

POLARNY TRANSPORT AUKSYN W ROŚLINACH

Polar auxin transport in plants

Wiesława KUTERNOZIŃSKA

Summary: Auxin transport plays an important role in the growth and development of plants. The transport is an energy-requiring process. Its rate depends on the metabolic activity of tissue.

The effects of electrical field on the auxin transport and the experiments showing the presence of auxin-binding proteins in the plasma membrane indicate that the transport processes are repeated in each cell.

Treatment of cells with auxin causes oscillations of both the pH of the cytoplasm and the concentration of calcium ions. Ca^{2+} ions are supposed to work as a second messenger for auxin. A model of the mechanism of auxin transport into plant cells and Ca^{2+} release from vacuoles into the cytoplasm is proposed.

Local changes in the concentration of auxin in a whole organism can cause changes in auxin concentration in the cell followed by changes in Ca^{2+} concentration. At the present state of knowledge, however, it is difficult to connect cell responses with the genes whose expression is known to be regulated by auxin.

Key words: auxin, transport, receptors.

Dr Wiesława Kuternozińska, Zakład Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego, Polska Akademia Nauk, ul Sławkowska 17, 31-016 Kraków

WSTĘP

Badania ostatnich lat dotyczące wpływu auksyn na ekspresję genów [2, 8, 15, 20, 28, 35, 38, 40, 41, 72] ponownie zwróciły uwagę badaczy na problemy związane z przemieszczaniem się auksyn w roślinach. Hormony roślinne odgrywają bowiem istotną rolę w regulacji wzrostu i rozwoju roślin na poziomie komórki, organu i całego organizmu [4].

Naturalna auksyna (kwas indoliloctowy – IAA) jest syntetyzowana w merystemach wierzchołkowych łodygi i w młodych liściach. Z tych miejsc IAA jest transportowany w dół wzdłuż łodygi. Stężenie IAA w różnicujących się komórkach ksylemu jest wyższe niż w dojrzałych komórkach ksylemu i floemu oraz w rejonie kambium [62]. Sundberg i wsp. [70] badając stę-

żenie IAA w tkankach poza rejonem wiązek naczyniowych wykazali, że IAA osiąga najwyższe stężenie w kambium. Natomiast białka wiążące IAA zostały wykryte w wydłużonych komórkach parenchymatycznych otaczających wiązki naczyniowe [32]. Polarność transportu auksyny została odkryta przez Wenta w 1928 roku [25] i potwierdzona przez wielu badaczy [53, 57, 76].

Badania wskazują, że transport auksyn odgrywa istotną rolę w procesie wzrostu i rozwoju roślin. Jest on czynnikiem kontrolującym wydłużanie się komórek [11, 14], tropizmy [68, 69], podziały komórek kambium [81] i różnicowanie się tkanki naczyniowej [31], dominację wierzchołkową, starzenie się i opadanie liści [45]. Obserwowano także wzmożoną aktywność aparatów Golgiego w komórkach, w których zwiększone było stężenie auksyn [66].

Lincoln i wsp. [38] badając mutanty *Arabidopsis* odporne na auksyny, u których występują mutacje genu AXR1 stwierdzili występowanie licznych nieprawidłowości w rozwoju roślin, takich jak zmniejszenie wzrostu, zmiany w grawitropizmie korzeni i wydłużaniu hypokotyłu oraz zmiany płodności. Wiązki naczyniowe mutantów były gorzej rozwinięte w porównaniu do roślin dzikich. Było to konsekwencją upośledzonej reakcji na auksyny.

Polarny transport auksyn można wykryć już w zarodkach. Fry i Wangerman [19] badając transport auksyn w hypokotyłach zarodków *Phaseolus vulgaris* i *Acer pseudoplatanus* zauważyli, że hypokotyle obu roślin szybciej (około 4–5 razy) transportują IAA w kierunku bazypetalnym niż akropetalnym. Transport ten jest transportem aktywnym. Trudno jednak rozstrzygnąć, czy morfologiczna polarność roślin (łodyga – korzeń) jest określona zanim rozpocznie się polarny transport auksyn, czy też polarny transport auksyn wyprzedza morfologiczną polarność roślin. Wyniki badań wskazują raczej, że inicjacja polarnego transportu auksyn w apolarnym, kulistym zarodku, w kierunku przyłączenia wieszadła określa późniejsze morfologiczne zróżnicowanie embrionu. IAA byłby transportowany z miejsca, gdzie później wytworzy się łodyga w kierunku wieszadła, gdzie wytworzy się później korzeń [19, 27].

Schiavone [63] stwierdził, że polarny transport IAA można wykazać w somatycznych zarodkach marchwi już w stadium, gdy ma on kształt serca.

Pytaniem, które nadal budzi zainteresowanie jest: w jaki sposób polarny transport auksyn jest utrzymywany w roślinie?

SZYBKOŚĆ TRANSPORTU AUKSYN

Dane z prac kilku autorów wskazują, że szybkość transportu wynosi od 3 do 20 mm h⁻¹. Szybkość transportu zależy od pory roku. Hollis i Tepper [31] obliczyli, że transport IAA w aktywnie rosnących siewkach *Fraxinus americana* L. odbywa się z szybkością około 13 mm

h⁻¹, podczas gdy w siewkach w stanie uśpienia wynosi tylko 3 mm h⁻¹. Sezonowe zmiany w ilości IAA wypływającego z fragmentów tkanek pnia *Pinus silvestris* L. do bloczków agarowych opisał również Wodzicki [77]. Najwięcej IAA dyfundowało do bloczków w maju i czerwcu.

Niektórzy autorzy twierdzą, że szybkość transportu nie zależy od długości odcinka, na którym on odbywa się [31]. Shen-Miller [67] badając szybkość transportu IAA w koleoptylach kukurydzy i owsa stwierdził, że różni się ona w zależności od obszaru koleoptyla, w którym jest badana. Koleoptyle kukurydzy podzielił on na trzy obszary w zależności od szybkości transportu: rejon apikalny, gdzie szybkość transportu wynosi 41 mm h⁻¹, rejon środkowy – 13 mm h⁻¹, rejon podstawowy – 34 mm h⁻¹. Z kolei koleoptyle owsa podzielił na dwa rejony: apikalny, w którym szybkość transportu wynosiła 28 mm h⁻¹ i pozostałą część, w której wynosiła ona 14 mm h⁻¹. Goldsmith [24] określiła szybkość transportu IAA we fragmentach koleoptyli kukurydzy o długości 20 mm, wyciętych 3 mm poniżej wierzchołka, jako 12–15 mm h⁻¹. W pracy przeglądowej [25] opisała szybkość transportu auksyn jako zmieniającą się w przedziale od 10–20 mm h⁻¹. Parker i Briggs wykazali, że szybkość transportu IAA w koleoptylach kukurydzy traktowanych roztworami IAA nie zależy od stężenia auksyny [51].

