Wpływ auksyny i gibereliny na aktywność katalazy w okresie kiełkowania i wschodów pszenicy

The influence of auxin and gibberellin on catalase activity
in wheat during the period of germination and early growth

MARIAN MICHNIEWICZ I JAN STANISŁAWSKI

WSTĘP

Wśród naturalnych regulatorów wzrostu, które wywierają ogromny wpływ na metabolizm rośliny, główną rolę spełniają przede wszystkim związki typu auksyny (kwas β -indolilooctowy i jego pochodne) oraz substancje giberelinopodobne.

Wprowadzenie do rośliny syntetycznych substancji wzrostowych typu auksyny lub zadziałanie gibereliną wywołuje znaczne zmiany w aktywności szeregu enzymów. Stwierdzono mianowicie, że pod wpływem kwasu β -indolilooctowego (IAA) zwiększa się aktywność α -amylazy (Hori i Nomura 1957a) i pektynometylesterazy (Yoda 1958). Preparat 2,4-D wywołuje zaś wzrost aktywności inwertazy (Hofmann i Schmeling 1953, (1), fosforylasy, β -amylazy, peroksydazy i zmniejszenie aktywności fosfatazy (Wort i Cowie 1953).

Aktywność enzymów wzmacnia także giberelina (Stowe i Yamaki 1957). W doświadczeniach z kiełkującym jęczmieniem wykazano, że wywołuje ona wzrost aktywności α i β amylazy, proteazy (Munekata i Kato 1957, (2), celulazy (Sandegren i Beling 1958 (2) oraz transaminazy (Bergqvist i współautorzy 1959). Weller i współpracownicy (1957) w doświadczeniach z fasolą stwierdzili, że pod wpływem kwasu giberelinowego (GA) następuje wzrost aktywności fosfatazy. Aktywność β -amylazy zwiększa się również, lecz tylko w korzeniach, ulegając zmniejszeniu w liściach i łodygach. Preparat ten nie wywołuje natomiast żadnych zmian aktywności α -amylazy i fosforylasy.

Na szczególną uwagę zasługuje zagadnienie wpływu regulatorów wzrostu na aktywność katalazy — enzymu, którego rola bardzo ściśle wiąże się ze zjawiskami wzrostowymi rośliny. Stwierdzono bowiem, że enzym ten rozkładając nadtlenek wodoru chroni w ten sposób IAA, któ-

ry przy udziale H_2O_2 ulega utlenieniu pod wpływem peroksydazy (Galston i Baker 1951, Pilet i Galston 1955).

Dane jakie znajdujemy w literaturze odnośnie wpływu regulatorów wzrostu na aktywność katalazy są bardzo nieliczne. Wyniki doświadczeń (Dykyj-Sajfertowa 1956, Hori i Nomura 1957b) wykazały, że IAA wywołuje zmniejszenie aktywności katalazy w okresie kiełkowania nasion pszenicy, natomiast Wort i Cowie (1953), którzy opryskiwali pszenicę roztworem 2,4-D stwierdzili wzrost aktywności katalazy pod wpływem tego preparatu.

Wpływ gibereliny na aktywność katalazy badali Munekata i Kato (1957), (cyt. Bergqvist i wsp. 1959). Autorzy ci w doświadczeniach z kiełkującym jęczmieniem stwierdzili, że substancja ta zwiększa aktywność tego enzymu.

Jak wynika z danych przytoczonych wyżej, zagadnienie wpływu regulatorów wzrostu na aktywność katalazy nie jest dotąd dostatecznie poznane. Stwierdzenie to, jak też i fakt dużego znaczenia katalazy w procesach wzrostu rośliny, skłoniły właśnie autorów niniejszej pracy do podjęcia doświadczeń nad tym problemem.

Badania nasze ograniczyliśmy do stwierdzenia wpływu auksyny i gibereliny na aktywność katalazy tylko w początkowym okresie wzrostu rośliny, w którym zachodzą szczególnie duże i charakterystyczne zmiany w działalności enzymów.

