Wpływ kinetyny na stopień uwodnienia i zawartość azotu całkowitego u niektórych roślin

The influence of kinetin on the hydration and nitrogen content of some plants

W. MACIEJEWSKA-POTAPCZYKOWA i Z. KELLER

WSTĘP

Spośród szeregu substancji wzrostowych odkrytych w ostatnich latach szczególne zainteresowanie wzbudziły związki nazwane kininami. Substancje te stanowią pod względem chemicznym grupę niejednorodną, ale wszystkie charakteryzują się wielką aktywnością fizjologiczną jako stymulatory podziałów komórek roślinnych.

Wśród nich szczególną intensywnością działania wyróżniają się niektóre pochodne adeniny typu puryna — NH — R, jak np. furfurylobenzylo, fenylo — aminopuryny (Skinner, Schive 1955), a przede wszystkim tzw. kinetyna wyizolowana w r. 1955 przez Millera i Skooga jako produkt częściowego rozpadu kwasu dezoksyrybonukleinowego i zidentyfikowana jako pochodna adeniny: furfurylometyloaminopuryna. Związek ten jest potężnym stymulatorem podziałów komórek roślinnych (Skoog, Miller, Skinner, Schive).

Od momentu ukazania się pierwszych publikacji o kinetynie oraz opracowania metod jej otrzymywania na drodze syntezy (Hall, de Roppe, Bullock, Hand, Stockstad, a w Polsce Supniewski) substancja ta wzbudziła ogromne zainteresowanie w pracowniach biologicznych.

Okazało się przy tym, że reakcja komórek roślinnych i zwierzęcych na kinetynę i inne kininy jest różna w tym sensie, że niektóre kininy stymulując cytokinę u roślin stanowią jednocześnie czynniki hamujące podziały komórek zwierzęcych (Ham, Lettré, Hampton).

Jeśli chodzi o dotychczasowe badania na materiale roślinnym, to ustalono, że kinetyna w obecności auksyny jest czynnikiem stymulującym cytokinę w wycinkach łodygi tytoniu hodowanych *in vitro* (Skoog,

Miller i Skoog 1955). Związek ten stymuluje także wzrost siewek tytoniu i kiełkowanie nasion sałaty (Miller, Skoog 1956). Ostatnio Kurz i Kummerow (1957) stwierdzili, że kinetyna jest potężnym czynnikiem przerywającym okres spoczynkowy *Hydrocharis*.

W Zakładzie Biochemii Uniwersytetu Łódzkiego podjęto również badania nad kinetyną ze względu na jej związek z substancjami nukleinowymi stanowiącymi od wielu lat przedmiot zainteresowań naszego laboratorium.

Nasze prace wstępne rozszerzyły zakres dotychczasowych badań nad kinetyną przez wprowadzenie nowych, łatwych testów roślinnych (Dmochowski, Potapczykowa, Sempłńska 1957) i nowych metod ilościowych badań chemicznych nad tym związkiem (Sempłńska, Potapczykowa, Dmochowski 1957).

Ponieważ efekty wywoływane przez kinetynę są dość różnorodne: stymulacja kiełkowania nasion i wzrostu siewek (Miller i Skoog 1956), powstawanie pąków (Miller, Skoog 1956, Skinner i Schive 1955), powstawanie tkanki kallusowej (Skoog 1955, Dmochowski 1957), rozrost plechy wątrobowców (Dmochowski 1957), przeto celem następnej naszej pracy (Olszewska, Potapczykowa, Sempłńska 1957) było zbadanie, czy kinetyna stymuluje jedynie rozmnażanie komórek, czy też podobnie jak auksyna może powodować ich rozrost. Stwierdziliśmy, że kinetyna jest nie tylko czynnikiem zwiększającym ilość podziałów komórkowych, ale może ona również wywoływać hipertrofię komórek tkanki kallusowej.

Wyniki te stanowią dla nas punkt wyjścia do badań zmierzających do pogłębienia znajomości mechanizmu działania kinetyny, które to zagadnienie jest jeszcze dotychczas prawie nie opracowane.

Poza publikacjami: Millera (1956) oraz Scotta i Livermana (1956), którzy stwierdzają pewne podobieństwo stymulującego działania kinetyny, światła czerwonego i związków kobaltu na wzrost blaszek liściowych oraz hypokotyli fasoli, i pracami Skooga (1955), Roppa (1956), Wicksona i Thimmana (1956), którzy wykazali, że kinetyna jest szczególnie aktywna w obecności kwasu β -indolooctowego, brak w literaturze danych dotyczących mechanizmu działania kinetyny oraz jej współdziałania z kwasem β -indolooctowym.

Jeśli chodzi o wzrost roślin i udział substancji wzrostowych w tym procesie, to wyróżniamy dwie fazy wzrostu: wzrost embrionalny, który charakteryzuje się intensywnym podziałem komórek tkanek merystematycznych i przyrostem żywej materii, oraz wzrost wydłużeniowy, polegający na zwiększaniu się objętości poszczególnych komórek, co wiąże się ze zwiększeniem ilości soku komórkowego, a więc głównie wody. Za

stymulatory wzrostu embrionalnego uważa się substancje z grupy biosu, czyli związki o charakterze witamin, za stymulatory zaś wzrostu wydłużeniowego auksyny, spośród których najwybitniejszą rolę odgrywa kwas β -indolooctowy.

