Nowa koncepcja sposobu działania auksyn

(*A new interpretation of the mode of action of auxines*).

ARTUR BER

(Z Zakładu Endokrynologii Akademii Medycznej w Łodzi)

(wpłynęło 16. IX. 49).

Liczne badania doświadczalne mające na celu ustalenie sposobu działania auksyn nie dały dotychczas zupełnie zadowalniającego wyniku. Nim jednak przystąpię do omawiania własnej koncepcji, muszę po krótko zreferować obecnie panujące poglądy. Omówić tu musimy oddzielnie dwie różne sprawy, a mianowicie: działanie auksyn na roślinę jako całość i działanie ich na poszczególne komórki.

Ogólnie powiedzieć można, że auksyny są czynnikiem wzrostowym dla wszystkich narządów roślinnych, działanie ich jednak zależy w znacznym stopniu od użytej dawki. Jeśli dawkę czynną zwiększać, to uzyskuje się wreszcie stężenie, w którym auksyny działają nie pobudzająco, a hamująco. Korzeń i pąki boczne są znacznie wrażliwsze niż pęd główny, toteż ulegają pobudzeniu już pod wpływem bardzo małych dawek czynników wzrostowych (B o y s e n - J e n s e n⁷, G e i g e r - H u b e r t i B u r l e t¹¹). Te ilości auksyn jakie występują w roślinach w warunkach fizjologicznych działają już na korzenie i pąki boczne hamująco. Usunięcie wierzchołka wzrostu, jako głównego zbiornika auksyn, powoduje zahamowanie rozwoju pędu głównego, nieznaczne jednak ilości auksyn pozostające w takim przypadku w innych częściach rośliny powodują silny rozwój pędów bocznych oraz korzenia. Podobnie usunięcie wierzchołka korzenia pobudza jego wzrost, co pozostaje w zgodzie ze stwierdzoną produkcją auksyny w tym miejscu. Mówiąc o wpływie auksyny na korzenie, należy jeszcze zaznaczyć, że duże dawki auksyn pobudzają powstawanie za-

wiązków korzeni bocznych, ale hamują ich rozwój, male natomiast pobudzają rozwój korzeni.

Na jeszcze jedną rzecz należy zwrócić uwagę. Otóż strefa najsilniejszego wzrostu zarówno łodygi jak i korzenia znajduje się nie w samym wierzchołku tj. tam, gdzie produkcja auksyn jest największa, a nieco niżej. Tłumaczy się to zależnością wzrostu, nie tylko od obecności auksyny, ale i drugiego, bliżej nieokreślonego czynnika, który Went i Thimann²⁰ nazywają „food factor“, zaznaczając równocześnie, iż określenie to użyte jest w znaczeniu bardzo szerokim i że czynnik ten raczej ma charakter hormonu niż właściwego związku odżywczego.

Opierając się na teorii działania dwu czynników wzrostowych wytłumaczyć możemy dlaczego u roślin trawiastych spotykamy dwa typy morfologiczne. Prawdopodobnie te, które wytwarzają dużo auksyn, a mało drugiego czynnika, mają krótkie koleoptyle, a długie mezokotyle (typ *Setaria*). Odwrotne zjawisko spotykamy, gdy produkcja auksyn jest mała, a czynnika dodatkowego dużo (typ *Avena*).

Jeśli chodzi o rozwój pędów bocznych, który ulega zahamowaniu pod wpływem auksyny pochodzącej z pędu głównego, to tłumaczy się to zjawisko różnorodnie, a mianowicie: 1) że ośrodek wytwarzania auksyn „przyciąga“ do siebie czynnik dodatkowy konieczny dla wzrostu wytwarzany w korzeniu względnie w liściach, który wędruje wobec tego zawsze tam tylko, gdzie w danym momencie wytwarzanie auksyn jest najintensywniejsze tj. do wierzchołka wzrostu łodygi, a omija pędy boczne, 2) że auksyny wnikaające do pędu od strony jego podstawy (przeciw polaryzacji) działają hamująco na wzrost, podczas gdy wędrujące od strony wierzchołka (zgodnie z polaryzacją) pobudzają (Le Fanu¹⁰), 3) że duże ilości auksyn pochodzące z wierzchołka pędu głównego hamują rozwój pędów bocznych, podczas gdy małe ilości wytwarzane w ich własnym wierzchołku mogą je pobudzać.