Celem pracy było także zbadanie łącznego wpływu IAA i GA na aktywność katalazy. Współdziałanie obu tych preparatów w procesach biochemicznych i fizjologicznych rośliny jest bowiem zagadnieniem dotąd nie wyjaśnionym, a dane, jakie na ten temat znajdujemy w literaturze mówią zarówno o synergicznym, jak i o antagonistycznym oddziaływaniu tych substancji w procesach życiowych rośliny (Brian 1959, Michniewicz 1960).

METODA

Materiałem doświadczalnym była pszenica ozima odmiany „Leszczyńska Wczesna”. Nasiona w ilości po 20 g wysiewano do naczyń z 200 g piasku zawierającego po 40 ml wody lub wodnych roztworów: IAA o stężeniu 0,001‰, GA o stężeniu 0,005‰ oraz roztworu zawierającego oba te preparaty łącznie, w koncentracjach jak wymieniono wyżej. Do doświadczeń użyto takich stężeń, które w próbach wstępnych wywierały wyraźne efekty wzrostowe. W innych doświadczeniach nasiona wysiewano na gazę umieszczoną bezpośrednio na wodzie lub wodnych roztworach substancji wzrostowych.

Rośliny uprawiano w temperaturze 23°C . Część z nich trzymano w ciemności, a część w luminostacie o 16-godzinny dzień.

Pomiary wzrostu i aktywności katalazy przeprowadzano na całych roślinach po 1, 3, 5 i 7 dniach kiełkowania.

Oznaczając aktywność katalazy pobierano każdorazowo po 20 g świeżej masy. Ekstrakcję prowadzono w oparciu o metodę Galstona (Colowick i Kaplan 1955).

Do 100 ml acetonu ochłodzonego w zamrażarce do -15°C wprowadzano 20 g świeżej masy roślin i umieszczano w zamrażarce na 2 godziny. Następnie homogenizowano 3 razy po 2 minuty, zbierając ze ścianek homogenizatora materiał roślinny do roztworu acetonowego. Tak rozdrobioną masę roślinną sączono przez sączek ilościowy i umieszczano na okres 4 godzin pod wentylatorem w celu usunięcia resztek acetonu.

Z tak uzyskanego i wysuszonego materiału pobierano dwie jedno-gramowe odważki — jedną dla oznaczenia katalazy, drugą do określenia suchej masy.

Ekstrakcję katalazy prowadzono za pomocą 0,1 M Na_2HPO_4 . W tym celu zalewano materiał roślinny 100 ml tego roztworu i umieszczano na 12 godzin w lodówce. Wyciąg enzymatyczny oddzielano sącząc przez lejek Büchnera.

W ten sposób uzyskany ekstrakt rozcieńczano 0,1 M Na_2HPO_4 tak, aby uzyskać wartość K_0 w przedziale 0,02—0,05.

W celu wyznaczenia „stałej jednocząsteczkowej” dla czasu zerowego, posłużono się metodą Eulera i Josephsona zmodyfikowaną przez Jollesa (19), przeliczając te wartości zgodnie ze wskazaniem Brzeskiego i Kaniugi (1956) na masę materiału roślinnego.

W sumie przeprowadzono cztery niezależne doświadczenia, których wyniki okazały się zupełnie zgodne, bez względu na sposób wprowadzania substancji wzrostowych.

WYNIKI

W niniejszej pracy przedstawione są wyniki jednego z doświadczeń, w którym substancje wzrostowe wprowadzano do piasku.

Z danych zebranych w tabeli 1 i przedstawionych graficznie na ryc. 1 widać wyraźnie, że bez względu na warunki świetlne giberelina stymuluje wzrost roślin, gdy tymczasem auksyna działa na ten proces hamująco. Jednoczesne stosowanie obu preparatów powoduje hamowanie wzrostu, jednakże w mniejszym stopniu aniżeli w przypadku zastosowania samej auksyny bez dodatku gibereliny.