Ponieważ przez długi czas utrzymywał się pogląd, że przyrost substancji żywej związany jest ze wzrostem embrionalnym, zaś wzrost samego protoplastu polega głównie na powiększaniu się zapasu wody w wodniczku, przeto mechanizm działania auksyn badano właśnie pod kątem ich roli w procesie pobierania wody przez rosnące komórki oraz wzrostu błony komórkowej (A u d u s 1954).

Dopiero prace B l a n k a (1940, 1944), B l a n k a i F r e y - W y s s l i n g a (1941), Z a j c e w e j (1951), a w Polsce K o r c z e w s k i e g o (1948) wykazały, że wzrost komórki roślinnej związany jest nie tylko ze zwiększeniem uwodnienia, ale również ze zwiększeniem się ilości plazmy. Pomiary grubości warstewki plazmy w oddzielnych komórkach miękiszowych wydłużających się koleoptyli kukurydzy wykazały obok zwiększenia rozmiarów wodniczek także znaczny przyrost objętości plazmy. Okazało się również, że w trakcie wzrostu odkładają się w plazmie substancje białkowe. Analizy bowiem wykazały prawie 10-krotne zwiększenie azotu protoplazmy komórek koleoptyli w porównaniu z zarodkiem. Przyrost ten zachodził stopniowo we wszystkich fazach wydłużania, a zawartość azotu białkowego wzrastała także wówczas, gdy po osiągnięciu przez koleoptyle długości około 26 mm podziały komórkowe już nie zachodziły.

W a n n e r (1950) badając stopniowy wzrost zawartości azotu w komórkach koniuszków korzeni cebuli (badania te były przeprowadzone 4—6 razy w okresie wegetacyjnym rośliny) stwierdził największy jego przyrost w kulminacyjnym punkcie wydłużania, przy jednoczesnym maksymalnym natężeniu oddychania.

Również u korzeni zbóż w trakcie ich wydłużania się B r o w n i B r o a d b e n t (1950) stwierdzili syntezę białka.

Wyniki pracy A v e r y i E n g e l a (1954), którzy badali ilość azotu całkowitego przypadającą na komórkę jako podstawową jednostkę żywą, także wskazują na to, że przyrost azotu zachodzi nie tylko w fazie podziałów komórkowych (choć wtedy jest największy), ale również i w fazie wydłużania.

Jak wynika z przytoczonych doświadczeń, wzrost wydłużeniowy jest nie tylko związany ze wzrostem uwodnienia protoplastu, ale również z tworzeniem się żywej materii. O wpływie substancji wzrostowych typu auksyn na ten proces wiemy dotychczas bardzo niewiele. Możemy jednak przypuszczać, że jeśli odgrywają one niekiedy wielką rolę w fazie wzrostu embrionalnego, jak np. przy tworzeniu się komórek kambium czy też powstawaniu korzeni bocznych, to muszą działać również i na wzrost

protoplastu w fazie wydłużania. Typowym przykładem tego, że auksyny mogą wywoływać zarówno podziały, jak i rozrost komórek, jest tworzenie się tkanki kallusowej.

Rola więc substancji wzrostowych typu auksyn we wzroście wydłużeniowym nie różni się prawdopodobnie w sposób zasadniczy od roli, którą spełniają one przy wzroście merystematycznym, a różnice, które mogą przy tym zachodzić, są raczej charakteru ilościowego. Przy wzroście wydłużeniowym na pierwszy plan wysuwa się zwiększenie długości komórek związane ze wzrostem uwodnienia, podczas gdy przyrost ilości plazmy mniej rzuca się w oczy, przy podziałach zaś komórek dzieje się odwrotnie. W każdym jednakże przypadku zachodzą oba procesy (Söding 1952). Wobec tego przy badaniu znaczenia jakichkolwiek czynników wzrostowych dla roślin wydaje się celowe badanie ich wpływu na intensywność tych dwu podstawowych dla wzrostu procesów: wzrostu uwodnienia i przyrostu plazmy.

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu kinetyny na wzrost uwodnienia i przyrost plazmy (przez oznaczenie azotu całkowitego, będącego według Avery i Engela wskaźnikiem ilości protoplazmy) u niektórych roślin. Rozpatrywano przy tym aktywność kinetyny w stymulowaniu obu tych procesów w porównaniu z aktywnością: 1) kwasu β -indolooctowego, 2) adeniny ze względu na szereg danych w literaturze o zasadach purynowych i pirymidynowych jako czynnikach wzrostowych roślin (Sabinin i Połozowa 1957), szczególnie zaś o adeninie jako stymulatorze wzrostu blaszek liściowych (Bonner, Haagen-Smit 1939) oraz czynnika kaulogennym (Skoog 1955 oraz Galston i Hand cytowani przez Wicksona), 3) mieszaniny kinetyny i kwasu β -indolooctowego (według danych Millera i Skooga 1956, Skinnera i Shive 1955 oraz de Roppa 1956 kinetyna jest szczególnie aktywna w obecności kwasu β -indolooctowego).

MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Materiał do badań nad działaniem omawianych substancji wzrostowych stanowiły etiolowane epikotyle grochu, a więc części rośliny intensywnie rosnące i bardzo wrażliwe na działanie stymulatorów wzrostu oraz plechy wątrobowców *Riccia fluitans*, które w poprzednich naszych doświadczeniach (Dmochowski, Potapczykowa, Sempicka 1957) silnie reagowały na działanie kinetyny szybkim rozrostem i rozgałęzieniem się.

