Wpływ 1-tryptofanu na ukorzenie liści pomidorów

Effect of 1-tryptophan on the rooting of tomato leafy cuttings

JÓZEF BUCZEK

Jedną z funkcji, jaką u roślin spełnia kwas β -indolilooctowy (IAA), jest jego wpływ na tworzenie się korzeni na rozmaitych fragmentach rośliny. Mogą to być pędy lub części pędów, liście wraz z ogonkami, pączki boczne, gałązki, fragmenty pędów podziemnych itp. Niektóre gatunki roślin, posiadające duże zdolności regeneracji, ukorzeniają się bardzo łatwo, inne słabiej, jednakże dodanie z zewnątrz odpowiedniej ilości auksyn przyspiesza, względnie umożliwia ten proces.

Kwas β -indolilooctowy (IAA) powstaje u roślin z aminokwasu tryptofanu na skutek przemian enzymatycznych zachodzących prawdopodobnie w tych organach, w których obserwuje się intensywną syntezę ciał wzrostowych (wierzchołki wzrostu, pączki, liście). Skoog (1937) jako jeden z pierwszych zwrócił uwagę na fakt, że IAA powstaje prawdopodobnie w liściach z aminokwasu tryptofanu. Przypuszczenie to oparł na doświadczeniach przeprowadzonych na koleoptilach owsa, u których stwierdził wzrost auksyn po dodaniu tryptofanu. W dalszych badaniach Skoog i Thimann (1940) wykazali, że synteza auksyn z tryptofanu jest procesem enzymatycznym. Wreszcie Wildman i współpracownicy (1947) oraz Wildman i Bonner (1948) wyizolowali z liści szpinaku i koleoptile owsa układ enzymatyczny przeprowadzający przemianę 1-tryptofanu do IAA. Link (1943) stwierdził intensywną przemianę tryptofanu do IAA dodając do miazgi z liści pomidorów 1-tryptofan. Podobne rezultaty uzyskali Skoog (1940) oraz Tsui (1948). Autorzy ci poza tym wykazali przy pomocy kultur wodnych przeprowadzonych na pomidorach, że bardzo ważną rolę w syntezie auksyn odgrywają pewne sole mineralne, głównie cynk. Uważają oni, że pierwiastek ten odgrywa rolę przy syntezie tryptofanu, czyli pośrednio wpływając na syntezę auksyn. Uogólniając wyniki cytowanych wyżej autorów możemy stwierdzić, że: 1. Rośliny zielone posiadają zdolność do syntezy kwasu β -indolilooctowego z tryptofanu na drodze enzymatycznej. 2. Dodany z zewnątrz 1-tryptofan zwiększa zawartość IAA. 3. Proces syntezy IAA zależny jest od pewnych pierwiastków, głównie cynku. 4. Dodanie jonów Zn do pożywki, w której rosną rośliny, zwiększa zawartość tryptofanu i IAA w liściach.

Powyższe wnioski stały się przesłanką dla autora w określeniu celu pracy, mianowicie: autor postawił pytanie, czy stworzenie roślinom określonych warunków sprzyjających syntezie lub przemianie tryptofanu do auksyn znajdzie odzwierciedlenie w reakcji wzrostowej pewnych organów roślinnych. W tym celu autor posłużył się testem zakorzeniania sadzonek z ilości pomidorów; ewentualne tworzenie się korzeni na ogonkach liści miało być dowodem czynności fizjologicznej kambium w ogonkach liści pomidorów, wywołanej czynnikami dostarczonymi z zewnątrz.

OGÓLNA METODYKA

Doświadczenia przeprowadzono na pomidorach *Lycopersicum esculentum* odmiany Best of All wyhodowanych na pożywce Knopa w kulturach wodnych. Z każdego krzaka dobrze wyrosniętych pomidorów (około 4 tygodnie) odcinano trzy dolne liście u nasady ogonków liściowych. Odcięte liście zanurzone były końcami ogonków w badanych roztworach. Roztworem podstawowym była pożywka Hoaglanda (1944) sporządzona na wodzie podwójnie destylowanej ze szkła. Do pożywki dodawano roztworu mikroelementów (wg Tsui 1948) w ilości 1 ml na litr pożywki. Doświadczenia przeprowadzono w szklarni w świetle dziennym rozproszonym. Czas trwania doświadczenia 2 tygodnie. Każda kombinacja w poszczególnych doświadczeniach składała się z 15 powtórzeń; wyniki podane są jako średnia ilość korzeni na jeden liść pomidora.

OMÓWIENIE I DYSKUSJA WYNIKÓW

Doświadczenie I.

