ACTA SOCIETATIS
BOTANICORUM POLONIAE
vol. XL — nr 4
1971

Hamowanie syntezy chlorofilu i RNA w izolowanych liścieniach ogórka przez N-hydroksymocznik

A. RENNERT i J. S. KNYPL

Zakład Fizjologii Roślin Instytutu Biochemii i Fizjologii Uniwersytetu Łódzkiego

A, Rennert, J. S. Knypl, Institute of Biochemistry and Physiology, University of Łódź, Poland (Received: March 22, 1971.)

Inhibition of chlorophyll and RNA synthesis by N-hydroxyurea in detached cucumber cotyledons

Summary:

N-hydroxyurea (HU) at the concentration of 5×10^{-4} M decreased the content of chlorophyll in detached cucumber cotyledons; at this concentration it has no inhibitory effect on growth. Benzylaminopurine, gibberelic acid and KCl partially reversed the inhibitory effect of HU on chlorophyll synthesis. HU stimulated yellowing of barley first leaf sections. The compound had little effect on leucine-^{14}C incorporation to protein, and markedly inhibited uracil-^{14}C incorporation in to RNA of the greening cucumber cotyledons.
It is suggested that the inhibition of RNA and chlorophyll synthesis in HU-treated cucumber cotyledons follows the HU-dependent inhibition of DNA replication.

WSTĘP

N-hydrokysmocznik (HM) działa bakteriostatycznie i hamuje wzrost komórek nowotworowych. Doświadczenia wykonane z komórkami HeLa i *Escherichia coli* wykazały, że HM blokuje replikację DNA (Rosenkranz i Carr 1966; Rosenkranz i wsp. 1966; Young i Hodas 1964), bezpośrednio nie wpływając na syntezę RNA i białek.

Niewiele jak dotąd, przeprowadzono badań nad wpływem HM na komórki roślinne. Stwierdzono, że hamuje on mitozy w korzeniach kukurydzy nie wpływając na wzrost wydłużeniowy komórek; zwrócono uwagę, że HM znosi hamujący wpływ IAA na wzrost komórek kukurydzy i zapobiega pojawianiu się na korzeniach zgrubień rakowatych, indukowanych przez IAA (Barlow 1969). Zaobserwowano również morfostatyczne działanie HM na *Acetabularia mediterranea* z równoczesnym zahamowaniem syntezy kwasów nukleinowych cytoplazmy oraz DNA jąder (Heilporn-Pohl i Limbosch-Rolin 1969).

Maciejewska-Potapczykowa ze współpracownikami (1970) badała wpływ HM na wzrost i zawartość związków azotowych w kalusowych i tumorowych (crown-gall) tkankach tytoniu, hodowanych *in vitro*. Stwierdzono, wbrew oczekiwaniom, że tkanka tumurowa była znacznie mniej wrażliwa na działanie HM niż tkanka kalusowa. W obu przypadkach po podaniu HM zanotowano wzrost poziomu azotu białkowego i pewien spadek zawartości azotu kwasów nukleinowych.

W roku 1967 Buetow i Mego stwierdzili, że HM hamuje syntezę chlorofilu i podziały komórkowe u *Euglena gracilis*. Przy pięćdziesięcioprocentowym zahamowaniu syntezy chlorofilu *Euglena* mnożyła się w normalnym tempie, a po usunięciu HM z podłoża odzyskiwała częściowo (70%) zdolność zielenienia się na świetle.

Celem badań podjętych przez autorów niniejszej pracy było sprawdzenie wpływu HM na niektóre procesy fizjologiczne roślin wyższych. Stwierdzono, że HM nie wpływa na proces kiełkowania nasion u większości przebadanych gatunków, nie działa na wzrost wydłużeniowy wycinków koleoptyli owsa ani pierwszego listka owsa, natomiast silnie hamuje wzrost izolowanych liścieni ogórka (Rennert i Knypl 1971). Efekty działania HM na syntezę chlorofilu, białek i RNA u wymienionych liścieni przedstawiono w niniejszej pracy.

MATERIAŁ i METODY

Izolowane liścienie ogórka. Nasiona ogórka (*Cucumis sativus* var. Delikates) wysiewano i hodowano jak poprzednio (Knypl i Rennert 1970). Wzrost netto obliczano przez odjęcie wyjściowej masy liścienia (18–20 mg) od masy końcowej. Wszystkie roztwory stosowane do inkubacji liścieni zawierały 50 mg/l penicyliny G, hamującej wzrost mikroorganizmów u ogórka (Venis 1967).

Inkubacja w roztworach leucyny-^{14}C lub uracylu-^{14}C. Liścienie, po 24 godzinach hodowli na świetle, wyjmowano z szalek Petriego, przemywano wodą destylowaną i obsuszano. Po odcięciu około 0,5 mm warstwy tkanki przylegającej do miejsca poprzedniego cięcia, liścienie ważono na wadze torsyjnej i umieszczano w małych szalkach Petriego, zawierających 1.8 ml roztworu L-leucyny-U-^{14}C (1 μCi/ml; spec. aktyw. 90 mCi/mM) lub urycylu-2-^{14}C (5 μCi/ml; spec. aktyw. 6 mCi/mM) i 50 mg/l penicyliny G. Liścienie inkubowano w roztworach radioaktywnych prekursorów przez 3 godziny przy ciągłym oświetleniu fluorescencyjnym (1400 lx na poziomie tkanki) przy 24°C. Następnie liścienie wyjmowano, przemywano 0.001 M roztworami nieradioaktywnych prekursorów i natychmiast analizowano.