Pomiarów epikotyli grochu dokonano noniusem. Zawartość wody w badanym materiale określono z różnicy pomiędzy świeżą i suchą masą.

Zawartość azotu całkowitego oznaczono metodą Kjeldahla opisaną przez Biełozjerskiego. Próbki materiału roślinnego, wysuszone do stałej wagi (o odważkach 7—25 mg), spalano w stężonym kwasie siarkowym w celu uwolnienia amoniaku z połączeń organicznych i destylowano je w aparacie Markhama (Markham 1942), który stanowi modyfikację powszechnie używanego do mikrooznaczeń azotu aparatu Parnas-Wagnera. Aparat Markhama odznacza się prostotą oraz bardzo zredukowaną ilością połączeń, co zapewnia mu szczelność zapobiegającą stratom amoniaku podczas destylacji. Przy pomocy tego aparatu można przeprowadzać analizy próbek zawierających 0,02—0,15 mg N (przy zawartości 0,02 mg N błąd w oznaczeniach dochodzi do 1%).

Uwolniony w czasie destylacji amoniak chwymano do odbieralnika, zawierającego odczynnik Tashiro (Hindsberg 1951). Odczynnik ten składa się z mieszaniny 0,1% roztworów czerwieni metylowej i błękitu metylenowego w 60% alkoholu etylowym w stosunku 6:1 oraz kwasu bornego użytego w ilości 10 g na 1000 ml wody.

Podczas destylacji amoniak jako zasada wiąże się z bardzo słabym kwasem bornym powodując zmianę barwy odczynnika z liliowej na zieloną. Po ukończeniu destylacji (trwającej w naszych badaniach około 15 minut) badany roztwór miareczkowano 0,02 n HCl. Amoniak zostaje wówczas związany z HCl, a odczynnik wraca do barwy wyjściowej. Ponieważ odczynnik Taschiro jest indykátorem ogromnie czułym, zmieniającym zabarwienie w obecności zaledwie śladów NH_3 , a przejście jego barwy z fioletowej w zieloną jest łatwo uchwytnie, okazał się on bardzo odpowiedni do naszych oznaczeń. Wydzielanie się bowiem amoniaku z destylowanych próbek rozpoczynało się zwykle po ok. 15 minutach i dlatego uchwycenie początku destylacji było momentem bardzo ważnym. Wykonywano po 3—5 równoległych oznaczeń, a średnia z uzyskanych wartości stanowiła wynik dla danej serii doświadczeń.

OPIS DOŚWIADCZEŃ

Nasiona grochu *Pisum sativum* umieszczano na wilgotnej bibule w ciemności. Kiełkowały one w naszych doświadczeniach po upływie 2—3 dni. Po 7—8 dniach łodyżki siewek osiągały długość ok. 3 cm. Wówczas wycinano z nich epikotyle o długości 1 cm. W części tych wycinków oznaczano zawartość wody i azotu całkowitego. Resztę wycinków umieszczano (po 15) w szalkach Petriego napełnionych pożywką Knopa z dodatkiem mikroelementów A-Z oraz sacharozy w ilości 1 g na 100 ml pożywki.

Do szalek dodawano:

1. Kinetyny (używano kinetyny zsyntetyzowanej przez prof. Supniewskiego i Bany) do stężenia w pożywce 10^{-7} ‰
2. kwasu β -indolooctowego do stężenia w pożywce 10^{-7} ‰
3. adeniny (w postaci siarczanu adeniny) do stężenia w pożywce 10^{-7} ‰
4. kinetyny i kwasu β -indolooctowego do stężenia każdego ze składników 10^{-7} ‰
5. kontrola (bez dodatku substancji wzrostowych)

Ponieważ wycinki pływały po powierzchni roztworów, dostęp tlenu był zapewniony. Zakryte szalki umieszczano w ciemności.

Po 48 godzinach doświadczenia:

1. mierzono przyrost długości wycinków epikotyli kontrolnych i doświadczalnych,
2. badano zmiany w uwodnieniu wycinków,
3. przeprowadzano analizy zawartości azotu całkowitego w badanych wycinkach.

Tabela 1 — Table 1

Przyrost długości wycinków epikotyli kontrolnych i stymulowanych: 1) adeniną 2) kwasem β -indolooctowym 3) kinetyną 4) mieszaniną kinetyny i kwasu β -indolooctowego w stosunku do długości pierwotnych 10 mm

The increase of the length of epicotyls fragments (control material and material stimulated by: 1) adenine 2) β -indoleacetic acid 3) kinetin 4) the mixture of kinetin and β -indoleacetic acid) relating to 10 mm of starting length

Doświadczenie I — Experiment I

Epikotyle grochu: Epicotyls of the peas:	Długość wycinków w mm The length of the fragments (mm)					Śred- nio Ave- rage	Przyrost długości w % Length in- crease (%)
kontrolnego (epikotyle przetrzymywane przez 48 godzin na pożywce) controls	10,3	10,5	10,5	10,4	10,4		4
stymulowanego adeniną stimulated by adenine	10,6	10,6	10,5	10,4	10,5		5
stymulowanego kwasem β -indolooctowym stimulated by β -indoleacetic acid	11,4	11,4	11,4	11,5	11,4		14
stymulowanego kinetyną stimulated by kinetin	11,1	11,0	11,2	11,2	11,1		11
stymulowanego kinetyną i kwasem β -indolooctowym stimulated by kinetin and β -indoleacetic acid	11,8	11,9	12	11,8	11,9		19