Doświadczenie składało się z 4 kombinacji, z których pierwsza stanowiła kontrolę, a trzy dalsze zawierały wzrastające dawki 1-tryptofanu w ilościach 0,005 g/l, 0,05 g/l oraz 0,5 g/l. Wykres 1 podaje procent korzeni u liści pomidorów wyrażony w procentach roślin kontrolnych.

Wykres 1. Wpływ stężenia 1-tryptofanu na ukorzenianie liści pomidorów. Stężenia 1-tryptofanu:

A — kontrola, B — 0,005 g/l, C — 0,05 g/l, D — 0,5 g/l.

Effect of various concentrations of 1-tryptophan on the rooting of leafy cuttings of tomato seedlings. Concentrations of 1-tryptophan:

A — control, B — 0.005 g/l, C — 0.05 g/l, D — 0.5 g/l.

Fot. 1. Wpływ stężenia 1-tryptofanu na ukorzenianie liści pomidorów

Effect of various concentrations of 1-tryptophan on the rooting of tomato leafy cuttings

1 — Kontrola (Control), 2 — 0,005 g/l, 3 — 0,05 g/l, 4 — 0,5 g/l.

Po upływie 9 dni od założenia doświadczenia dało się zauważyć tworzenie korzeni prawie u wszystkich gałązek moczonych w pożywce z dodatkiem 0,5 g/l 1-tryptofanu, natomiast w pozostałych kombinacjach korzenie pojawiły się dopiero po upływie 12 do 13 dni po założeniu. W momencie likwidacji doświadczenia (po 14 dniach) korzenie były duże i dobrze wykształcone tylko w kombinacji z dawką 1-tryptofanu 0,5 g/l, natomiast w pozostałych kombinacjach korzenie były małe i ilościowo było ich znacznie mniej.

Wyniki opisanego powyżej doświadczenia, którego ilustracją jest fotografia 1, można pokrótce scharakteryzować następująco: Liście pomidorów posiadają zdolność syntetyzowania IAA z tryptofanu, dzięki temu, iż zawierają swoisty układ enzymatyczny zgodnie z badaniami Skooga (1940), Linka (1943) i Tsui (1948). Rezultatem tych przemian jest tworzenie się korzeni na ogonkach liściowych indukowanych ciałami wzrostowymi, które powstają w liściach.

Bardziej szczegółowe badania Skooga i Tsui wykazały, iż jednym z czynników, który umożliwia syntezę IAA z tryptofanu w liściach pomidorów, są jony cynku. O ile zatem procesy te są wystarczająco intensywne, można by spodziewać się, że dodanie do roztworów pozbawionych jonów Zn odpowiednich ilości tego pierwiastka wpłynie na syntezę tryptofanu. Powstający z kolei z tryptofanu IAA będzie indukował tworzenie korzeni na ogonkach liści pomidorów. Aby przekonać się o słuszności tych przypuszczeń, przeprowadzono dalsze doświadczenia nad wpływem różnych dawek cynku na tworzenie korzeni u pomidorów. Doświadczenie II.

Doświadczenie przeprowadzono na tym samym materiale oraz w identycznych warunkach jak doświadczenie poprzednie z tym, że zamiast pożywki Hoaglanda zastosowano roztwór samych mikroelementów. Kontrolę stanowił roztwór mikroelementów bez dawki cynku, natomiast

Fot. 2. Wpływ stężenia jonów Zn na ukorzenianie liści pomidorów

Effect of various concentrations of Zn-ions on the rooting of tomato leafy cuttings

1 — Kontrola (Control), 2 — 0,05 mg/l, 3 — 0,5 mg/l, 4 — 5,0 mg/l.

dalsze kombinacje zawierały zwiększające się dawki jonów cynku w ilościach 0,05 mg/l, 0,5 mg/l i 5,0 mg/l. W rezultacie doświadczenie składało się z 4 kombinacji, jednej bez cynku (kontrola) oraz z trzech z różnymi dawkami jonów Zn. Ilustracją dla tego doświadczenia jest Fot. 2 oraz Wykres 2, w którym ilość korzeni wyrażona jest w procentach roślin kontrolnych.

Najbardziej skuteczną okazała się dawka cynku w ilości 0,5 mg/l powodując względnie intensywne ukorzenianie się sadzonek. Znacznie słabszy efekt wystąpił u pomidorów z dawką cynku równą 0,05 mg/l. Na-

Wykres 2. Wpływ stężenia jonów Zn na ukorzenianie liści pomidorów. Stężenia jonów Zn:

A — kontrola, B — 0,05 mg/l, C — 0,5 mg/l, D — 5,0 mg/l.

