



zeniu  $10^{-5}$  M na wzrost odcinków. Wyniki porównywali z działaniem samego IAA o stężeniu  $10^{-5}$  M jako kontrolą. Stwierdzili oni, że EDTA o stężeniu  $10^{-10}$  M stosowany oddzielnie bez IAA, powodował wyraźny wzrost odcinków koleoptile, a o stężeniu  $10^{-5}$  M niewielki przyrost zbliżony do kontroli, tj. IAA o stężeniu  $10^{-5}$  M. Nie stwierdzili natomiast współdziałania pomiędzy IAA i EDTA w tych doświadczeniach.

W swych dalszych doświadczeniach przebadali oni szereg związków o własnościach chelatujących w różnych stężeniach — kwas uramilodwuoctowy UDA, kwas antranilodwuoctowy AADA, kwas nitrylooctowy NTA, iminodwuoctowy IDA, 8-hydroksychinolina 8HQ, dwuetylodwutiokarbaminian DIECA. Wszystkie zastosowane związki działały jako regulatory wzrostu zwiększając w różnym stopniu przyrost odcinków koleoptile pszenicy.

Podobne doświadczenia przeprowadzał Rees (wg Heatha i Clarka 1956a) z 8-hydroksychinolimą, która zwiększała wzrost odcinków koleoptile, podczas gdy nie chelatujące analogi jak  $\alpha$  — naftol i chinolina, zmniejszały wzrost we wszystkich stężeniach tak z IAA jak i bez tego związku. Heath i Clark biorąc pod uwagę swoje doświadczenia jak i wyniki Reesa przypuszczają, że stymulujący wpływ na wzrost odcinków koleoptile tych związków polega na tworzeniu chelatów, oraz że IAA może działać w podobny sposób.

Roberts (cyt. wg Heatha i Clarka 1956a) zajmował się badaniem struktury i funkcji poszczególnych grup IAA. Twierdzi on, że odległości pomiędzy grupą iminową a karboksylową są odpowiednie do powstania chelatu o siedmioczłonowym pierścieniu z określonym metalem. Takie wiązanie chelatowe IAA z jonami metali ciężkich np.  $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Co}^{+++}$  mogłoby być bardzo trwałe. Uważa on, że nawet jeśli IAA nie tworzy właściwych połączeń chelatowych, to może tworzyć wiązania kompleksowe.

Heath i Clark w swoich dalszych badaniach starali się wyjaśnić czy rola związków chelatujących nie polega na usuwaniu jonów szkodliwych metali z wody destylowanej stosowanej w doświadczeniach. Różnice pomiędzy wzrostem odcinków koleoptile pszenicy rosnących na wodzie destylowanej, stosowanej w poprzednich doświadczeniach, oraz na wodzie oczyszczonej w kolumnie z żywicą jonowymienną, były nieznaczne tak w obecności IAA jak i przy jego braku. W tych doświadczeniach wystąpiło współdziałanie, ale ujemne pomiędzy IAA i EDTA. Wpływ łączny IAA i EDTA był mniejszy niż suma efektów IAA i EDTA działających oddzielnie. Stwierdzono również, że wpływ EDTA (bez IAA) jest nieco mniejszy (o około 8%) niż IAA.

W następnych doświadczeniach Heath i Clark badali szybkość przenikania IAA i EDTA do tkanek koleoptile. Stwierdzili oni, że początkowo szybciej przenika IAA, ale po 36 godzinach następuje wyrównanie stężeń IAA i EDTA w tkankach.

Badania Heatha i Clarka przeprowadzone z wpływem EDTA na wzrost korzeni pszenicy wykazały również stymulację wzrostu korzeni, choć mniejszą niż z IAA.

Według Heatha i Clarka mechanizm stymulacji różni się od inhibicji, a zatem

istnieją różne typy współdziałania pomiędzy IAA i EDTA w koleoptyle i korzeniu pszenicy. Przypuszczają oni, że działanie IAA polega na tworzeniu chelatów z metalami endogennymi komórki, lub na tworzeniu innego rodzaju związków kompleksowych, ale sposób działania jest różny od działania EDTA. Oczywiście Heath i Clark przyznają, że nie otrzymali dowodu «chemicznego» potwierdzającego ich sugestie. Swoje wnioski wyciągnęli w sposób pośredni na podstawie działania czy współdziałania EDTA na wzrost. Wysunęli oni trzy możliwe koncepcje działania związków kompleksujących, w tym również IAA: 1) IAA usuwa jony metali (głównie jony wapnia z pektyn ścian komórkowych); 2) IAA działa jako inhibitor niektórych enzymów, usuwając metale, które są koenzymami, albo odwrotnie przez tworzenie chelatów osłania metale w grupach prostetycznych; 3) IAA tworzy kompleks katalizujący procesy oksydoredukcyjne np. współdziała przy przenoszeniu elektronów.