Tabela 1 — Table 1 (c. d.)
Doświadczenie II — Experiment II

Epikotyle grochu	Długość wycinków w mm				Śred- nio	Przyrost długości w %
kontrolnego (epikotyle przetrzymywane przez 48 godzin na pożywce) controls	10,4	10,6	10,5	10,2	10,4	4
stymulowanego adeniną stimulated by adenine	10,5	10,6	10,7	10,5	10,6	6
stymulowanego kinetyną stimulated by kinetin	11,0	11,2	11,2	11,0	11,1	11
stymulowanego kwasem β -indolooctowym stimulated by β -indoleacetic acid	11,3	11,3	11,2	11,4	11,3	13
stymulowanego kinetyną i kwasem β -indolooctowym stimulated by kinetin and β -indoleacetic acid	12,1	11,9	12,0	12,0	12,0	20

Doświadczenie III — Experiment III

Epikotyle grochu	Długość wycinków w mm				Śred- nio	Przyrost długości w %
kontrolnego (epikotyle przetrzymywane przez 48 godzin na pożywce) — controls	10,3	10,2	10,4	10,3	10,3	3
stymulowanego adeniną — stimulated by adenine	10,6	10,4	10,5	10,5	10,5	5
stymulowanego kinetyną — stimulated by kinetin	11,0	11,2	11,2	11,0	11,1	11
stymulowanego kwasem β -indolooctowym — stimulated by β -indoleacetic acid	11,2	11,2	11,1	11,3	11,2	12
stymulowanego kinetyną i kwasem β -indolooctowym — stimulated by kinetin and β -indoleacetic acid	12,2	12,2	12,2	12,1	12,2	22

Jeśli chodzi o przygotowanie do badań *Riccia fluitans*, to ok. 2 g plech wątrobowców wyhodowanych w akwarium umieszczano — podobnie jak epikotyle grochu — na pożywce Knopa z dodatkiem mikroelementów i substancji wzrostowych, z tą jednakże różnicą, że do pożywki nie dodawano sacharozy. Hodowle pozostawiano na świetle na okres 3 tygodni. Po upływie tego czasu badano zmiany w uwodnieniu plech oraz przeprowadzono analizy zawartości azotu całkowitego.

Wszystkie doświadczenia wykonywano w 3 powtórzeniach. Wyniki badań zestawiono w tabelach.

Największy przyrost długości stwierdzono w wycinkach stymulowanych kinetyną i kwasem β -indolooctowym (19%).

Najsłabiej pobudzała ich wzrost adenina (5%), silniej kinetyna (11%), jeszcze silniej kwas β -indolooctowy (14%).

Jeśli chodzi o próbki kontrolne, to przyrost ich długości był najmniejszy.

Najwyższą zawartość wody stwierdzono w epikotylach, na które podziałano kwasem β -indolooctowym. Działanie samej kinetyny i samej adeniny na uwodnienie tkanek epikotyli było podobne z tym, że nawet w jednej serii doświadczeń epikotyle stymulowane adeniną wykazały nieco większe uwodnienie niż stymulowane kinetyną.

Przy zastosowaniu mieszaniny kinetyny i kwasu β -indolooctowego obserwowano uwodnienie tkanek nieco wyższe, niż przy samej kinetynie, lecz niższe niż przy kwasie β -indolooctowym.

Jeśli chodzi o badania stopnia uwodnienia plech wątrobowców kontrolnych i stymulowanych czynnikami wzrostowymi, to otrzymane przez nas wyniki były często dość rozbieżne i trudne do interpretacji. *Riccia fluitans* jest rośliną wodną, a równomierne obsuszenie materiału po wyjęciu z pożywki i prawidłowe oznaczenie jego świeżej masy jest nieźmiernie trudne.

Najwyższy przyrost zawartości azotu stwierdzono w epikotylach przetrzymywanych na pożywce z dodatkiem mieszaniny kinetyny i kwasu β -indolooctowego (20,2—22,1%). Najsłabiej stymulował przyrost azotu kwas β -indolooctowy (3,5—4,7%), silniej adenina (8,4—9,7%), jeszcze silniej kinetyna (11,6—12,2%).

Charakterystyczne jest dla tej serii prób zmniejszanie się zawartości azotu w epikotylach kontrolnych, przetrzymywanych w ciągu 48 godzin na pożywce Knopa (kontrola II) w stosunku do epikotyli poddanych analizie bezpośrednio po wycięciu ich z łądyg (kontrola I).