Przechodzę teraz z kolei do omówienia wpływu auksyn na wzrost poszczególnej komórki roślinnej. Ogólnie przyjmuje się, że wpływ auksyn uwidacznia się tu przede wszystkim w zwiększaniu za pośrednictwem wewnątrzkomórkowych procesów enzymatycznych plastyczności i rozciągliwości błony komórkowej, która składa się przeważnie z drobin wysokocząsteczkowych węglowodanów, przy czym w błonach młodych przeważają pektyny i hemiceluloza, w starszych zaś celuloza. Łańcuchy celulozy skupione w wiązki ułożone są w mięksiszu przeważnie prostopadle do długiej osi komórki, formując tzw. micelle (w skórcie leżą one raczej równolegle do długiej

osi komórki). W wielu miejscach przylegają one do siebie, w innych się krzyżują, tworząc „szkielet“ błony komórkowej. Przestrzenie między micellami wypełniają przeważnie substancje pektynowe, względnie niskocząsteczkowe produkty polimeryzacji glikozy lub galaktozy. Pod wpływem czynników wzrostowych związki te chłoną wybitnie wodę, co powoduje ich pęcznienie i w następstwie rozsuwanie micelli. W miarę odsuwania się micelli od siebie następuje nowy proces, polegający na nowotworzeniu się micelli, które wnikać do rozszerzonych przestrzeni międzymicellarnych, utrwalać w ten sposób nową strukturę błony komórkowej i uniemożliwiać cofanie się dokonanych już zmian (B o n n e r⁵). W ten sposób błona młoda rośnie na zasadzie intussuscepcji, w odróżnieniu od błony starej, która rośnie głównie wskutek nakładania nowych warstw na stare (apozycja), a to dlatego, iż jej substancja międzymicellarna składa się z większych cząsteczek spolimeryzowanych węglowodanów nie reagujących już na czynniki wzrostowe. Jeśli rozłożymy pektynazą te związki na nieco prostsze, uzyskamy znów pod wpływem auksyn wzrost błony komórkowej drogą intussuscepcji.

Przytoczona powyżej koncepcja przyjmuje, że wzrost komórki roślinnej zależy od wpływu auksyn na błonę komórkową i że protoplazma komórkowa biernie podąża za zmianami zachodzącymi w błonie. Teoria taka w żadnym razie nie może zadowolić biologa (porównaj Strugger¹⁷, Fitting⁹, Chołodny⁸, Gessner¹³, Bonner⁵, Koningsberg¹⁴, Veldstra¹⁹). Wiemy przecież, że błona komórkowa stanowi jedynie jeden z narządów wytwarzanych przez żywą protoplazmę i trudno przyjąć, że zmiany tego tworzą mogą decydować o wzroście komórki bez udziału żywej zarodki. Rośliny stanowiłyby pod tym względem swoisty wyjątek w ogólnej zasadzie biologicznej, bowiem począwszy od wirusów, a skończywszy na komórce zwierzęcej, wzrost komórki, zarówno jak i jej mnożenie się, są wynikiem procesów zachodzących w zarodku. Procesy te w sposób decydujący zależą od przyrostu białka i związane są ściśle z obecnością kwasów nukleinowych, które być może stanowią rezerwar energetyczny dla autosyntezy białka. Wydaje się więc nieprawdopodobne, aby podobne procesy nie odgrywały decydującej roli i we wzroście komórki roślinnej, który uzależnia się dotychczas jedynie od zmian zachodzących w produktach polimeryzacji węglowodanów.