Szybkość transportu auksyn podlega oscylacjom. Hertel i Flory [30] badając transport IAA podanego tkankom kukurydzy pozbawionym źródła auksyny wykazali, że okres trwania oscylacji wynosi 25 min. Shen-Miller [67] stwierdził dla tego samego gatunku, że szybkość transportu IAA w kierunku bazypetalnym podlega oscylacjom z okresem około 20 min. Podobny do fali wpływ IAA z kolejnych fragmentów kambium pnia *Fraxinus excelsior* L. opisali Adamczyk i Wodzicki [1]. Takie samo zjawisko opisali dla *Pinus silvestris* L. Zajączkowski i Wodzicki [83] oraz Wodzicki i wsp. [79], dla *Larix decidua* Mill., *Acer pseudoplatanus* L., *Picea abies* (L.) Karst – Wodzicki i Wodzicki [78].

Polarny transport auksyn w *Pisum sativum*

jest hamowany przez NPA (kwas naftyleno-ftalanowy) i TIBA (kwas 2,3,5-trijodobenzoesowy) [32]. Hamujący wpływ NPA i PCMB (kwas p-chlorortęciobenzoesowy) na wypływ IAA z tkanek kukurydzy potwierdzili również Christie i Leopold [10]. Związki te jedynie w niewielkim stopniu blokowały wchodzenie tej auksyny do tkanek. Wodzicki i Wodzicki [78] wykazali, że TIBA hamuje podobny do fali wypływ IAA z bazalnych części kolejnych fragmentów tkanki otrzymanych z pnia sosny.

Badając wpływ wieku fizjologicznego na szybkość transportu IAA w hypokotylach *Helianthus annuus* L. Suttle [71] stwierdził, że z wiekiem zmniejsza się w komórkach liczba miejsc wiążących NPA. Powinowactwo do NPA pozostałych miejsc wiążących również obniża się, co może sugerować zmiany konformacyjne w domenie wiążącej.

WPLYW CZYNNIKÓW METABOLICZNYCH NA TRANSPORT AUKSYN

Aktywność metaboliczna tkanki ma istotny wpływ na polarny transport auksyn. Autorzy zwracali głównie uwagę na wpływ warunków anaerobowych na szybkość transportu. Goldsmith [24] zauważyła, że przeniesienie fragmentów tkanek koleoptyli kukurydzy do atmosfery azotu hamuje znacznie transport IAA. Po około 10 minutach szybkość transportu spada z 12–15 mm h⁻¹ do 1–2 mm h⁻¹. Christie i Leopold [10] badając transport IAA w koleoptylach kukurydzy traktowanych roztworem tej auksyny zaobserwowali, że brak tlenu jedynie w niewielkim stopniu hamuje wchodzenie auksyny do tkanek, natomiast hamowany jest jej transport oraz wpływ auksyny z tkanek. Spadek szybkości transportu IAA w warunkach anaerobowych do 2 mm h⁻¹ również obserwowali Hollis i Tepper [31] w łodygach *Fraxinus americana* L. Autorzy ci sugerują, że powolny transport w warunkach anaerobowych zachodzi na drodze dyfuzji. Goldsmith [23] również uważa, że bazypetalny transport IAA, który można obserwować w koleoptylach owsa umieszczonych w warunkach anaero-

bowych, odbywa się na drodze dyfuzji. Średni współczynnik dyfuzji wynosi około 1x10⁻⁴ mm² s⁻¹. Transport IAA w warunkach aerobowych i anaerobowych we fragmentach koleoptyli owsa i kukurydzy był również badany przez Wilkins i Martina [74] oraz Wilkins i Whyte'a [75]. Otrzymane przez tych badaczy dane potwierdzają wyniki badań innych autorów: bazypetalny transport IAA jest zahamowany w warunkach anaerobowych w znacznym stopniu. Inhibitory metabolizmu, fluorek sodu i kwas jodooctowy, hamują w warunkach anaerobowych bazypetalny transport IAA do poziomu transportu akropetalnego, podczas gdy w warunkach aerobowych fluorek sodu nie wpływa na transport auksyn, a kwas jodooctowy hamuje ten transport [75].

Obniżenie temperatury do 1°C powodowało ograniczenie szybkości transportu IAA w łodygach *Fraxinus americana* L. do 2 mm h⁻¹ [31]. Tkanki te odzyskiwały zdolność do szybkiego transportu auksyny po siedmiu dniach od momentu przeniesienia ich do warunków sprzyjających wzrostowi tkanek.

EFEKTY WYWOŁYWANE DZIAŁANIEM POLA ELEKTRYCZNEGO

IAA zmienia potencjał elektryczny tkanek i komórek roślinnych. Lokalne zmiany w poziomie IAA powodują wytwarzanie oscylujących potencjałów elektrycznych w tkankach traktowanych auksyną [44], co sugerowało powiązania pomiędzy polem elektrycznym a transportem auksyn.

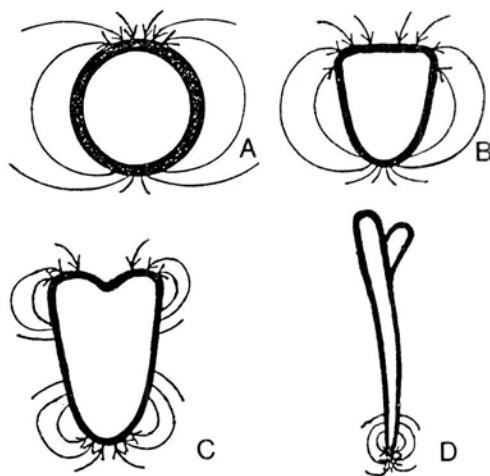
Efekty obserwowane po potraktowaniu tkanki kalusowej tytoniu słabym prądem rzędu 1–2 µA opisali Rathore i Goldsworthy [54, 55] oraz Goldsworthy i Rathore [26]. Stwierdzili oni, że prąd elektryczny stymulował wzrost kalusa o około 70%, gdy kalus był naładowany ujemnie w stosunku do pożywki zawierającej IAA. Autorzy ci zaobserwowali również około pięciokrotną stymulację regeneracji łodyg z kalusa. Prąd o takim samym natężeniu, ale o przeciwnej polarności powodował jedynie trzykrotną stymulację. Interesujące jest, że pierwsze łodygi rozwijały