TABELA 1 — TABLE 1

Wpływ auksyny i gibereliny na wzrost roślin
(Średnia wysokość w mm)

The influence of auxin and gibberellin on the growth of
plants

Warunki świetlne Lighting conditions	Wiek roślin w dniach Age of plants in days	Rodzaj preparatu Kind of substance			
		H ₂ O	IAA	GA	IAA + GA
Ciemno Dark	3	26,3	10,5	34,1	15,0
	5	70,0	31,1	98,4	49,5
	7	86,2	55,6	140,8	72,0
Światło Light	3	25,8	9,2	31,5	13,9
	5	63,1	24,9	85,6	45,3
	7	75,4	35,3	121,0	68,5

Ryc. 1. Wpływ auksyny i gibereliny
na wzrost roślin
A — ciemno; B — światło

The influence of auxin and gibberellin on the growth of plants
A — dark; B — light

TABELA 2 — TABLE 2

Wpływ auksyny i gibereliny na aktywność katalazy w okresie kiełkowania pszenicy
(w „jednostkach aktywności”)

The influence of auxin and gibberellin on catalase activity during the period
of germination (in "unit activity")

Warunki świetlne Lighting conditions	Wiek roślin w dniach Age of plants in days	Rodzaj preparatu Kind of substance			
		H ₂ O	IAA	GA	IAA + GA
Ciemno Dark	1	0,8259	0,3180	0,8630	0,3959
	3	1,0688	0,6661	1,3720	0,8259
	5	2,3300	1,2254	5,3970	1,6104
	7	11,9658	5,6791	15,1108	9,2514
Światło Light	1	0,6515	0,2468	0,7301	0,3613
	3	1,0005	0,3526	1,1459	0,6391
	5	2,2916	1,2471	4,6914	1,3806
	7	6,1613	3,5972	8,9000	4,4405

Ryc. 2. Wpływ auksyny i gibereliny na aktywność katalazy
A — ciemno; B — światło

The influence of auxin and gibberellin on catalase activity
A — dark; B — light

Wyniki przedstawione w tabeli 2 i zobrazowane na wykresie ryc. 2 świadczą, że w okresie pierwszych siedmiu dni kiełkowania aktywność katalazy rośnie. Stwierdzono ponadto, że enzym ten wykazuje wyższą aktywność u roślin etiolowanych aniżeli u pszenicy tego samego wieku rosnącej na świetle.

Porównanie danych przedstawionych w tab. 1 i na ryc. 1 z wynikami zebranymi w tab. 2 i wyrażonymi graficznie na ryc. 2 wskazuje na bardzo wyraźną zależność pomiędzy wpływem auksyny i gibereliny na wzrost rośliny, a efektem jaki wywołują oba preparaty na aktywność katalazy. Mianowicie u roślin, które charakteryzuje bardziej intensywny wzrost, aktywność tego enzymu jest zawsze wyższa aniżeli u pszenic mniejszych będących w tym samym wieku. Prawdliwość ta widoczna jest również przy porównaniu roślin rosnących w ciemności z pszenicami uprawianymi na świetle, które w przeciwieństwie do roślin etiolowanych charakteryzuje mniejszy wzrost.

Intensywność procesów biochemicznych uzależniona jest w dużym stopniu nie tylko od wieku i wielkości, lecz i od fazy wzrostu rośliny (Michniewicz i Rowicka 1961). Istotne więc było przekonanie się, czy zmiany w aktywności katalazy wywołane przy pomocy kwasu β -indolilooctowego i kwasu giberelinowego uwarunkowane są oddziaływaniem tych preparatów tylko na wielkość pszenicy, czy też uzależnione są od wpływu auksyny i gibereliny na szybkość przechodzenia przez roślinę poszczególnych faz wzrostu. W tym celu wykonano specjalne doświadczenia (w kulturach wodnych), w których określano aktywność enzymu u roślin 6-dniowych poddanych działaniu obu preparatów z tym, że do pomiarów wybierano tylko rośliny o zaledwie przebitych koleoptylach, a więc takie, które były w tej samej fazie wzrostu.

Jak wynika z danych zebranych w tabeli 3, również i w tym przypadku największa aktywność katalazy charakteryzowała rośliny, na które

TABELA 3 — TABLE 3

Aktywność katalazy w 6-dniowych kielkach pszenicy o zaledwie przebitych koleoptylach, poddanych działaniu auksyny i gibereliny

The influence of auxin and gibberellin on catalase activity.