Spadek ten wiąże się prawdopodobnie z faktem, że na skutek uszkodzenia tkanek następuje w procesie przemiany materii przewaga reakcji

Tabela 2 — Table 2

Zawartość wody w epikotylach grochu kontrolnych i stymulowanych: 1) kwasem β -indolooctowym, 2) adeniną, 3) kinetyną, 4) mieszaniną kinetyny i kwasu β -indolooctowego

Water content in peas epicotyls (control material and material stimulated by: 1) β -indoleacetic acid, 2) adenine, 3) kinetin, 4) the mixture of kinetin and β -indoleacetic acid)

Doświadczenie I — Experiment I

Epikotyle grochu Epicotyls of the peas	% wody w tkankach epikotyli grochu Water percentage in peas epicotyls tissue				Srednio % Average
kontrolnego (epikotyle badane bezpośrednio po wycięciu z łodyg)	91,0	91,0	89,9	91,1	91
kontrolnego (epikotyle przetrzymywane przez 48 godzin na pożywce)	91,6	91,5	91,5	91,7	91,6
stymulowanego kinetyną	93,0	92,6	92,7	92,8	92,8
stymulowanego adeniną	93,2	93,1	93,3	93,3	93,2
stymulowanego kw. β -indolooctowym	93,7	93,5	93,5	93,7	93,6
stymulowanego kinetyną i kwasem β -indolooctowym	93,1	93,3	93,3	93,1	93,2

Tabela 2 — Table 2 (c. d.)

Doświadczenie II — Experiment II

Epikotyle grochu	% wody w tkankach epikotyli grochu				Srednio
kontrolnego (epikotyle badane bezpośrednio po wycięciu z łodyg)	90,0	90,0	90,4	90,3	90,2
kontrolnego (epikotyle przetrzymywane przez 48 godzin na pożywce)	91,1	91,1	91,1		91,1
stymulowanego kwasem β -indolooctowym	95,3	95,5	95,2	95,2	95,3
stymulowanego adeniną	93,8	93,9	93,8	93,7	93,8
stymulowanego kinetyną	93,7	93,8	93,8	93,7	93,8
stymulowanego kinetyną i kwasem β -indolooctowym	94,5	94,3	94,4	94,4	94,4

Tabela 2 — Table 2 (c. d.)
Doświadczenie III — Experiment III

Epikotyle grochu	% wody w tkankach epikotyli grochu				Średnio %
kontrolnego (epikotyle badane bezpośrednio po wycięciu z łodyg)	90,5	90,4	90,6	90,5	90,5
kontrolnego (epikotyle przetrzymywane przez 48 godzin na pożywce)	91,7	91,5	91,6	91,8	91,7
stymulowanego kwasem β -indolooctowym	94,9	94,9	94,8	94,9	94,9
stymulowanego adeniną	92,9	92,9	92,9	92,8	92,8
stymulowanego kinetyną	92,9	92,8	92,8	92,7	92,8
stymulowanego kinetyną i kwasem β -indolooctowym	94,1	94,0	93,9	94,1	94,0

katabolizy nad reakcjami syntezy. Jest to zjawisko dotyczące szczególnie związków białkowych. Doświadczalnie stwierdzono, że nawet nieznaczne uszkodzenie młodych siewek łubinu białego wzmacnia rozpad białek (doświadczenie cyt. przez Bera 1950). Jeśli chodzi o metabolizm azotu w uszkodzonych roślinach, to zagadnieniu temu poświęcono wiele uwagi. Liczne badania: (cyt. przez Bonnera 1950), dawniejsze jeszcze z r. 1885 Schultzego, Chibnala (1924), Mothesa (1925) i Yemma (1937) i nowe Richmanga i Langa (1957) wykazały, że w liściach ściętych i pogrążonych ogonkami w wodzie zachodzi szybka hydroliza białek oraz nagromadzanie się związków azotu rozpuszczalnych w wodzie.

Yemm (cyt. za Bonnerem 1950) prześledził kolejne pojawianie się w ściętych liściach jęczmienia aminokwasów, amidów kwasów asparaginowego i glutaminowego, wreszcie wolnego amoniaku. Do podobnych wyników doszedł również Vickery (1938, cyt. przez Bonnera 1950), który używał do swych badań ściętych liści tytoniu.

Richmanga i Lang (1957) stwierdzili, że dodatek kinetyny do wody, w której pogrążono ogonkami ścięte liście *Xanthium*, wyraźnie hamuje przechodzenie azotu białkowego w formy rozpuszczalne, zmniejszając tym samym jego utratę przez liście.

Należy przypuszczać, że i w naszych doświadczeniach na skutek uszkodzenia tkanek epikotyli nastąpił intensywny rozpad substancji białkowych i przejście prostszych połączeń azotowych do pożywki. Słuszność tego przypuszczenia udowodniono za pomocą następującego doświad-

Tabela 3 — Table 3

Zawartość azotu całkowitego w epikotylach grochu kontrolnych i stymulowanych:
1) kwasem β -indolooctowym 2) adeniną 3) kinetyną 4) mieszaniną kinetyny i kwasu β -indolooctowego

Total nitrogen content of peas epicotyls (control material and material stimulated by:
1) β -indoleacetic acid 2) adenine 3) kinetin 4) the mixture of kinetin and β -indoleacetic acid)