się w tym obszarze kalusa, który był naładowany najbardziej ujemnie: w pobliżu elektrody, gdy kalus był naładowany ujemnie w stosunku do pożywki albo w pobliżu pożywki, gdy miała ona ładunek ujemny w stosunku do tkanki. Autorzy sugerują, że obserwowany efekt był związany z polarnym transportem IAA. Dodanie inhibitora polarnego transportu auksyn (TIBA) lub zastąpienie IAA przez IAN (indolilo-3-acetonitryl) lub przez syntetyczną auksynę 2,4-D (kwas dichlorofenoksyoctowy), które to związki nie podlegają polarnemu transportowi, powodowało, że tkanka nie wykazywała opisanych wcześniej efektów. McCready [42] oraz McCready i Jacobs [43] wykazali, że 2,4-D może być transportowany polarnie, ale mała szybkość transportu ($0.6\text{--}1.0\text{ mm h}^{-1}$) wskazuje, że może on zachodzić na drodze dyfuzji.

Medvedev i Markova [44] wykazali, że prąd elektryczny o małym natężeniu (do $6\text{ }\mu\text{A}$) stymulował wzrost koleoptyli kukurydzy i grochu, gdy anoda była umieszczona przy apikalnej części koleoptyla. Jeżeli zmieniono kierunek prądu nie obserwowano zmiany w szybkości wzrostu. Odcięcie końca koleoptyla hamowało efekt prądu elektrycznego. Usunięcie jonów wapniowych lub zastosowanie inhibitorów transportu auksyn (NPA, TIBA) również znosiło działanie prądu elektrycznego na wzrost. Na podstawie tych danych można przypuszczać, że obserwowane efekty są wynikiem zmian w aktywnym bazypetalnym transporcie IAA. Auksyna ta w komórkach występuje jako anion. Mechanizm elektroforetyczny nie może więc tłumaczyć sposobu poruszania się IAA w tkankach roślinnych poddanych działaniu prądu elektrycznego [3].

Badacze wiążą transport IAA w zarodkach z występowaniem w nich endogennych prądów elektrycznych. Brawley i wsp. [7], którzy po raz pierwszy użyli somatycznych zarodków marchwi do badań nad przepływem endogennych prądów elektrycznych wykazali, że prąd ten wchodzi do bieguna apikalnego i opuszcza kulisty zarodek w rejonie, gdzie rozwinie się korzeń. Elektryczną polarność zarodka można stwierdzić zanim rozpocznie się różnicowanie tkanek.

Rathore i Robinson [56] rozszerzyli te badania wykazując, że w zarodkach niektórych linii marchwi już w stadium torpedy pojawia się prąd elektryczny wchodzący do wierzchołka korzenia. Fakt występowania prądów wchodzących do tkanek merystematycznych i strefy wydłużania, a opuszczających rosnący korzeń w strefie dojrzewania wydłużonych komórek, opisali wcześniej Weisenseel i wsp. [73]. Na podstawie opisanych wyników opracowano ryc. 1.



Ryc. 1. Prądy elektryczne wokół rozwijających się zarodków roślin w stadium: A) globularnym, B) serca, C) torpedy i D) siewki. (Opracowano na podstawie [56 i 73]).

Fig. 1. Patterns of electrical currents around developing plant embryos at globular (A), heart (B), torpedo (C), and seedling (D) stages. (Based on [56 and 73]).

WYSTĘPOWANIE I DZIAŁANIE RECEPTORÓW AUKSYN

Transport IAA jest niezależny od gradientu stężenia auksyny w tkance [25] i orientacji tkanki [39, 47, 50]. Odwrócenie koleoptyli owsa i kukurydzy o 180° powodowało, że transport IAA w kierunku bazypetalnym został zahamowany, natomiast obserwowano transport w kierunku akropetalnym [39]. Autorzy nie wiążą tej zmiany z bezpośrednim wpływem grawitacji na

transport, lecz raczej z jej wpływem na ruch pewnych składników, od których ten transport jest zależny. Podobny efekt zahamowania transportu syntetycznej auksyny NAA (kwasu naftalenoctowego) w kierunku bazypetalnym obserwowali Ouitrakul i Hertel [50], gdy koleoptyle kukurydzy umieścili w wirówce tak, że przyspieszenie działało w kierunku przeciwnym.

Plazmatyczna ciągłość tkanki nie jest wymagana w procesach transportu. Procesy te powtarzają się w taki sam sposób w każdej komórce. Auksyny są wydzielane w dolnej części każdej komórki [37]. Wydzielanie auksyn z komórek jest istotnym czynnikiem w ich transporcie i jak wskazywały badania Rubery i Sheldrake [61] w procesie tym biorą udział przenośniki zlokalizowane w błonie plazmatycznej dolnej części komórek.

Goldsworthy i Rathore [26] oraz Medvedev i Markova [44] przypuszczali, że w przeprowadzonych przez nich eksperymentach prąd elektryczny może wpływać na orientację rozmieszczonych w plazmalemmie białek, co wcześniej wykazał Jaffe [34]. Autorzy uważają więc, że prąd elektryczny wpływa również na orientację białek transportujących IAA [54, 55].

Osborne i Mullins [49] zaproponowali model współdziałania auksyn, etylenu i kinetyny ze specyficznymi białkami transportującymi auksyny. Białka te, zdaniem autorów, występują w plazmalemmie. Szybkość transportu może być regulowana przez szybkość syntezy tych białek. Regulacja ich aktywności następuje przez wiązanie cząsteczek auksyn lub etylenu do specyficznych miejsc w białku. O występowaniu w komórkach roślinnych białek o wysokim powinowactwie do IAA i uczestniczących w aktywnym transporcie z komórki do komórki donosili również inni autorzy. Ray i wsp. [59] stwierdzili występowanie takich białek w preparatach błon komórkowych izolowanych z koleoptyli kukurydzy. Przebadali oni wiązanie się do specyficznych miejsc 48 różnych auksyn. Występowanie trzech różnych miejsc wiązania auksyn w koleoptylach kukurydzy stwierdzili Dohrmann i wsp. [16]. Miejsca te występowały w błonach

retikulum endoplazmatycznego, tonoplście i plazmalemmie. O występowaniu specyficznych miejsc wiążących auksyny w hypokotylach *Cucurbita pepo* L. cv. Black Beauty donosili Jacobs i Hertel [33]. Dwa miejsca wiązania IAA opisali dla ryżu Zaina i wsp. [80], przy czym jedno z nich jest prawdopodobnie przenośnikiem auksyn.

