 1951, Suppression of catalase activity by peroxidase and its substrates. Biochem. Journ., 49, 3: 335—338.
- Strebeyko P., 1956, Woda i światło w życiu rośliny, PWN, Warszawa.
- Sumner J. B., Somers G. F., 1947, Chemistry and methods of enzymes. Acad. Press. New York.
- Wort D. J., Cowie L. M., 1953, The effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on phosphorylase, phosphatase, amylase, catalase and peroxidase activity in wheat. Plant Physiol., 28, 1: 135—139.
- Zeile K., 1934, Katalase. Erg. d. Ensymforsch., 8: 265—288.