Doświadczenie I — Experiment I

Epikotyle grochu: Epicotyls of the peas:	Zawartość azotu całkowitego w epikotylach grochu wyrażona w % w stos. do suchej masy Total nitrogen content of peas epicotyls (relating to 100 g of dry weight)				Srednio % Average	Przyrost ilości azotu w stosunku do kontroli II The increase of total nitrogen content
kontrolnego (epikotyle badane bezpośrednio po wycięciu z łodyg)	6,25	6,22	6,22	6,19	6,24	
kontrolnego (epikotyle przetrzymywane przez 48 godzin na pożywce)	5,76	5,73			5,74	
stymulowanego kwasem β -indolooctowym	5,90	5,90	6,0		5,93	3,3
stymulowanego adeniną	6,30	6,33	6,32		6,3	9,7
stymulowanego kinetyną	6,43	6,40	6,41		6,41	11,6
stymulowanego kinetyną i kwasem β -indolooctowym	6,87	6,91	6,90		6,90	20,2

czenia: wycinki epikotyli grochu przetrzymywano w ciągu 48 godzin w wodzie destylowanej. Po upływie tego czasu przeprowadzano analizę wody na zawartość azotu w aparacie Markhama. Próbki te wykazały obecność azotu w podłożu: próbki kontrolne dla wody destylowanej dały wynik ujemny.

Największy przyrost zawartości azotu w plechach wątrobowców *Riccia fluitans* stwierdzono w hodowlach przetrzymywanych na pożywce z dodatkiem kinetyny i kwasu β -indolooctowego (86,9—91,5%).

Najslabiej stymulował przyrost azotu kwas β -indolooctowy (17,5—20,5%), silniej adenina (37,3—40%), jeszcze silniej kinetyna (55,3—59,4%).

Tabela 3 — Table 3 (c. d.)

Doświadczenie II — Experiment II

Epikotyle grochu	Zawartość azotu całkowitego w epikotylach grochu wyrażona w % w stosunku do suchej masy				Srednio %	Przyrost ilości azotu w stosunku do kontr. II
kontrolnego (epikotyle badane bezpośrednio po wycięciu z łodyg)	6,76	6,80	6,78	6,76	6,78	
kontrolnego (epikotyle przetrzymywane przez 48 godzin na pożywce)	6,10	6,10	6,04		6,08	
stymulowanego kwasem β -indolooctowym	6,35	6,33	6,35		6,34	4,27
stymulowanego adeniną	6,66	6,60	6,62		6,63	9,04
stymulowanego kinetyną	7,00	7,03	7,00		7,01	11,62
stymulowanego kinetyną i kwasem β -indolooctowym	7,64	7,68	7,68		7,67	22,13

Doświadczenie III — Experiment III

Epikotyle grochu	Zawartość azotu całkowitego w epikotylach grochu wyrażona w % w stosunku do suchej masy				Srednio %	Przyrost ilości azotu w stosunku do kontr. II
kontrolnego (epikotyle badane bezpośrednio po wycięciu z łodyg)	5,61	5,59	5,63	5,61	5,61	
kontrolnego (epikotyle przetrzymywane przez 48 godzin na pożywce)	5,49	5,48	5,48		5,48	
stymulowanego kwasem β -indolooctowym	5,75	5,76	5,76		5,76	4,74
stymulowanego adeniną	6,09	6,08	6,08		6,08	8,37
stymulowanego kinetyną	6,25	6,23	6,25		6,24	12,22
stymulowanego kinetyną i kwasem β -indolooctowym	6,62	6,65	6,59		6,62	20,82

Tabela 4 — Table 4

Zawartość azotu całkowitego w plechach *Riccia fluitans* L. kontrolnych i stymulowanych:
1) kwasem β -indolooctowym 2) adeniną 3) kinetyną 4) mieszaniną kinetyny i kwasu β -indolooctowego

Total nitrogen content of *Riccia fluitans* thallus (control material and material stimulated by: 1) β -indoleacetic acid 2) adenine 3) kinetin 4) the mixture of kinetin and β -indoleacetic acid)

Doświadczenie I — Experiment I

<i>Riccia fluitans</i>	Zawartość azotu całkowitego w plechach wyrażona w % w stosunku do suchej masy Total nitrogen content of Riccia thallus (relating to 100 g of dry weight)			Srednio % Average	Przyrost ilości azotu w stosunku do kontroli The increase of total nitrogen content
kontrolna	4,43	4,40	4,37	4,40	
stymulowana kwasem β -indolooctowym	5,13	5,16	5,21	5,17	17,50
stymulowana adeniną	5,96	6,10	6,05	6,04	37,32
stymulowana kinetyną	6,80	6,88	6,84	6,84	55,37
stymulowana kinetyną i kwasem β -indolooctowym	8,26	8,22	8,20	8,23	86,91

Doświadczenie II — Experiment II

<i>Riccia fluitans</i>	Zawartość azotu całkowitego w plechach wyrażona w % w stosunku do suchej masy			Srednio	Przyrost ilości azotu w stosunku do kontroli
kontrolna	4,47	4,46	4,42	4,45	
stymulowana kwasem β -indolooctowym	5,30	5,33	5,31	5,31	19,32
stymulowana adeniną	6,24	6,17	6,18	6,20	39,32
stymulowana kinetyną	6,99	7,22	6,96	7,05	57,32
stymulowana kinetyną i kwasem β -indolooctowym	8,36	8,35	8,39	8,36	90,00

Tabela 4 — Table 4 (c. d.)
Doświadczenie III — Experiment III

<i>Riccia fluitans</i>	Zawartość azotu całkowitego w plechach wyrażona w % w stosunku do suchej masy			Srednio	Przyrost ilości azotu w stosunku do kontroli
kontrolna	4,50	4,56	4,50	4,52	
stymulowana kwasem β -indolooctowym	5,43	5,45	5,45	5,44	20,57
stymulowana adeniną	6,32	6,37	6,39	6,37	41,02
stymulowana kinetyną	7,18	7,16	7,24	7,20	59,42
stymulowana kinetyną i kwasem β -indolooctowym	8,68	8,65	8,66	8,66	91,59