Effect of various concentrations of Zn-ions on the rooting of leafy cuttings of tomato seedlings. Concentrations of Zn-ions:

A — control, B — 0,05 mg/l, C — 0,5 mg/l, D — 5,0 mg/l.

tomiast większa dawka cynku przewyższająca dziesięciokrotnie optymalne stężenie jonów Zn (5,0 mg/l) zahamowała tworzenie korzeni oraz bardzo ujemnie odbiła się na wyglądzie samych liści. Liście po kilku dniach miały wygląd zwiedłych oraz na końcach ogonków nie tworzył się kallus. Rośliny kontrolne ukorzeniały się bardzo wolno i w momencie likwidacji doświadczenia posiadały znikomą ilość korzeni.

Z doświadczenia opisanego powyżej wynika, że dodanie odpowiedniej ilości cynku do roztworu, w którym zanurzone są ogonki liści pomidorów, dodatkowo wpływa na tworzenie się korzeni nawet w tym przypadku, gdy roztwór ten nie zawiera żadnych ciał wzrostowych. Ponieważ wiadomo nam z prac wyżej cytowanych autorów, iż jony Zn mają podstawowe znaczenie dla syntezy ciał wzrostowych, można stąd wnosić, że w liściach w kombinacji z optymalną dawką jonów Zn zachodziła intensywna synteza auksyn. Jako efekt fizjologiczny tych przemian obserwujemy powstawanie korzeni na ogonkach liści pomidorów.

Ukorzenianie się liści pomidorów można uzyskać aplikując z zewnątrz IAA czy jakieś inne syntetyczne ciała wzrostowe. Poza tym ważnym czynnikiem mogą być pewne witaminy, takie jak tiamina i inne, które warunkują wzrost korzeni. Następne doświadczenia przeprowadzono zatem z myślą o porównawczym efekcie dodanych z zewnątrz IAA, 1-tryptofanu i tiaminy.

Doświadczenie III.

Warunki doświadczenia i pożywka identyczne jak w doświadczeniu I z tym, że do roztworu mikroelementów dodano optymalną dawkę cynku w ilości 0,5 mg/l. Dawka 1-tryptofanu wynosiła 0,5 g/l, IAA 10^{-5} M, tiamina w ilości 0,1 mg/l. Czas trwania doświadczenia 14 dni. Wyniki umieszczone w wykresie 3 podają średnią ilość korzeni na jeden liść pomidora oraz średnią suchą masę korzeni przeliczoną również na jeden liść pomidora. Z załączonego wykresu oraz Fot. 3 można odczytać:

1. Zarówno IAA, jak 1-tryptofan wpłynęły dodatnio na powstawanie korzeni, natomiast tiamina nie miała większego znaczenia, a nawet w porównaniu z kontrolą zahamowała ten proces.

2. Ilościowo znacznie więcej korzeni obserwuje się w kombinacji z 1-tryptofanem niż w kombinacji z IAA. Można by to wytłumaczyć zbyt małym stężeniem IAA.

3. Korzenie w kombinacji z IAA są znacznie dłuższe, natomiast w kombinacji z 1-tryptofanem wyraźnie krótkie, zwłaszcza w kombinacji tryptofan + tiamina.

4. Wyniki uzyskane z oznaczania suchej masy wskazują, że tryptofan wpływa na zwiększenie masy korzeni.

5. Brak cynku w kombinacjach z IAA i tryptofanem odbija się zawsze ujemnie na ilości powstających korzeni.

6. Bezpośrednia obserwacja korzeni w czasie doświadczenia wskazuje na dość istotne różnice w ich wyglądzie dla poszczególnych kombinacji. Korzenie wytworzone u liści pomidorów, które moczo w roztworze IAA, były bardzo wydłużone i posiadały dobrze wykształcone korzonki boczne, natomiast korzenie u liści moczonych w tryptofanie były krótkie, niezwykle grube i nie posiadały korzeni bocznych.

Wykres. 3. Wpływ jonów Zn, IAA, 1-tryptofanu i tiaminy na ukorzenianie liści pomidorów i suchą masę korzeni

A — kontrola + Zn $^{++}$ 0,5 mg/l, B — IAA 10^{-5} M + Zn $^{++}$ 0,5 mg/l, C — IAA 10^{-5} M, D — 1-tryptofan 0,5 g/l + Zn $^{++}$ 0,5 mg/l, E — 1-tryptofan 0,5 g/l, F — tiamina 0,1 mg/l, G — 1-tryptofan 0,5 g/l + Zn $^{++}$ 0,5 mg/l + tiamina 0,1 mg/l.