W 1983 roku Jacobs i Gilbert [32] opublikowali pracę, w której po raz pierwszy donieśli o bezpośrednim dowodzie na występowanie białek transportujących auksyny w plazmalemmie bazalnych części komórek z łodyg grochu (*Pisum sativum* var. *Alaska*). Autorzy ci uzyskali przeciwciała monoklonalne skierowane przeciw białkom wiążącym NPA. Związek ten ma tylko jedno specyficzne działanie w roślinach, mianowicie silne hamowanie polarnego transportu auksyn. Jest zatem prawdopodobne, że miejsce wiążące NPA jest identyczne z miejscem wiązania auksyn. Używając znakowane przeciwciała autorzy ci uzyskali we fragmentach siewek grochu fluoryzujące strefy w kształcie litery U w bazalnych częściach komórek. Nie wszystkie komórki były jednak znakowane. Grupy znakowanych komórek pojawiały się tylko wtedy, gdy płaszczyna cięcia fragmentów przechodziła przez wiązki naczyniowe. Wyznakowane komórki otaczały wiązki naczyniowe i były komórkami parenchymatycznymi. Autorzy stwierdzili również, że miejsca wiążące NPA i rozpoznawalne przez przeciwciała wiązały IAA.

Nave i Benveniste [48] wykazali, że białka wiążące NAA, znajdujące się w plazmalemmie komórek koleoptyli kukurydzy, wiążą grupę karboksylową auksyny za pomocą reszty argininy. Białka te posiadają ładunek dodatni, co umożliwia im przemieszczanie się w płaszczynie lateralnej plazmalemmy do ujemnie naładowanych miejsc komórki. Medvedev i Markova [44] badając przemieszczanie się auksyn w koleoptylach kukurydzy obserwowali, że przemieszczanie się IAA w kierunku bazypetalnym może być przyspieszone przez prąd elektryczny jedynie wtedy, gdy część apikalna jest naładowana dodatnio w stosunku do części bazalnej.

Sposób przemieszczania się IAA z komórki do komórki próbowali wyjaśnić Rubery i Shel-drake [61] oraz Raven [57, 58], którzy zaproponowali hipotezę zakładającą występowanie sprzężenia chemiosmotycznego. Hipoteza ta zakłada większe nagromadzenie białek transportujących IAA⁻ w plazmalemmie bazalnej części komórki. W cytoplazmie (która jest bardziej alkaliczna niż ściany komórkowe) stężenie IAA⁻ jest bardzo duże. Ponieważ jest ona elektrycznie naładowana ujemnie w stosunku do ścian komórkowych, w komórce istnieje tendencja do usuwania IAA⁻ na zewnątrz. Odbywa się to głównie w bazalnej części komórki i prowadzi do zwiększenia ilości [IAA + IAA⁻] w ścianie komórkowej w tej części komórki w stosunku do części apikalnej. Różnice w stężeniu [IAA + IAA⁻] między dwoma końcami komórki, które mogą wynosić do kilku procent, mogą być odpowiedzialne za polarny transport auksyny [14, 37].

Badania prowadzone nad procesami egzocytozy, zwłaszcza związanej z tworzeniem ścian komórkowych, pozwoliły stwierdzić, że jony Ca²⁺ mają istotny wpływ na przebieg tych procesów. Morris i Northcote [46] zaobserwowali, że dodanie soli wapnia do zawieszinowej hodowli komórek platanu zwiększało wydzielanie polisacharydów do pożywki. Stwierdzono również, że jony wapniowe są niezbędne do procesów wzrostu łagiewki pyłkowej u *Tradescantia* [52]. W procesie tym jest niezbędne wydzielanie substancji na zewnątrz komórki. Po traktowaniu komórek auksynami [66] stwierdzono także wzmoczoną aktywność aparatów Golgiego.

Również związki antagonistyczne w stosunku do jonów wapniowych hamują procesy wzrostu pobudzane przez auksyny [13]. Felle [17] stwierdził, że traktowanie tkanek IAA powoduje oscylacje pH i stężenia jonów Ca²⁺ w cytoplazmie komórek epidermalnych koleoptyli kukurydzy. Gehring i wsp. [21] zaobserwowali, że także syntetyczna auksyna 2,4-D wywołuje takie efekty w traktowanych nią tkankach. Wszystkie te badania prowadzą do wniosku, że jony wapniowe mogą działać jako wtórny przekaźnik

informacji w stosunku do auksyn. Brummel i Hall [9] zaproponowali model regulującego wpływu auksyn na działanie aparatu Golgiego, w którym jony Ca²⁺ działają jako wtórny przekaźnik informacji w stosunku do auksyn. Badania Medvedev i Markova [44], w których wykazali, że usunięcie jonów Ca²⁺ powoduje brak stymulującego wpływu prądu elektrycznego na wzrost koleoptyli kukurydzy i grochu potwierdzają ich rolę jako wtórnego przekaźnika informacji.

Roberts i Baba [60] donoszą, że kalmodulina jest niezbędna do prawidłowego przebiegu ksylogenezy indukowanej IAA.