OMÓWIENIE WYNIKÓW I DYSKUSJA

Reasumując wyniki naszych doświadczeń nad wpływem kinetyny na stopień uwodnienia i zawartość azotu w przebadanym materiale przez porównanie aktywności działania kinetyny, adeniny, kwasu β -indolooctowego oraz mieszaniny kinetyny i kwasu β -indolooctowego, można powiedzieć, że wszystkie te substancje są stymulatorami obu procesów: wzrostu uwodnienia i syntezy związków azotu, a różnice, które zaobserwowano w aktywności ich działania, są raczej charakteru ilościowego. Kinetyna a także adenina (choć w mniejszym stopniu) są przede wszystkim czynnikami odgrywającymi rolę w syntezie związków azotu, zaś kwas β -indolooctowy w przyłączaniu wody.

W przytoczonych wyżej doświadczeniach oznaczano w badanym materiale ogólną ilość azotu.

Azot całkowity stanowi w materiale roślinnym przeciętnie ok. 5% suchej masy. Azot ten może wchodzić w skład białek — podstawowego elementu budulcowego protoplazmy, zasad purynowych i pirymidynowych, będących komponentami kwasów nukleinowych oraz nukleotydów występujących w żywym ustroju w stanie wolnym, a pełniących rolę grup prostetycznych wielu ważnych enzymów, biorących udział w oddychaniu tkankowym. Zasady purynowe mogą występować w tkankach roślinnych również w stanie wolnym. Obecność wolnej adeniny i guaniny stwierdzono w liściach lucerny i herbaty, w korzeniach buraka cukro-

wego, ziemniaków i zbóż, a także w nasionach kawy i grochu (Klein 1933).

Występowanie wolnej ksantyny i hypoksantyny, a także kwasu moczowego stwierdzono w siewkach, liściach, owocach i nasionach wielu roślin (cyt. za Bonnerem — Knight). Azot może również wchodzić w skład tłuszczowców (fosfatydy) oraz pewnych specyficznych substancji charakteryzujących niektóre grupy roślin, a mianowicie alkaloidów czy niektórych glukozydów.

W interpretacji procesów wzrostowych roślin niektórzy autorzy (Ber 1949, a, b, c, Skoog 1955) uważają, że rola substancji wzrostowych polega na stymulacji syntezy kwasów nukleinowych.

Stwierdzone przez Bera (1949 a, b, c, d) antagonistyczne działanie pochodnych kwasu barbiturowego i tiouracylu w stosunku do czynników wzrostowych szeregu roślin, jak również dane Rebstocka, Balla i innych (1957), którzy stwierdzili, że benzoimidazol i strukturalnie do niego podobne substancje są antagonistami puryn i działają hamująco na wzrost niektórych roślin, przemawiają za prawdopodobieństwem działania auksyn poprzez nukleoproteidy.

Z doświadczeń Skooga nad fragmentami łodyg tytoniu hodowanych *in vitro* wynika, że kwas β -indolooctowy jest stymulatorem syntezy kwasów nukleinowych.

Jeśli zaś chodzi o rolę kwasów nukleinowych, a szczególnie kwasu rybonukleinowego, to wiemy, że jest ona związana między innymi z procesami syntezy i gromadzenia się białka w komórce.

Oznaczone w naszych doświadczeniach ilości azotu zwiększające się w roślinach pod działaniem badanych substancji wzrostowych związane są najprawdopodobniej i ze wzrostem zawartości kwasów nukleinowych i z przyrostem białek.

Zagadnienie, w jakim stopniu kinetyna stymuluje syntezę kwasów nukleinowych względnie wolnych nukleotydów, a w jakim syntezę białek — wymagałoby oddzielnych badań.

STRESZCZENIE

Przebadano wpływ kinetyny na stopień uwodnienia i zawartość azotu w hypokotylach grochu i w plechach wątrobowca *Riccia fluitans*.

Porównano aktywność działania kinetyny, adeniny, kwasu β -indolooctowego oraz mieszaniny kinetyny i kwasu β -indolooctowego w stymulowaniu zwiększania uwodnienia i syntezy związków azotu u wymienionych roślin.

Ustalono, że wszystkie przebadane substancje są stymulatorami obu procesów: zwiększania stopnia uwodnienia i syntezy związków azotu, a różnice, które zaobserwowano w intensywności ich działania, są raczej charakteru ilościowego. Kinetyna a także adenina (choć w mniejszym stopniu) są przede wszystkim czynnikami odgrywającymi rolę w syntezie związków azotu, zaś kwas β -indolooctowy w zwiększaniu stopnia uwodnienia.

Kinetynę do naszej pracy otrzymaliśmy od prof. Supniewskiego, któremu składamy serdeczne podziękowanie.

Zakład Biochemii
Uniwersytetu Łódzkiego

(Wpłynęło dn. 6.7.1957 r.)

SUMMARY

The influence of kinetin on the hydratation and nitrogen content of some plants was investigated. Epicotyls of peas and thallus of *Riccia fluitans* (Hepaticae) were used for the experiments.