Effect of Zn-ions, IAA, 1-tryptophan, and thiamine on the rooting of leafy cuttings of tomato seedlings, and dry weight of the roots.

A — control + Zn $^{++}$ 0,5 mg/l, B — IAA 10^{-5} M + Zn $^{++}$ 0,5 mg/l, C — IAA 10^{-5} M, D — 1-tryptophan 0,5 g/l + Zn $^{++}$ 0,5 mg/l, E — 1-tryptophan 0,5 g/l, F — thiamine 0,1 mg/l, G — 1-tryptophan 0,5 g/l + Zn $^{++}$ 0,5 mg/l + thiamine 0,1 mg/l.

Fot. 3. Ukorzenianie liści pomidorów

The rooting of tomato leafy cuttings

1 — Kontrola (Control), 2 — IAA 10^{-5} M, 3 — tiamina 0,1 mg/l (Thiamin), 4 — 1-tryptofan 0,5 g/l (1-tryptophane), 5 — tryptofan 0,5 g/l + tiamina 0,1 mg/l (1-tryptophane + thiamine).

Doświadczenia powyższe wskazują, że liście pomidorów odcięte od rośliny i umieszczone w roztworach zawierających 1-tryptofan w stężeniu 0,5 g/l wykazują dużą zdolność do tworzenia korzeni, podobnie zresztą jak obserwujemy zakorzenianie liści pomidorów w roztworach IAA. Należy przypuszczać na podstawie badań Skooga (1940), Linka (1943), Tsui (1948), że 1-tryptofan zawarty w pożywce dostając się wraz z prądem transpiracyjnym do liści ulega w nich enzymatycznej przemianie do czynnej auksyny. Rezultatem tego procesu jest intensywne tworzenie korzeni na ogonkach liści pomidorów.

Ważną rolę przy syntezie IAA w liściach pomidorów odgrywają jony Zn. Zgodnie z badaniami Tsui (1948) brak cynku powoduje zahamowanie produkcji tryptofanu stanowiącego materiał wejściowy do produkcji IAA. W naszych doświadczeniach wpływ jonów Zn na zakorzenianie się sadzonek zaznaczył się wyraźnie w roztworach zawierających jony Zn w stężeniu 0,5 mg/l w porównaniu z roztworami pozbawionymi tego pierwiastka (Dośw. II) oraz u liści pomidorów w Dośw. III. Doświadczenia nasze potwierdzają zatem na drodze fizjologicznej biochemiczne doświadczenia Skooga, Tsui i Linka.

Opisane powyżej doświadczenia dały odpowiedź na pytanie, jakie autor postawił na początku doświadczenia, mianowicie czy tryptofan dodany do pożywki wpłynie na powstawanie korzeni na ogonkach liści pomidorów oraz jaki wpływ na te procesy mają jony cynku.

WNIOSKI

1. Jony Zn^{++} w stężeniu 0,5 mg/l przyspieszają tworzenie się korzeni u liści pomidorów.
2. 1-tryptofan zawarty w pożywce w stężeniu 0,5 g/l pobudza ukorzenianie ogonków liściowych pomidorów.

*Katedra Fizjologii Roślin
Uniwersytetu we Wrocławiu*

(Wpłynęło: 5.I.1964)

SUMMARY

The chief purpose of our study was to investigate whether there is a possibility of rooting in leaf cuttings of tomato seedlings by means of 1-tryptophan, and what is the effect of Zn-ions on the process of rooting.

Water cultures of tomato seedlings were raised on Knop's medium. After four weeks there lower leaves from each plant were cut off. The leaf cuttings were immersed into the investigated solutions by their petioles. In our experiments we used a standard Hoaglands medium prepared on water, doubly distilled in glass distillation apparatus.

The medium was supplemented with a solution of microelements (Tsui 1943), given as 1 ml/l of the standard medium. The experiment was carried out in a greenhouse in diffused daylight, and lasted for two weeks. In each treatment of each experiment 15 replications were used. The results are presented as the average number of roots per one leaf of a tomato seedling.

Experiment I.

The experiment consisted of four treatment of which one was the control, and the remaining three contained the following increasing dosages of 1-tryptophan: 0,005 g/l, 0,05 g/l and 0,5 g/l. Diagram 1 presents the number of roots on leaf cuttings of tomato seedlings as percentage of controls. Nine days after the experiment was started we observed root formation on almost all cuttings kept in the nutrient solution supplemented with 0,5 g/l of 1-tryptophan, while in the remaining treatments roots did not appear earlier than after 12—13 days. After 14 days, when the experiment was terminated, big and well developed roots were found only in the treatment with 0,5 g/l of 1-tryptophan. In the remaining treatments the roots were small and considerably less numerous. Photo 1 illustrates the above experiment.