Również w 1956 roku opublikował wyniki swoich badań Bennet-Clark, w których stwierdził, że dodatek EDTA (w stężeniu  $10^{-5}$ — $10^{-3}$  M) w teście cylindrycznym powoduje przyspieszenie wzrostu odcinków koleoptyle zbliżone do działania auksyn. Bennet-Clark przypuszcza, że zarówno EDTA jak też i IAA mogą tworzyć połączenia chelatowe z wapniem. Działanie tych związków polegałoby na usuwaniu wapnia ze ścian komórkowych przez wchodzenie z nim w połączenia chelatowe, dzięki czemu ściany komórkowe uzyskują większą elastyczność. Ale udowodnić tego mu się nie udało.

Natomiast Ng i Carr (1959) w czasie doświadczeń nad preparacją ścian komórkowych usuwali około 80% związanego wapnia ze ścian komórkowych przy pomocy kwasu cytrynowego, zaś stosując EDTA usuwali Ca tylko w niewielkim stopniu, dlatego też twierdzą, że wywołana przez EDTA stymulacja wzrostu koleoptyle pszenicy nie była związana z usunięciem wapnia ze ścian komórkowych.

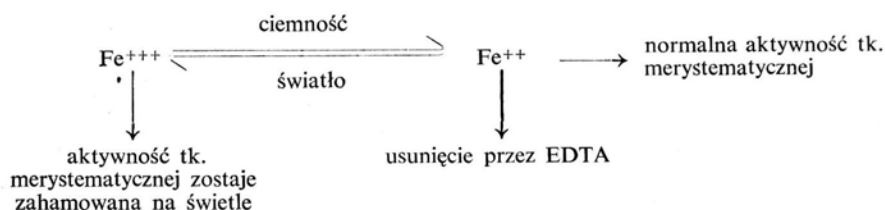
Jak już poprzednio wspomniano sposób działania EDTA nie może być identyczny z IAA, co potwierdził Thimann i Takahashi (1958) w innych badaniach testowych (test mezokotyłu, grochowy, epinastyczny). W testach tych, które normalnie reagują na IAA, EDTA nie wywoływał żadnego efektu.

Gukowa i Faustow (1961) badali wpływ IAA na aktywność enzymów utleniających, w skład których wchodzi metale, oraz porównywali oddziaływanie typowych związków chelatujących, jak EDTA i  $\gamma$ -oksychinolina, na te enzymy. W kielkujących nasionach owsa i grochu uprzednio moczonych w IAA lub wodzie, oznaczano aktywność enzymów — oksydazy askorbinowej, polifenolazy, peroksydazy i katalazy. Stwierdzili oni, że aktywność katalazy i peroksydazy tak w kielkach owsa jak i grochu zwiększała się pod wpływem IAA, ale aktywność enzymów zawierających Cu, a więc oksydazy askorbinowej i polifenolowej — malała w granicach od 16—50%. Natomiast zawartość kwasu askorbinowego w nasionach traktowanych IAA była większa w granicach od 15—40% w stosunku do kontroli. W swych dalszych doświadczeniach badali wpływ EDTA i  $\gamma$ -oksychinoliny, oraz pochodnej niechelatującej  $\alpha$ -naftolu na aktywność oksydazy askorbinowej i polifenolowej w pędach pomidorów. Wpływ EDTA i  $\gamma$ -oksychinoliny był zbliżony

do IAA, a więc w tkankach poddanych działaniu tych związków malała aktywność oksydazy kwasu askorbinowego i oksydazy polifenolowej o 40—50%. Natomiast  $\alpha$ -naftol takiego działania nie powodował. Według Gukowej i Faustowa wyniki ich doświadczeń potwierdzają hipotezę, że mechanizm działania IAA może być związany ze zdolnością do tworzenia związków kompleksowych, niekoniecznie chelatów. Wiążąc jony metali lub blokując je w grupach prostetycznych, auksyny obniżają intensywność procesów utleniających i stwarzają bardziej sprzyjające warunki dla wzrostu komórek.

Wiele prac na temat wzrostu korzeni przeprowadził Burström (1960, 1961, 1963). Badał on między innymi wpływ szeregu metali stosowanych łącznie z EDTA na wzrost korzeni pszenicy działał przy tym zmiennymi warunkami świetlnymi. Obliczał on szybkość podziału komórek, tempo wydłużania się, oraz końcową długość komórek w tkankach merystematycznych odciętych korzeni pszenicy, hodowanych na pożywce z dodatkiem EDTA i odpowiednich metali np. żelaza. Odcięte korzenie, hodowane z dodatkiem EDTA i bez EDTA, reagowały w różny sposób na EDTA w zależności od warunków świetlnych. EDTA w ciemności hamował podział komórek w korzeniu, prawdopodobnie poprzez tworzenie chelatów z metalami endogennymi. Na świetle EDTA nie przejawiało swego hamującego działania dlatego, że samo światło działało hamująco na podział komórek tak silnie, że praktycznie komórki korzenia były już nieczułe na dodatek EDTA. Autor zdołał jednak usunąć hamujący wpływ EDTA na podział komórek w ciemności przez dodanie z zewnątrz (do pożywki) żelaza —  $Fe^{+++}$ . W takim wypadku podział komórek odbywał się znów normalnie — jak w ciemności bez działania EDTA. A więc żelazo to miało zdolność niwelowania inhibitującego działania EDTA, ale tylko w ciemności.