The activity of kinetin, adenine, β -indoleacetic acid and that of the mixture of kinetin and β -indoleacetic acid were compared in order to determine the stimulation of water accumulation and the synthesis of nitrogen compounds in those plants.

All substances mentioned above have been found to stimulate both: water accumulation and synthesis of nitrogen compounds. The difference in their activity is rather a quantitative one.

Kinetin and adenine (to a lesser degree) stimulate the synthesis of nitrogen compounds, while the indoleacetic acid has been found to be a stimulator of water accumulation.

LITERATURA

- Audus L. J., 1954, Huitième Congrès International de Botanique, Paris, Rapports et Communications parvenus avant le Congrès aux Sections 11 et 12, 138—144.
 Avery G., Engel F., 1954, Amer. J. of Botany 4: 310—315.
 Ber A., 1949 a, Acta Soc. Bot. Pol., 20 (1): 125—130.
 Ber A., 1949 b, Acta Soc. Bot. Pol. 20 (1): 131—136.
 Ber A., 1949 c, Acta Soc. Bot. Pol. 20 (1): 137—142.
 Ber A., 1949 d, Acta Soc. Bot. Pol. 20 (1): 143—150.
 Ber A., 1950, Hormony wzrostu roślin zielonych, grzybów i bakterii, Warszawa, 155—160.
 Blank F., 1940, Verh. Schweiz. Naturforsch. Ges., Locarno.
 Blank F., 1944, Ann. Bot. 8, 71.
 Blank F., Frey-Wyssling, 1941, Ber. Schweiz. Bot. Ges. 51, 116.
 Biełozjerski A., Proskuriakow N., 1954, Ćwiczenia z biochemii roślin, tłum. z ros., Warszawa, PWRL, 92—98.

- Bonner D., Haagen-Smit A., Went F., 1939, Bot. Gaz. 101, 128.
- Bonner D., Bonner J., 1940, Amer. J. Bot., 27, 38.
- Bonner J., 1950, Plant Biochemistry, N. York, pp. 299—318, 319—327.
- Brown R., Broadbent D., 1950, Jour. Exp. Bot., 1: 249—263.
- Bullock M. W., Hand J. J., Stokstad L. R., 1956, J. Amer. Chem. Soc. 78: 3693.
- Dmochowski A., Maciejewska-Potapczykowa W., Sempiańska E., 1957, Acta Soc. Bot. Pol. 26: 361—371.
- Hall R. S., de Ropp R. S., 1955, J. Amer. Chem. Soc. 77, 6400.
- Ham R., Eakin R., Skinner Ch., 1956, J. Amer. Chem. Soc. 78, 2648.
- Hampton A., Bieseke J., Moore A., 1956, J. Amer. Chem. Soc. 78, 5695.
- Hinsberg K., 1951, Medizinische Chemie, wyd. II, S. 514.
- Klein R., 1933, Handbuch der Pflanzenanalyse 4: 362.
- Korczewski M., 1948, Odczyt w Tow. Przyrodników im. Kopernika, Łódź.
- Kurtz L., Kummerow J., 1957, Die Naturwissenschaften 5, 121.
- Lettré H., Endo H., 1956, Die Naturwissenschaften, 4, 84.
- Markham R., 1942, Bioch. J., 36, 790.
- Miller C., Skoog F., Saltza M., Strong F., 1955a, J. Amer. Chem. Soc. 77, 1392.
- Miller C., Skoog F., Saltza M., Strong F., 1955b, J. Amer. Chem. Soc. 77, 2662.
- Miller C., Skoog F., Okumura F., Saltza M., Strong F., 1956c, J. Amer. Chem. Soc. 78: 1375.
- Miller C., 1956, Plant Physiology, 31 (4): 318—319.
- Olszewska M., Maciejewska-Potapczykowa W., Sempiańska E., 1957, Acta Soc. Bot. Pol. 26 (4): 101—114.
- Rebstock T., Ball Ch., Hammer Ch., Sell M., 1957, Plant Physiology 32 (1): 19—22.
- Richmand A. E., Lang A., 1957, Science, 125 (3249) 650.
- Ropp R. S., 1956, Plant Physiology, 31 (3): 253.
- Sabinin D. A., Połozowa L. J., 1957, Fizjologija rastienij, 4, (1): 38—43.
- Scott R., Liverman J., 1956, Plant Physiology 31 (4): 321—322.
- Sempiańska E., Maciejewska-Potapczykowa W., Dmochowski A., 1957, Bull. de l'Acad. Pol. cl. II, V (3): 79—81.
- Skoog F., 1955 L'année biologique, 1, II, III, IV, 1—16.
- Söding H., 1952, Rostowyje wieszczstwa rastienij (tłum. z niemieckiego, Moskwa, 1955), str. 22—23, 277—312.
- Skinner Ch., Schive W., 1955, J. Amer. Chem. Soc. 78, 6692.
- Supniewski J., Bany T., 1957, Bull. de l'Acad. Pol. de Sc. 4361.
- Wanner H., 1950, Ber. Schweiz. Bot. Ges. 60: 404—412.
- Wicksen M., Thimann K. V., 1956, Plant Physiology 31, XXXVIII, 11: 45.
- Zajcewa M. G., 1951, Botaniczeskij Żurnał 3, 2888.