Experiment II.

The experiment was carried out on the same material and under identical conditions, as experiment I, but instead of Hoagland's medium we used solely the solution of microelements. The experiment consisted of four treatments, in which one was the control (without Zn-ions) and the remaining three combinations contained increasing dosages (0.05 mg/l, 0.5 mg/l, 5.0 mg/l) of Zn-ions. The experiment is illustrated by photo 2 and diagram 2, where the number of roots is expressed as percentage of controls. Zn-ions in the concentration of 0.5 mg/l proved to be most efficient. This dosage resulted in a rather intense rooting of the leaf cuttings. The 0.05 mg/l concentration of Zn-ions brought considerably weaker effects, whereas a dosage (5.0 mg/l) ten times the optimal concentration of Zn-ions inhibited the rooting and affected the general appearance of the leaves.

Experiment III.

General conditions and medium were the same as in experiment I, but the solution of microelements was supplemented with an optimal dosage of Zn, i. e. 0.5 mg/l. 1-tryptophan was given in a concentration of 0.5 g/l, IAA in 10^{-5} M and thiamine in 0.1 mg/l. Diagram 3 presents the average number of roots in one leaf of a tomato seedling and the average dry weight calculated also per leaf. From this diagram and from photo 3 we can draw the following conclusions:

1° Both IAA and 1-tryptophan has a positive effect on rooting, whereas the effect of tiamine is rather insignificant.

2° There is a greater number of roots in the treatment with 1-tryptophan, than with IAA, which could be explained by the concentration of IAA being too low.

3° In the treatment with IAA the roots are much longer than in the remaining ones, in the treatment with tryptophan they are distinctly short, especially if 1-tryptophan was combined with tiamine.

4° Results obtained from determining the dry weight show that tryptophan induces an increase of roots volume.

5° In treatments with IAA and tryptophane the absence of Zn affects the number of roots.

6° From direct observations of roots we can state the those kept in IAA solution are strongly elongated and their lateral roots are well developed, while

the roots kept in 1-tryptophan solution are short, unusually thick, and have no lateral roots.

From the above experiment it may be seen that leaf cuttings of tomato seedlings kept in solutions containing 1-tryptophan at a concentration of 0.5 g/l show a great rooting ability. We suppose that the tryptophan contained in the medium is transported to leaves by the transpiratory current and there as a result of enzymatic transformation it becomes an active auxin; in accordance with the investigations of Skoog (1940), Link (1943) and Tsui (1948). This process results in an intense formation of roots on the petioles of tomato leaf cuttings. Zn-ions play an important role in the synthesis of auxin in tomato leaves. Tsui showed that the lack of Zn restrains the production of tryptophan which is the substratum for the synthesis of IAA. In our experiments the effect of Zn-ions on the rooting of leafy cuttings was distinctly pronounced in solutions supplemented with 0.5 mg/l when compared with the solutions deficient in this element (experiment II) and in experiment III. Thus our experiments gave the physiological evidence for biochemical experiments of Skoog, Link and Tsui.

*Department of Plant Physiology
Wrocław University*

LITERATURA

1. Hoagland D. R., 1944, Lectures on the Inorganic Nutrition of Plants. Waltham, Mass USA.
2. Link G. K., Eggers V., 1943, Enhanced auxine activity of tomato tissues in presence of 1-tryptophane, Bot. Gaz. 105: 282—284.
3. Skoog F., 1937, A de-seeded Avena test method for small amounts of auxin and auxin precursor, J. Gen. Physiol. 20: 311—334.
4. Skoog F., 1940, Relationship between zinc and auxin in the growth of higher plants, Am. J. Bot. 27: 939—951.
5. Skoog F., Thimann, K. V., 1940, Enzymatic liberation of auxin from plant tissues, Science 92: 64.
6. Tsui C., 1948, The role of zinc in auxin synthesis in the tomato plant, Am. J. Bot. 35: 172—179.
7. Wildman S. G., Ferri M., Bonner J., 1947, The enzymatic conversion of tryptophan to auxin by spinach leaves, Arch. Biochem. and Biophys. 13: 131—144.
8. Wildman S. G., Bonner J., 1948, Observations on the chemical nature and formation of auxin in the Avena coleoptile, Am. J. Bot. 38: 740—746.