Poniżej przedstawiony jest schemat zależności pomiędzy światłem, żelazem i aktywnością tkanki merystematycznej według Burströma.



Schemat ten jest próbą wyjaśnienia udziału żelaza w stymulacji i hamowaniu wzrostu komórek. Według Burströma żelazo w niektórych układach musi występować w formie zredukowanej dla normalnego metabolizmu w tkankach merystematycznych. Wpływ hamujący żelaza, a raczej braku formy aktywnej na aktywność tkanki merystematycznej, może przejawiać się w dwojaki sposób: 1) poprzez utlenienie żelaza ( $Fe^{++} \rightarrow Fe^{+++}$ ) i utworzenie stabilnego ale fizjologicznie nieaktywnego

kompleksu  $Fe^{+++}$ ; 2) przez usunięcie czynnikami chelatującymi mniej stabilnego ale fizjologicznie aktywnego  $Fe^{++}$ . Obie drogi prowadzą do tego samego — obniżenia aktywności fizjologicznej układu żelazowego.

Burström przyznaje, że trudno jest ustalić jaka jest rola żelaza w przyspieszaniu podziału komórkowego. Przyпуска on, że chodzi o udział żelaza w oddychaniu. Rola żelaza może się zmienić na świetle, gdy źródłem energii nie będzie oddychanie, lecz fotosynteza. Intensywność fotosyntezy w naświetlanych zieleniejących korzeniach badał Fadeel (wg Burströma 1961) i określił, że fotosynteza może osiągnąć punkt kompensacyjny (tzn. w tych warunkach fotosynteza równałaby się oddychaniu). Wobec tego Burström zastanawia się, czy żelazo jest bardziej niezbędne dla oddychania, czy fotosyntezy? Na świetle żelazo może być utleniane do  $Fe^{+++}$ , które Lundegardh wykrył w cytochromie f, a właśnie ten cytochrom według Arnona bierze udział w mechanizmie fosforylacji fotosyntetycznej. Współzależność pomiędzy zawartością chlorofilu i czułością na światło reakcji wzrostowej może zachodzić za pośrednictwem przemian energetycznych. Być może, że forma żelaza trwała na świetle jest związana z tworzeniem chlorofilu. Zaś same barwiki lub produkty fotosyntezy mogą być bezpośrednio lub pośrednio związane z reakcją wzrostową przebiegającą na świetle.

Gumiński oraz współpracownicy (1963) badając zależność pomiędzy aktywnością fizjologiczną humianu oraz EDTA a różnym stężeniem kationów Ca, Mg i Fe w kulturach wodnych na pomidorach, stwierdzili, że w pożywce nie wietrzonych rośliny cierpiały na brak dostępnego żelaza. Dodatek humianu lub EDTA usuwał chlorozę wywołaną brakiem żelaza.

Buczek (1965) przeprowadził porównawcze badania nad ukorzenianiem się gałązek wierzby (*Salix viminalis*) pod wpływem IAA i EDTA. Autor stwierdził, że w niektórych wypadkach EDTA stymulował powstawanie korzeni podobnie jak IAA. W innych wariantach IAA stymulował a EDTA nie, wobec czego przypuszcza on, że mechanizm działania obu tych związków jest różny.

Jak widać z przytoczonych prac, rola związków chelatujących polega na tworzeniu chelatów z metalami. Znaczenie metali w żywej komórce jest ogromne i bardzo wszechstronne. Zmiany w sposobie związania metali powodują zmiany w metabolizmie komórkowym, efektem których może być zwiększenie objętości rosnącej komórki, czy zmiany w szybkości podziału komórek.

Drugie zagadnienie — czy mechanizm działania IAA jest podobny do działania związków chelatowych, lub czy IAA tworzy chelaty, właściwie nie zostało rozstrzygnięte. Mimo wielu podobieństw w działaniu brak jest potwierdzeń chemicznych o tworzeniu chelatów przez IAA.

## LITERATURA

- Bennet—Clark T. A., 1956, The chemistry and mode of action of plant growth substances, Bullerworth publication, London.
- Buczek J., 1965, Acta Soc. Bot. Pol. vol. XXXIV nr 3, 389.
- Burström H., 1960, Physiol. Plant. 13, 597.
- Burström H., 1961, Physiol. Plant. 14, 354.
- Burström H., 1963, Advances in Botanical Research vol. 1, Academic Press London and New York, 73.
- Gumiński S., Gumińska Z., Sulej J., 1963, J. of Exp. Bot. vol. 16 N 46, 151.
- Gukowa M. M., Faustow W. W., 1961, Dokl. T. S. Ch. A. 70-A-5, 37.
- Heath O. V. S., Clark J. E., 1956, a, Nature, London, 177, 1118.
- Heath O. V. S., Clark J. E., 1956b, Nature, London 178, 600.
- Heath O. V. S., Clark J. E., 1960, J. of Exp. Bot. 11, 167.
- Ng E.K., Carr D.J., 1959, Physiol. Plant. 12, 275.
- Thimann K. V., Takahashi N., 1958, Plant Physiol. 33, 33.