Wheat plants (6 days old) whose coleoptiles have just been pierced

Aktywność enzymu w „jednostkach aktywności” Enzyme activity in „unit activity”	Rodzaj preparatu Kind of substance			
	H ₂ O	IAA	GA	IAA + GA
	6,6818	4,7833	8,1419	6,1965

działano kwasem giberelinowym, najmniejszą zaś aktywnością enzymu odznaczały się pszenice poddane działaniu kwasu β -indoliloctowego. Fakt ten świadczy więc, że wpływ auksyny i gibereliny na aktywność katalazy uwarunkowany jest oddziaływaniem tych preparatów na wydłużanie się, a nie na szybkość przechodzenia faz wzrostowych rośliny.

Wyniki wszystkich przedstawionych tu doświadczeń wskazują dalej, że w przypadku jednoczesnego potraktowania roślin obu preparatami giberelina zmniejsza do pewnego stopnia hamujący wpływ auksyny na wzrost i aktywność katalazy.

Dane uzyskane w niniejszej pracy potwierdzają w zasadzie wyniki Dyk y j - S a j f e r t o w e j (1956) oraz H o r i e g o i N o m u r y (1957b) świadczące, że kwas β -indoliloctowy zmniejsza aktywność katalazy w okresie kiełkowania nasion pszenicy. Wyniki te są także zgodne z danymi M u n e k a t a i K a t o (1957) (cyt. B e r g q v i s t i w s p. 1959), które mówią o stymulującym wpływie kwasu giberelinowego na aktywność tego enzymu w procesie kiełkowania nasion jęczmienia. Wskazują one wreszcie na ścisłą zależność pomiędzy wpływem auksyny i gibereliny na aktywność katalazy, a oddziaływaniem tych preparatów na wydłużanie się roślin.

WNIOSKI

Zbadano wpływ auksyny i gibereliny na wzrost roślin i aktywność katalazy w okresie kiełkowania nasion pszenicy ozimej odmiany „Leszczyńska Wczesna”. Nasiona kiełkowano przez okres 7-miu dni w roztworach kwasu β -indoliloctowego o stężeniu 0,001‰ i kwasu giberelinowego o stężeniu 0,005‰ oraz w roztworze zawierającym oba te preparaty. Doświadczenia prowadzono w ciemności i na świetle. W wyniku eksperymentów stwierdzono:

1. W miarę kiełkowania nasion pszenicy aktywność katalazy wzrastała.
2. U roślin etiolowanych charakteryzujących się wyższym wzrostem, aktywność enzymu była wyższa aniżeli u pszenicy tego samego wieku rosnącej na świetle.
3. Wpływ auksyny i gibereliny na wzrost roślin i aktywność katalazy był podobny bez względu na warunki świetlne.
4. Auksyna hamowała wzrost roślin i wywoływała obniżenie aktywności katalazy.
5. Rośliny poddane działaniu gibereliny charakteryzował wzmożony wzrost i wyższa aktywność enzymu w stosunku do kontroli.
6. Przy jednoczesnym traktowaniu roślin kwasami β -indoliloctowym i giberelinowym, giberelina zmniejszała hamujący wpływ auksyny na wzrost roślin i aktywność katalazy.

7. Zmiany w aktywności enzymu wywołane kwasem β -indoliloctowym i giberelinowym były niezależne od wpływu tych substancji na szybkość przechodzenia faz wzrostowych pszenicy.

8. Stwierdzono ścisłą zależność pomiędzy wpływem substancji wzrostowych na aktywność katalazy, a oddziaływaniem tych preparatów na wydłużanie się rośliny.

*Zakład Fizjologii Roślin
Uniwersytetu M. Kopernika
w Toruniu*

(Wpłynęło dn. 14.4.1961 r.)

SUMMARY

The object of the present study was the exploration of the influence of β -indolylacetic and gibberellic acids applied separately and jointly on catalase activity in winter of the Leszczyńska Wczesna variety during germination and early growth.

The seeds were germinated for 7 days in 0.001% IAA and 0.005% GA water solutions and in a solution containing both these growth substances. The plants grew at 23°C — part in light (16 hrs) and part in darkness.