Badania własne (1, 2, 3) przeprowadzone w celu stwierdzenia ewentualnego wpływu kwasów nukleinowych na wzrost komórki roślinnej wykazały, że niektóre barbituraty powodują u grochu, za-

leżnie od dawki, bądź zupełne zahamowanie kiełkowania, bądź zahamowanie wzrostu łodygi, co prowadzi albo do powstania form krzaczkowatych, albo też do rozwoju jednego lub kilku pędów bocznych. Wzrost korzenia jest czasem zwiększony, zahamowaniu natomiast ulega tworzenie się korzeni bocznych. Obraz ten odpowiada zupełnie temu, jakiego spodziewałyby się należało przy unieczynnieniu lub zmniejszeniu produkcji auksyn w pędzie głównym i korzeniu. Podobny obraz uzyskuje się pod wpływem tiouracylu i w mniejszym stopniu pod wpływem metylotiouracylu. U gorczycy, rzeżuchy, owsa i gryki niektóre barbituraty zależnie od dawki uniemożliwiają wzrost lub hamują rozwój łodyg i włośników korzeniowych, pobudzając równocześnie rozwój korzenia głównego. Szczególnie jednak tiouracyl okazał się czynnikiem hamującym wybitnie rozwój łodyg i korzeni u tych roślin. Działanie to znieść można w sposób swoisty tylko równoczesnym podaniem uracylu, natomiast stosowanie różnego rodzaju auksyn w stężeniu, które wybitnie pobudza rozwój tych roślin nie może spowodować wzrostu w obecności tiouracylu. Biorąc pod uwagę podobieństwo budowy przestrzennej kwasu barbiturowego, tiouracylu i uracylu, przyjąć należy, że mamy tu do czynienia ze swoistym podstawianiem się tiouracylu lub kwasu barbiturowego w miejsce uracylu do jakiegoś większego kompleksu, najprawdopodobniej do kwasu nukleinowego, wskutek czego następuje jego unieczynnienie. Za koncepcją tą przemawiają jeszcze i następujące obserwacje: 4-, 5- lub 6-metylo-2-tiouracyl bez porównania słabiej hamuje rozwój roślin niż tiouracyl. Z drugiej strony tymina, czyli 5-metylouracyl nie jest w stanie znieść zahamowania rozwoju roślin spowodowanego uracylem. Obie te obserwacje świadczą, iż obecność dodatkowej grupy chemicznej przy węglu 4, 5 lub 6 stanowi przeszkodę dla działania biologicznego, co wytłumaczyć można sobie tak, że grupa ta utrudnia włączenie tych związków do jakiegoś większego zespołu. Nie jest wykluczone, że poszczególne barbituraty posiadające różne boczne grupy chemiczne w pozycji 5 wykazują różne działanie w zależności od zdolności odszczepiania tych grup, co dopiero umożliwia ich włączenie do właściwego czynnego kompleksu tj. do kwasu nukleinowego. Nic dziwnego, że i czysty kwas nukleinowy nie jest w stanie znieść hamującego działania tiouracylu. Jest to bowiem zbyt duża cząsteczka, która nie może ulec w całości włączeniu do nukleoproteidów rośliny.

Z przeprowadzonych doświadczeń wynika, że kwasy nukleinowe zawarte w komórce roślinnej mogą ulec zablokowaniu przez związki chemiczne o budowie podobnej do uracylu, ale różniące się