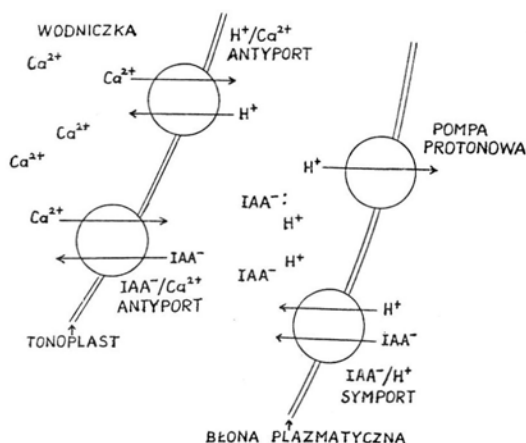
Wykrycie przez Blackbourn i wsp. [6], w komórkach roślinnych (koleoptyle *Zea mays* L.) białka zależnego od jonów wapniowych i wiążącego się do fosfolipidów, pozwoliło lepiej pojąć rolę auksyn i jonów Ca²⁺ w procesach wydzielania komórkowego. Białko to posiada wysoki stopień homologii z wykrytą w komórkach zwierzęcych aneksyną, która jest regulowana poziomem stężenia jonów Ca²⁺ i bierze udział w fuzji pęcherzyków. Aneksyny II i VII z komórek zwierzęcych regulują egzocytozę wiążąc się do plazmalemmy i błony pęcherzyków wydzielniczych. Przeciwciała skierowane przeciw polipeptydom wchodzącym w skład aneksyny występującej w *Zea mays* L. rozpoznają również białka o podobnej masie cząsteczkowej z *Tradescantia virginiana* i *Nicotiana tabacum* L. oraz aneksynę VI z żołądka mięśniowego kurczęcia. Odkrycie to ma istotne znaczenie dla wyjaśnienia roli auksyn i jonów Ca²⁺ w procesach wydzielania komórkowego w roślinach, a zwłaszcza w tworzeniu ścian komórkowych.

Jak wspomniano wcześniej traktowanie komórek roztworem IAA powoduje oscylacje potencjału membranowego, pH oraz stężenia jonów Ca²⁺ [17]. Oscylacje pH w cytoplazmie można było zaobserwować po około 3–4 minutach od momentu traktowania roztworem IAA. Początkowo pH obniżało się. Jednocześnie obserwowano oscylacje potencjału membranowego. Wyklucza to możliwość kotransportu H⁺. Zmiany pH wyprzedzały zmiany potencjału

membranowego. Wskazuje to na związek pH cytoplazmy z pompą protonową, która jest stymulowana przez zakwaszenie cytoplazmy, powoduje hyperpolaryzację i zakwaszenie środowiska zewnętrznego. Hertel [29] uważa natomiast, że możliwy jest wspólny transport IAA^- i 2H^+ do komórki. Felle i wsp. (cyt. za [21]) stwierdzili, że okres oscylacji pH, które można obserwować po traktowaniu tkanek IAA, wynosi 20–30 min.

Jednym z możliwych może być następujący mechanizm zmian: IAA jest transportowany do komórek, co prowadzi do akumulacji IAA^- i zakwaszenia cytoplazmy. Obniżeniu pH może towarzyszyć zwiększenie stężenia wolnych jonów Ca^{2+} w cytoplazmie [18], a wiadomo, że wakuole są miejscem gromadzenia tych jonów. Dlatego wydaje się, że antyport $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ w tonoplacie jest odpowiedzialny za szybką wymianę $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$ [65]. Możliwe, że IAA nie powoduje natychmiastowego wzrostu stężenia jonów Ca^{2+} w cytoplazmie, czego można się spodziewać, jeżeli jony Ca^{2+} mogą działać jako wtórny przenośnik informacji, ze względu na to, że polarny transport IAA odbywa się poprzez antyport $\text{IAA}^-/\text{Ca}^{2+}$ [12, 25]. Możliwe jest także uwolnienie jonów Ca^{2+} z wakuoli [65] lub z retikulum endoplazmatycznego [5, 64] po stymulacji trifosforanem inozytoli. Na podstawie omówionych w tym artykule wyników badań opracowano rys. 2.

Hertel [29] omawiając mechanizm transportu auksyn zwrócił uwagę na badania innych autorów i swoje własne, z których wynika, że komórki wystawione na ciągłe działanie roztworów auksyn adaptują się do nich i efekty obserwowane na początku doświadczeń ulegają zahamowaniu. Stymulujący wpływ impulsowego traktowania tkanek kalusowych roztworami o zwiększonym stężeniu IAA na różnicowanie się komórek w elementy trachealne opisali Kuter-nozińska i wsp. [36]. Stała obecność auksyny o podwyższonym stężeniu w pożywce nie powodowała tych efektów. Gehring i wsp. [22] wykazali, że zwiększone stężenie jonów Ca^{2+} i obniżenie pH są przestrzennie skorelowane z lokal-



Ryc. 2. Jeden z proponowanych mechanizmów transportu naturalnej auksyny IAA do komórek roślinnych oraz uwalniania Ca^{2+} z wodniczek do cytoplazmy.

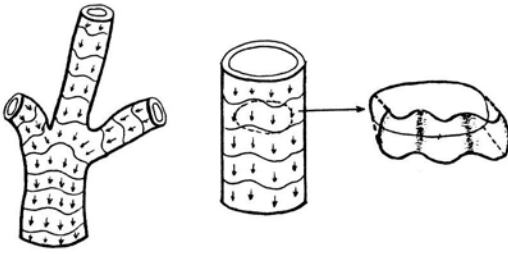
Fig. 2. One of the proposed mechanisms of IAA transport into plant cells and releasing of Ca^{2+} from vacuoles into the cytosol.

nym wydłużaniem się ścian komórkowych związanym z geo- i fototropizmem w koleoptylach kukurydzy.

ZAKOŃCZENIE

Badania prowadzone nad działaniem auksyn w roślinach potwierdzają zaproponowany w 1978 roku przez Zajączkowskiego i Wodzickiego [82, 84] model ponadkomórkowego, oscylacyjnego mechanizmu regulacji morfogenezy roślin.

Według tego modelu komórki rośliny tworzą przestrzeń, w której rozchodzą się trójwymiarowe fale zwiększonych stężeń auksyny (ryc. 3). Punkty o tej samej fazie oscylacji tworzą powierzchnie izofazowe. Wektory rozprzestrzeniania się fali tworzą trójwymiarowe pole wektorowe. W przypadku lokalnych niehomogenności wektory te odchylają się od osi organu dostarczając informację pozycyjną rozpoznawaną przez komórki. Okres trwania oscylacji wynosi 20–25 minut [30, 67]. Rozchodzące się fale auksyny mogą powodować lokalne zmiany stężenia hormonu wewnątrz komórek, co prawdopodobnie



Ryc. 3. Model rozchodzenia się fal auksyny w roślinie. Wektory rozprzestrzeniania się fali tworzą trójwymiarowe pole wektorowe. (Opracowano na podstawie [82 i 84]).