The results of the experiments are as follows:

1. Catalase activity was increasing gradually as the germination was proceeding.
2. In plants cultivated in darkness enzyme activity was higher than in plants of the same age cultivated in light.
3. The influence of auxin and gibberellin on the growth and catalase activity was independent of light conditions of the experiments.
4. Auxin induced a decrease in the growth rate and catalase activity of plants.
5. Under the influence of gibberellin the growth and catalase activity of plants rose very obviously.
6. Gibberellin applied jointly with auxin considerably decreased the inhibiting influence of auxin on the growth and enzyme activity.
7. The changes in catalase activity induced by auxin and gibberellin were independent of the influence of these compounds on the growth phase of the plants.
8. A close correlation has been found between the effects of growth substances on enzyme activity and on plant elongation.

*Department of Plant Physiology
Nicolas Copernicus University
Toruń, Poland*

LITERATURA

1. Audus L. J., 1959, Plant growth substances, L. Hill. London.
2. Bergqvist G., Stensgård A. M., Nielsen N., 1959, The influence of gibberellic acid on the transaminase content of germinating barley seeds. *Physiol. Plant.*, 12, 2: 386.
3. Brian P. W., 1959, Effects of gibberellins on plant growth and development. *Biol. Rev.* 31, 1: 37.
4. Brzeski W., Kaniuga Z., 1956, Ćwiczenia z biochemii roślin, PWN, Warszawa.
5. Colowick P. S., Kaplan N. D., 1955, Methods in enzymology, Vol. II, Acad. Press., New York.
6. Dykyj-Sajfertowa D., 1956, Vliv růstových stimulatorů na enzymy kličícího semena. II. Aktivita katalazy w kličici stimulované pšenici. Sbor. Českosl. akad. zeměd. věd. Rada-Rostl. výroba, 29, 2: 181. (Wg Ref. Žurn. 1957, 4: 111).
7. 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. *Amer. Journ. Bot.* 38: 190.
8. Hori T., Nomura Y., 1957a, Wpływ kwasu indolilooctowego na aktywność α -amylazy w różnych organach kiełków *Vicia faba* (po japońsku). *Sci. Rept. Fac. Lib. Arts a. Educ. Gifu Univ. (Natur. Sci.)*, 2, 1: 41 (Wg Ref. Žurn., 1959, 10: 151).
9. Hori T., Nomura Y., 1957b., Wpływ zadziałania nasion *Vicia faba* kwasem indolilooctowym na aktywność katalazy w kielkach *Sci. Rept. Fac. Lib. Arts. Educ., Gifu Univ. (Natur. sci.)*, 2, 1: 37 (Wg Ref. Žurn., 1959, 18: 116).
10. Michniewicz M., 1960, Wpływ auksyny i gibereliny na zawartość kwasu askorbinowego w okresie kiełkowania i wschodów pszenicy. *Zesz. Nauk. U.M.K. w Toruniu, Biologia (IV)*, 6: 103.
11. Michniewicz M., Rowicka K., 1961, Badania nad zawartością kwasu askorbinowego u pszenic jarych i ozimych w okresie kiełkowania i wschodów. *Acta Agrob. X*, 2: 19.
12. Pilet P. E., Galston A. W., 1955, Auksin destruction peroxidase activity and peroxidase genesis in the roots of *lens culinaris*, *Physiol. Plant.* 8, 4.
13. Stowe B. B., Yamaki T., 1957, The history and physiological action of the gibberellins, *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 8: 181.
14. Summer J. B., Somers G. F., 1947, Chemistry and methods of enzymes. Acad. Press., New York.
15. Weller L. E., Wittwer S. H., Bucovac M. J., Sell H. M., 1957, The effect of gibberellic acid on enzyme activity and oxygen uptake in bean plants (*Phaseolus vulgaris*), *Plant Physiol.* 32, 4: 371.
16. 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.
17. Yoda S., 1958, Auxin action and pectic enzyme. *Bot. Mag. Tokyo*, 71, 840: 207 (Wg Ref. Žurn. 1959, 15: 132).