tym, że albo w pozycji 2 lub 6 mają atomy siarki, a nie tlenu, albo brak im podwójnego wiązania między węglami 4 i 5, przy czym warunkiem koniecznym jest nadto nieobecność (lub łatwa odszczepialność) w pozycji 4, 5 lub 6 grup bocznych, zwłaszcza metylowej, utrudniających widocznie włączanie się tych związków do drobin kwasu nukleinowego. Jeśli związek o opisanych własnościach ulegnie włączeniu do kwasu nukleinowego, następuje jego unieczynnienie, *z chwilą zaś unieczynnienia kwasu nukleinowego auksyny tracą zdolność pobudzania wzrostu roślin*. W ten jedynie sposób dają się wyjaśnić spostrzeżone zjawiska. Zupelne zahamowanie czynności kwasu nukleinowego hamuje zupełnie rozwój grochu, owsa, gorczycy, rzeżuchy i gryki. Zahamowanie niezupełne powoduje wzmożony wzrost korzenia głównego, zahamowanie tworzenia zawiązków korzeni bocznych, zahamowanie rozwoju łodygi i włośników korzeniowych, a nadto u grochu rozwój pędów bocznych. Zachodzi oczywiście pytanie dlaczego te same dawki tiouracylu czy barbituratów, które hamują rozwój pędu głównego nie przeszkadzają rozwojowi pędów bocznych i korzenia, a więc nie przeszkadzają działaniu auksyny w nich wytwarzanej. Można sobie to wytłumaczyć w ten sposób, że dla wzrostu tych części roślin konieczne jest optymalne niskie stężenie auksyn. Uzyskać je można albo zmniejszając ilość działającej auksyny *przy dostatecznie dużej ilości czynnego kwasu nukleinowego*, albo zmniejszając ilość czynnego kwasu nukleinowego, co hamuje z kolei czynność auksyny, a więc umożliwia działanie tylko minimalnej jej części.

Dalsze badania będą musiały wyjaśnić bliżej zależność zachodzącą między działaniem auksyn a kwasem nukleinowym, w szczególności udzielić muszą odpowiedzi na pytanie, czy kwasy nukleinowe identyfikować należy z tzw. „food factor“, czy też auksyny działają na kwasy nukleinowe zawarte w poszczególnych komórkach. Za tą ostatnią koncepcją przemawiają obserwacje Thimanna i Bonnera¹⁸ nad wzrostem koleoptylu owsa, Geiger-Hubera i Burleta¹¹ nad wzrostem izolowanych korzeni kukurydzy oraz Geiger-Hubera i panny Sutter¹² nad hypokotylami *Cucumis sativus*. Autorzy ci stwierdzili, że w rosnących komórkach znajdować się muszą *określone ośrodki reakcji* na działanie auksyn. Warto przytoczyć tu dwa zdania z pracy Geiger-Hubera i panny Sutter¹²: „Da die Zahl der beim Grenzwert aufgenommenen Heteroauxinmoleküle nicht ausreicht, um die Oberfläche der Zelle zwischen Protoplasma und wachsender Zellwand zu bedecken, selbst wenn man nur die geometrisch bestimmte Oberfläche der Zelle be-

trachtet und die in Wirklichkeit vielfach grössere Oberfläche des Protoplasmas unberücksichtigt lässt, und da auch eine direkte, wachstumsähnliche Einwirkung des Heteroauxins auf die Zellwand ohne Mithilfe des Protoplasmas nach den bis jetzt gemachten Erfahrungen unwahrscheinlich ist, so müssen wohl in den wachsenden Zellen auch des Hypokotyls bestimmte, begrenzte *Reaktionsorte* vorhanden sein, die wir zweifellos in dem retikulär aufgebauten und dadurch besonders geeigneten System des Protoplasmas zu suchen haben und an denen dann die Verdichtung des Wuchsstoffs erfolgt. Tatsächlich zeigen auch die von uns festgestellten Beziehungen zwischen Menge des aufgenommenen Wuchsstoffs und Grad der Wachstumsförderung, dass der *wirkende Anteil* des aufgenommenen Wuchsstoffs *nicht frei in den Zellen gelöst* ist, sondern offenbar Oberflächen (Reaktionsorte), zu denen er eine ungeheure Affinität haben muss (Wirkungshalbwert bei etwa $2 \cdot 10^{-6}$ molar, $K_m = 500\,000!$), besetzt und so auch bei geringen Aussenkonzentrationen jene hohe Reaktionsfähigkeit erzielt wird, die jeden Untersucher immer wieder in Erstaunen setzt“. Podobnie Went i Thimann²⁰ (str. 129) stwierdzą, że auksyna dostająca się do wnętrza komórki łączy się tam „with some cell constituent“, nie są jednak w stanie określić o jaki składnik komórki chodzi. Mam wrażenie, że w związku z moimi doświadczeniami przypuszczać można, że miejscami tymi, względnie związkami których obecność autorzy teoretycznie postulują, są nukleoproteidy komórki.