Fig. 3. Model of auxin wave propagation in a plant. Vectors of wave propagation form a three-dimensional vector field. (Based on [82 and 84]).

powoduje oscylacje potencjału membranowego oraz zmiany stężenia jonów wapniowych (wtórny przekaźnik informacji) w cytoplazmie. Zurfluh i Guilfoyle [85, 86, 87] donieśli, że w ciągu 10–15 minut po potraktowaniu tkanek roślinnych roztworami auksyn zwiększa się ilość niektórych rodzajów mRNA. Akumulacja RNA grupy genów o nazwie SAUR zaczyna się już po 2.5 minutach od chwili traktowania tkanek roztworem auksyny [41]. Gee i wsp. [20] wykazali, że ta sama auksyna powoduje pojawianie się różnych RNA w zależności od tkanki, co może sugerować istnienie kilku rodzajów receptorów auksyn.

Chociaż, jak twierdzi Key [35], trudno jest obecnie powiązać ekspresję genów znanych z tego, że ich transkrypcja jest regulowana przez auksyny, z odpowiedziami komórek jakimi są np. ich wydłużanie i różnicowanie się, problem ten wzbudza narastające zainteresowanie badaczy.

PODZIĘKOWANIE

Autorka pragnie podziękować Panu Prof. dr hab. Włodzimierzowi Korohodzie z Instytutu Biologii Molekularnej im. Jana Zurzyckiego Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie za dyskusję i cenne uwagi w trakcie opracowywania powyższego artykułu.

LITERATURA

- [1] ADAMCZYK J. A., WODZICKI T. J. 1987. Acropetal effects of IAA upon the wave-like pattern in the basipetal efflux of natural growth substances of *Fraxinus excelsior* L. *Acta Soc. Bot. Pol.* **56**: 407–413.
- [2] AN G., COSTA M. A., HA S.-B. 1990. Nopaline synthase promoter is wound inducible and auxin inducible. *The Plant Cell* **2**: 225–233.
- [3] ANTOSZEWSKI R., DZIECIOŁ U. 1980. Influence of external electric potential on the translocation of IAA- ^{14}C in cuttings of strawberry leaf petioles. *Acta Physiol. Plant.* **2**: 99–102.
- [4] BARLOW P. W. 1989. Differential growth in plants – a phenomenon that occurs at all levels of organization. *Environ. Exp. Bot.* **29**: 1–5.
- [5] BERRIDGE M. J., IRVINE R. F. 1984. Inositol triphosphate, a novel second messenger in cellular signal transduction. *Nature* **312**: 315–321.
- [6] BLACKBURN H. D., WALKER J. H., BATTEY N. H., 1991. Calcium – dependent phospholipid-binding proteins in plants. Their characterisation and potential for regulating cell growth. *Planta* **184**: 67–73.
- [7] BRAWLEY S. H., WETHERELL D. F., ROBINSON K. R. 1984. Electrical polarity in embryos of wild carrot precedes cotyledon differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **81**: 6064–6067.
- [8] BREVIARIO D., GIANI S., DI VIETRI P., CORAGGIO I. 1992. Auxin and growth regulation of rice coleoptile segments. *Plant Physiol.* **98**: 488–495.
- [9] BRUMMELL D. A., HALL J. L. 1987. Rapid cellular responses to auxin and the regulation of growth. *Plant Cell Environ.* **10**: 523–543.
- [10] CHRISTIE A. E., LEOPOLD A. C. 1965. Entry and exit of indoleacetic acid in corn coleoptiles. *Plant Cell Physiol.* **6**: 453–465.
- [11] COARTNEY J. S., MORRE D. J., KEY J. L. 1967. Inhibition of RNA synthesis and auxin-induced cell wall extensibility and growth by actinomycin D. *Plant Physiol.* **42**: 434–439.
- [12] COHEN J. D., NADLER U. D. 1976. Calcium requirement for indoleacetic acid-induced acidification by *Avena* coleoptiles. *Plant Physiol.* **57**: 347–350.
- [13] CUNNINGHAME M. E., HALL J. L., 1986. The effect of calcium antagonists and inhibitors of secretory processes on auxin – induced elongation and fine structure of *Pisum sativum* stem segments. *Protoplasma* **133**: 149–159; cyt. za Blackburn i wsp. 1991.
- [14] DE LA FUENTE R. K., LEOPOLD A. C. 1966. Kinetics of polar auxin transport. *Plant Physiol.* **41**: 1481–1484.
- [15] DIETZ A., KUTSCHERA U., RAY P. M. 1990. Auxin enhancement of mRNAs in epidermis and internal tissues of the pea stem and its significance for control of elongation. *Plant Physiol.* **93**: 432–438.
- [16] DOHRMANN U., HERTEL R., KOWALIK H., 1978. Properties of auxin binding sites in different subcellular fractions from maize coleoptiles. *Planta* **140**: 97–106.

- [17] FELLE H. 1988. Auxin causes oscillations of cytosolic free calcium and pH in *Zea mays* coleoptiles. *Planta* **174**: 495–499.
- [18] FELLE H. 1988b. Cytoplasmic free calcium in *Riccia fluitans* L. and *Zea mays* L.: Interaction of Ca^{2+} and pH? *Planta* **176**: 248–255.
- [19] FRY, C., WANGERMAN E. 1976. Polar transport of auxin through embryos. *New Phytol.* **77**: 313–317.
- [20] GEE M. A., HAGEN G., GUILFOYLE T. J., 1991. Tissue-specific and organ-specific expression of soybean auxin-responsive transcripts GH3 and SAURs. *The Plant Cell* **3**: 419–430.
- [21] GEHRING C. A., IRVING H. R., PARISH R. W. 1990. Effects of auxin and abscisic acid on cytosolic calcium and pH in plant cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**: 9645–9649.
- [22] GEHRING C. A., WILLIAMS D. A., CODY S. H., PARISH R. W. 1990. Phototropism and geotropism in maize coleoptiles are spatially correlated with increases in cytosolic free calcium. *Nature (London)* **345**: 528–530.
- [23] GOLDSMITH M. H.M. 1966. Movement of indole acetic acid in coleoptiles of *Avena sativa* L. II. Suspension of polarity by total inhibition of the basipetal transport. *Plant Physiol.* **41**: 15–27.
- [24] GOLDSMITH M. H.M. 1967. Movement of pulses of labeled auxin in corn coleoptiles. *Plant Physiol.* **42**: 258–263.
- [25] GOLDSMITH M. H.M. 1977. The polar transport of auxin. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **28**: 439–478.
- [26] GOLDSWORTHY A., RATHORE K. S. 1985. The electrical control of growth in plant tissue cultures: the polar transport of auxin. *J. Exp. Bot.* **36**: 1134–1141.
- [27] GREENWOOD M. S., GOLDSMITH M. H.M. 1970. Polar transport and accumulation of indole-3-acetic acid during root regeneration by *Pinus lambertiana* embryos. *Planta* **95**: 297–313.
- [28] HAGEN G., UHRHAMMER N., GUILFOYLE T. J. 1988. Regulation of expression of an auxin-induced soybean sequence by cadmium. *J. Biol. Chem.* **263**: 6442–6446.
- [29] HERTEL R. 1983. The mechanism of auxin transport as a model for auxin action. *Z. Pflanzenphysiol.* **112**: 53–67.
- [30] HERTEL R., FLORY R. 1968. Auxin movement in corn coleoptiles. *Planta* **82**: 123–144.
- [31] HOLLIS C. A., TEPPER H. B. 1971. Auxin transport within intact dormant and active white ash shoots. *Plant Physiol.* **48**: 146–149.
- [32] JACOBS M., GILBERT S. F. 1983. Basal localisation of the presumptive auxin transport carrier in pea stem cells. *Science* **220**: 1297–1300.
- [33] JACOBS M., HERTEL R. 1978. Auxin binding to subcellular fractions from *Cucurbita* hypocotyls: in vitro evidence for an auxin transport carrier. *Planta* **142**: 1–10.
- [34] JAFFE L. F. 1977. Electrophoresis along cell membranes. *Nature* **265**: 600–602.
- [35] KEY J. L. 1989. Modulation of gene expression by auxin. *BioEssays* **11**: 52–58.
- [36] KUTERNOZIŃSKA W., PILIPOWICZ M., KOROHODA W. 1991. Transitory pulse-like treatment with IAA solution more effectively induces xylogenesis in callus culture than permanent presence of the auxin. *Biol. Plant.* **33**: 433–438.
- [37] LEOPOLD A. C., HALL O. F. 1966. Mathematical model of polar auxin transport. *Plant Physiol.* **41**: 1476–1480.
- [38] LINCOLN C., BRITTON J. H., ESTELLE M., 1990. Growth and development of the *axr1* mutants of *Arabidopsis*. *The Plant Cell* **2**: 1071–1080.
- [39] LITTLE C. H.A., GOLDSMITH M. H.M. 1967. Effect of inversion on growth and movement of indole-3-acetic acid in coleoptiles. *Plant Physiol.* **42**: 1239–1245.
- [40] LIU W., ildebrand D. F., GRAYBURN W. S., PHILLIPS G. C., COLLINS G. B. 1991. Effects of exogenous auxins on expression of lipoxygenases in cultured soybean embryos. *Plant Physiol.* **97**: 969–976.
- [41] McCLURE B. A., HAGEN G., BROWN C. S., GEE M. A., GUILFOYLE T. J., 1989. Transcription, organization, and sequence of an auxin-regulated gene cluster in soybean. *The Plant Cell* **1**: 229–239.
- [42] McCREADY C. C. 1963. Movement of growth regulators in plants. I. Polar transport of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in segments from the petioles of *Phaseolus vulgaris*. *New Phytol.* **62**: 3–18.
- [43] McCREADY C. C., JACOBS W. P. 1963. Movement of growth regulators in plants. II. Polar transport of radioactivity from indoleacetic acid- ^{14}C and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid- ^{14}C in petioles of *Phaseolus vulgaris*. *New Phytol.* **62**: 19–34.
- [44] MEDVEDEV S. S., MARKOVA I. V. 1990. How can the electrical polarity of axial organs regulate plant growth and IAA transport? *Physiol. Plant.* **78**: 38–42.
- [45] MORGAN P. W., DURHAM J. I. 1972. Abscission: potentiating action of auxin transport inhibitors. *Plant Physiol.* **50**: 313–318.
- [46] MORRIS M. R., NORTHOTE D. M. 1977. Influence of cations at the plasma membrane in controlling polysaccharide secretion from sycamore suspension cells. *Biochem. J.* **166**: 603–618.
- [47] NAQVI S. M., GORDON S. A. 1966. Auxin transport in *Zea mays* L. coleoptiles. I. Influence of gravity on the transport of indoleacetic acid- ^{14}C . *Plant Physiol.* **41**: 1113–1118.
- [48] NAVE J.-F., BENVENISTE P. 1984. Inactivation by phenyl – glyoxal of the specific binding sites from maize coleoptiles. *Plant Physiol.* **74**: 1035–1040.
- [49] OSBORNE D. J., MULLINS M. G. 1969. Auxin, ethylene and kinetin in a carrier-protein model system for the polar transport of auxins in petiole segments of *Phaseolus vulgaris*. *New Phytol.* **68**: 977–991.
- [50] OUITRAKUL R., HERTEL R. 1969. Effect of gravity and centrifugal acceleration on auxin transport in corn coleoptiles. *Planta* **88**: 233–243.
- [51] PARKER K. E., BRIGGS W. R. 1990. Transport of indo-