Wspomnieć jeszcze trzeba, że z obliczeń przeprowadzonych przez Korczewskiego¹⁵, Frey-Wysslinga¹⁰, Blanka⁴ i Wirtha²¹ wynika, iż wzrost komórki roślinnej związany jest nie tylko z przyłączaniem wody i narastaniem zawartości węglowodanów w komórce, ale i ze zwiększaniem się-wybitnym zawartości ciał azotowych i zarodzi, co zdaje się również potwierdzać nasze wnioski.

Ostatecznie zatem mechanizm działania auksyn należy sobie wyobrazić w sposób następujący: Auksyny ulegają związaniu z nukleoproteidami komórkowymi, pobudzając je do wytwarzania białka zarodzi, co z kolei przez wiązanie elektrolitów i przyciąganie wody zwiększa objętość komórki, rozciąga jej błonę i wtórnie powoduje nowotworzenie się micelli. (Nie jest zresztą wykluczone, że auksyny mogą niezależnie od wpływu na nukleoproteidy działać i bezpośrednio na błonę komórkową). Układ micelli błony komórkowej sprawia, że komórka rośnie tylko w określonym kierunku. Wiązanie się auksyny z nukleoproteidami ma zapewne charakter reakcji stoi-

chiometrycznej (W e n t i T h i m a n n²⁰, str. 246), co tłumaczy nam fakt, że efekt działania auksyn jest w pewnych granicach stężeń proporcjonalny do ich ilości.

Być może, że materiał do wytwarzania nukleoproteidów lub białka dostarczany jest z endospermy lub korzenia w postaci tzw. „food factor“. Różne części roślin ulegają pobudzeniu pod wpływem określonych dawek auksyny w zależności od obecności odpowiednich optymalnych ilości kwasu nukleinowego, co w rezultacie powoduje rozwój bądź łodygi, bądź pędów bocznych, oraz korzenia głównego względnie korzeni bocznych.

Zestawienie:

Wykazano w sposób pośredni, stosując barbituraty i tiouracyl jako antagonistów uracylu, że auksyny działają za pośrednictwem nukleoproteidów, co wskazuje na jednolitość mechanizmu powodującego wzrost wszelkiej materii żywej — roślin, mikroorganizmów i zwierząt.

PIŚMIENICTWO

1. B e r A. — O wpływie barbituratów na wzrost roślin. Acta Soc. Bot. Pol. XX, 1, 1950.
2. B e r A. — O wpływie tiouracylu na wzrost roślin. ibid. XX, 1, 131, 1950.
3. B e r A. — O swoistym antagonizmie między tiouracylem a uracylem. ibid. XX, 1, 137, 1950.
4. B l a n k F. und F r e y - W y s s l i n g A. — Protoplasmawachstum und Stickstoffwanderung in der Koleoptile von *Zea Mays*. Ber. Schweiz. Bot. Ges. 51, 116, 1941.
5. B o n n e r J. — The action of the plant growth hormone. J. Gen. Phys. 17, 63 1933.
6. B o n n e r J. — Zum Mechanismus der Zellstreckung auf Grund der Mitterlechner'schen Lehre. Jahrb. wiss. Bot. 82, 377, 1936.
7. B o y s e n - J e n s e n P. — Ueber die Verteilung des Wuchsstoffes in Keimstengeln und Wurzeln während der phototropischen und geotropischen Krümmung. Kgl. Danske Videnskab. Selskab. Biol. Meddelelser 13, 1, 1936.
8. C h o l o d n y N. — Zur Physiologie der pflanzlichen Wuchshormone. Planta 14, 207, 1931.
9. F i t t i n g H. — Die Hormone als physiologische Reizstoffe. Biol. Zbl. 56, 69, 1936.
10. F r e y - W y s s l i n g A. — Das Streckungswachstum der pflanzlichen Zellen. Arch. Klaus. Stift. Festband Ernst 381, 1945.
11. G e i g e r - H u b e r M. und B u r l e t E. — Ueber den hormonalen Einfluss der β -Indolylessigsäure auf das Wachstum isolierter Wurzeln in keimfreier Organkultur. Jahrb. wiss. Bot. 84, 233, 1936.