- leacetic acid in intact corn coleoptiles. *Plant Physiol.* **94**: 417–423,
- [52] PICTON J. M., STEER M. W. 1985. The effects of ruthenium red, lanthanum, fluorescein isothiocyanate and trifluoperazine on vesicle transport, vesicle fusion and tip extension in pollen tubes. *Planta* **163**: 20–23,
- [53] PILET P. E. 1965. Polar transport of radioactivity from ^{14}C -labelled-indolylacetic acid in stems of *Lens culinaris*. *Physiol. Plant.* **18**: 687–702,
- [54] RATHORE K. S., GOLDSWORTHY A. 1985a. Electrical control of growth in plant tissue cultures. *Biotechnology* **3**: 253–254,
- [55] RATHORE K. S., GOLDSWORTHY A. 1985b. Electrical control of shoot regeneration in plant tissue cultures. *Biotechnology* **3**: 1107–1109,
- [56] RATHORE K. S., ROBINSON K. 1989. Ionic currents around developing embryos of higher plants in culture. *Biol. Bull.* **176**(S): 46–48,
- [57] RAVEN J. A. 1975. Transport of indoleacetic acid in plant cells in relation to pH and electrical potential gradients, and its significance for polar IAA transport. *New Phytol.* **74**: 163–172,
- [58] RAVEN J. A. 1979. The possible role of membrane electrophoresis in polar transport of IAA and other solutes in plant tissues. *New Phytol.* **82**: 285–291,
- [59] RAY P. M., DOHRMANN U., HERTEL R. 1977. Specificity of auxin-binding sites on maize coleoptile membranes as possible receptor sites for auxin action. *Plant Physiol.* **60**: 585–591,
- [60] ROBERTS L. W., BABA S. 1987. Evidence that auxin-induced xylogenesis in *Lactuca* explants requires calmodulin. *Environ. Exp. Bot.* **27**: 289–295,
- [61] RUBERY P. H., SHELDRAKE A. R. 1974. Carrier-mediated auxin transport. *Planta* **188**: 101–121,
- [62] SAVIDGE R. A., HEALD J. K., WAREING P. F. 1982. Non-uniform distribution and seasonal variation of endogenous indol-3yl-acetic acid in the cambial region of *Pinus contorta* Dougl. *Planta* **155**: 89–92,
- [63] SCHIAVONE F. M. 1988. Microamputation of somatic embryos of the domestic carrot reveals apical control of axis elongation and root regeneration. *Development* **103**: 657–664 cyt. za Rathore i Robinson [1989]
- [64] SCHROEDER J. I., THULEAU P. 1991. Ca^{2+} channels in higher plant cells. *The Plant Cell* **3**: 555–559,
- [65] SCHUMAKER K. S., SZE H. 1987. Inositol 1,4,5-triphosphate releases Ca^{2+} from vacuolar membrane vesicles of oat roots. *J. Biol. Chem.* **262**: 3944–3946,
- [66] SHEN-MILLER J. 1972. Participation of Golgi apparatus in geotropism. W: D. J. Carr (red.) *Plant Growth Substances* 1970. Springer – Verlag, Berlin Heidelberg New York 1972, str. 738–744
- [67] SHEN-MILLER J. 1973a. Rhythmicity in the basipetal transport of indoleacetic acid through coleoptiles. *Plant Physiol.* **51**: 615–619,
- [68] SHEN-MILLER J. 1973b. Rhythmic differences in the basipetal movement of indoleacetic acid between separated upper and lower halves of geotropically stimulated corn coleoptiles. *Plant Physiol.* **52**: 166–170,
- [69] SHEN-MILLER J., COOPER P., GORDON S. A. 1969. Phototropism and photoinhibition of basipolar transport of auxin in oat coleoptiles. *Plant Physiol.* **44**: 491–496,
- [70] SUNDBERG B., LITTLE A. C. H., CUI K. 1990. Distribution of indole-3-acetic acid and the occurrence of its alkali-labile conjugates in the extraxillary region of *Pinus sylvestris* stems. **93**: 1295–1302,
- [71] SUTTLE J. C. 1991. Biochemical bases for the loss of basipetal IAA transport with advancing physiological age in etiolated *Helianthus* hypocotyls. *Plant Physiol.* **96**: 875–880,
- [72] TAKAHASHI Y., NIWA Y., MACHIDA Y., NAGATA T. 1990. Location of the cis-acting auxin-responsive region in the promoter of the par gene from tobacco mesophyll protoplasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**: 8013–8016,
- [73] WEISENSEEL M. H., DORN A., JAFFE L. F. 1979. Natural H^+ currents traverse growing roots and root hairs of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Physiol.* **64**: 512–518,
- [74] WILKINS M. B., MARTIN M. 1967. Dependence of basipetal polar transport of auxin upon aerobic metabolism. *Plant Physiol.* **42**: 831–839,
- [75] WILKINS M. B., WHYTE P. 1968. Maintenance of polar auxin transport in *Zea* coleoptiles by anaerobic metabolism. *Planta* **82**: 307–316,
- [76] WINTER A., THIMANN K. V. 1966. Bound indoleacetic acid in *Avena* coleoptiles. *Plant Physiol.* **41**: 335–342,
- [77] WODZICKI T. J. 1978. Seasonal variation of auxin in stem cambial region of *Pinus silvestris* L. *Acta Soc. Bot. Pol.* **47**: 225–231,
- [78] WODZICKI T. J., WODZICKI A. B. 1981. Modulation of the oscillatory system in polar transport of auxin by other phytohormones. *Physiol. Plant.* **53**: 176–180,
- [79] WODZICKI T. J., WODZICKI A. B., ZAJACZKOWSKI S. 1979. Hormonal modulation of the oscillatory system involved in polar transport of auxin. *Physiol. Plant.* **46**: 97–100,
- [80] ZAINA S., BERTANI A., LOMBARDI L., MAPELLI S., TORTI G. 1989. Membrane-associated binding sites for indoleacetic acid in the rice coleoptile. *Planta* **179**: 222–227,
- [81] ZAJACZKOWSKI S. 1973. Auxin stimulation of cambial activity in *Pinus silvestris* L. I. The differential cambial response. *Physiol. Plant.* **29**: 281–287,
- [82] ZAJACZKOWSKI S., WODZICKI T. J. 1978. Auxin and plant morphogenesis – a model of regulation. *Acta Soc. Bot. Pol.* **47**: 233–243,
- [83] ZAJACZKOWSKI S., WODZICKI T. J. 1978. On the question of stem polarity with respect to auxin transport. *Physiol. Plant.* **44**: 122–126,
- [84] ZAJACZKOWSKI S., WODZICKI T. J., BRUINSMA J. 1983. A possible mechanism for whole-plant morphogenesis. *Physiol. Plant.* **57**: 306–310,

[85] ZURFLUH L. L., GUILFOYLE T. J. 1982. Auxin induced changes in the population of translatable messenger RNA in elongating maize coleoptile segments. *Planta* **156**: 525–527,

[86] ZURFLUH L. L., GUILFOYLE T. 1982. Auxin-induced changes in the population of translatable messenger

RNA in elongating sections of soybean hypocotyl. *Plant Physiol.* **69**: 332–337,

[87] ZURFLUH L. L., GUILFOYLE T. J. 1982. Auxin – and ethylene – induced changes in the population of translatable messenger RNA in basal sections and intact soybean hypocotyl. *Plant Physiol.* **69**: 338–340.