12. Geiger-Huber und Sutter E. — Die Aufnahme synthetischer Wuchsstoffe durch die Pflanze. Verhandl. der Schweiz. Naturforsch. Gesellschaft Schaffhausen **121**, 1943.
13. Gessner F. — Wachstum und Wanddehnbarkeit am Helianthus-Hypokotyl. Jahrb. wiss. Bot. **80**, 143, 1934.
14. Koningsberger V. J. — Over de primaire werking van groeistoffen van het auxinetype. Mededel. van de Kon. Vlaamse Acad. van België **9**, 13 van 8. 11. 1947.
15. Korczewski M. — Odczyt w Tow. Przyrodników im. Kopernika, Łódź 1948.
16. Le Fanu B. — Auxin and correlative inhibition. New Phytol. **35**, 205, 1936.
17. Strugger S. — Zur protoplasmatischen Kausalanalyse des Streckungswachstums. Jahrb. wiss. Bot. **79**, 406, 1934.
18. Thimann K. V. and Bonner J. — The mechanism of the action of growth hormones of plants. Proc. Roy. Soc. London (B) **113**, 126, 1933.
19. Veidstra H. — Researches on plant growth substances. Contemplations on place and mechanism of the action of the growth substances. Enzymologia **11**, 137, 1944.
20. Went F. W. and Thimann K. V. — Phytohormones. The Macmillan Co N. Y. 1945.
21. Wirth P. — Membranwachstum während der Zellstreckung Diss. Eidg. Techn. Hochsch. Zürich 1946.

Szczegółowsze dane o działaniu auksyn znaleźć można w:

1. Boysen-Jensen P. — Die Wuchsstofftheorie. Verl. G. Fischer Jena 1935.
2. Otte Karola — Die Wuchsstoffe im Leben der höheren Pflanze. Verl. F. Vieweg & Sohn Braunschweig 1937.
3. Schlenker G. — Die Wuchsstoffe der Pflanzen. Verl. J. F. Lehmann München — Berlin 1937.
4. Went F. W. and Thimann K. V. — Phytohormones. The Macmillan Co. N. Y. 1945.

Już po oddaniu niniejszej pracy do druku znalazłem w J. of Bact. 50, 2, 237, 1945 doniesienie F. B. Strandkova i O. Wyss pt. Pyrimidine analogs in bacterial nutrition, w którym autorzy podają wyniki badań nad *E. Coli* i *Laetobac. casei*. U tych drobnoustrojów tiouracyl hamuje wzrost, a uracyl niweczy to zahamowanie. Badaczom tym należy zatem przyznać pierwszeństwo odkrycia antagonizmu między uracylem a tiouracylem.

W Nature 164, 4158, 63, 1949 W. Trotter ogłosił pracę pt. Effect of thiouracil on the germination of cress seeds, w której opisuje hamujące działanie tiouracylu na kiełkowanie rzeżuchy i antagonistyczne działanie uracylu w stosunku do tiouracylu, nie porusza jednak sprawy działania auksyn. Autor ten nie znał pracy mojej pt. Nowa koncepcja sposobu działania auksyn (Acta Biol. Exp. 15 Suppl. 7, 1949), a artykuł mój pt. Auxine und Nucleinsäure (Experientia 5, 11, 455, 1949) ukazał się w kilka miesięcy później, toteż wnioski jego, jako samodzielne, a całkowicie zgodne z moimi, potwierdzają w pełni opisaną koncepcję.