Otrzymywanie frakcji białek. Liścienie inkubowano z radioaktywną leucyną umieszczano w 5 ml wrzącego 0,001 M roztworu leucyny-^{12}C w 80% etanolu na przeciąg około 50–60 sekund, po czym przenoszono je do porcelanowego moździerza, homogenizowano z 5 ml 80% etanolu i odwirowywano. Osad przemywano kolejno 80% etanolem, zimnym 5% TCA, 96% etanolem (dwa razy), mieszaniną etanolu z eterem (3:1) i eterem (Knypl 1971). Osad z kolei traktowano 1 N NaOH na wrzącej łaźni wodnej (5 minut) w celu rozpuszczenia białek, ekstrakt chłodzono i odwirowywano. Do 2 ml ekstraktu dodawano 1 ml zimnego 4 N TCA i 2 ml wody,

wstawiano do lodówki na 60 minut w celu dobrego wytrącenia białka i odwirowywano. Wytrącone białko rozpuszczano w 2 ml 10% NH_4OH. Roztworu tego używano do oznaczeń radioaktywności w białku, a po odpowiednim rozcieńczeniu 0,5 N NaOH do oznaczeń ilości białka kolorymetryczną metodą wg Lowry'ego i wsp. (1951). Radioaktywność oznaczano również w połączonych ekstraktach etanolowych.

Otrzymywanie frakcji RNA. Zastosowano zmodyfikowaną metodę Cherry'ego (1962). Liścienie inkubowane z radioaktywnym uracylem, homogenizowano w 5 ml zimnego metanolu, zawierającego uracyl-^{12}C (10^{-3}M) i odwirowywano. Osad przemywano zimnym metanolem (dwa razy), następnie zimnym 0.2 N $HClO_4$, etanolem i na koniec mieszaniną etanolu z eterem (2:1) przez 30 minut przy 50°C. Osad tkankowy zadawano z kolei 0.3 N KOH i pozostawiano przez 16 godzin w temp. 37° w celu shydrolizowania RNA do nukleotydów. DNA i pozostałości tkanki wytrącano następnie przez zakwaszenie hydrolizatu do pH około 1 stężonym $HClO_4$ (60 minut w lodówce) i odrzucano po odwirowaniu. Osad przemywano 0.1 N $HClO_4$, a płyn znad osadu dołączano do pierwszego ekstraktu nukleotydów.

RNA oznaczano spektrofotometrycznie, mierząc absorpcję odpowiednio rozcieńczonych ekstraktów przy 260 i 290 nm (Cherry 1962). Jako standard służył analogicznie shydrolizowany RNA drożdżowy.

Radioaktywność oznaczano w ekstraktach metanolowym, $HClO_4$, i w hydrolizacie RNA.

Biotest starzejącego się liścia jęczmienia. Ziarniaki jęczmienia (*Hordeum vulgare* L. var. 'Browarny PZHR') wysiewano do wazonów napełnionych ziemią ogrodniczą. Po 12 dniach wzrostu przy 16-godz. fotoperiodzie (światło dzienne uzupełnione światłem fluorescencyjnym typu day light o natężeniu około 2000 lx) i 25°C, rośliny ścinano i do dalszych badań brano pierwsze starzejące się już liście. Wycinano z nich po dwa 10 mm odcinki, zaczynając 2,5 cm od szczytu. Jeżeli doświadczenia przeprowadzano w ciemności (Kende 1964), wycinki umieszczano na powierzchni wody destylowanej w ciemnym termostacie o temp. 25°. Po 24 godzinach wycinki wyjmowano i przenoszono do szalek Petriego zawierającyeh po 10 ml roztworów badanych substancji. Po dalszych 24 godzinach inkubacji w ciemności wycinki obsuszano i ekstrahowano chlorofil 80% acetonem (12 ml/8 wycinków). Jeżeli doświadczenia przeprowadzano na świetle (Kulayeva 1966) to wycinki od razu umieszczano na roztworach badanych substancji i hodowano przez 6 dni przy ciągłym oświetleniu fluorescencyjnym (1300 lx) i dalej postępowano jak wyżej. W obu przypadkach oznaczano również zawartość chlorofilu w wycinkach liści na początku doświadczenia, tzn. zaraz po ścięciu (doświadczenia na świetle) lub po 24 godzinach wstępnej inkubacji w ciemności.

Inne szczegóły. Chlorofil ekstrahowano 80% acetonem i oznaczano wg metody Bruinsmy (1962).

Radioaktywne ekstrakty nakraplano na aluminiowe planszetki, suszono i liczono w układzie składającym się z sondy scyntylacyjnej SSU-4W i przelicznika ZPA-1A. Efektywność zliczeń wynosiła około 20% w kącie bryłowym 4π.

Każde doświadczenie powtarzano 3 razy, przy czym każda seria zawierała duplikaty. Doświadczenia radioizotopowe powtarzano dwa razy.

WYNIKI

1. Wpływ HM na syntezę chlorofilu

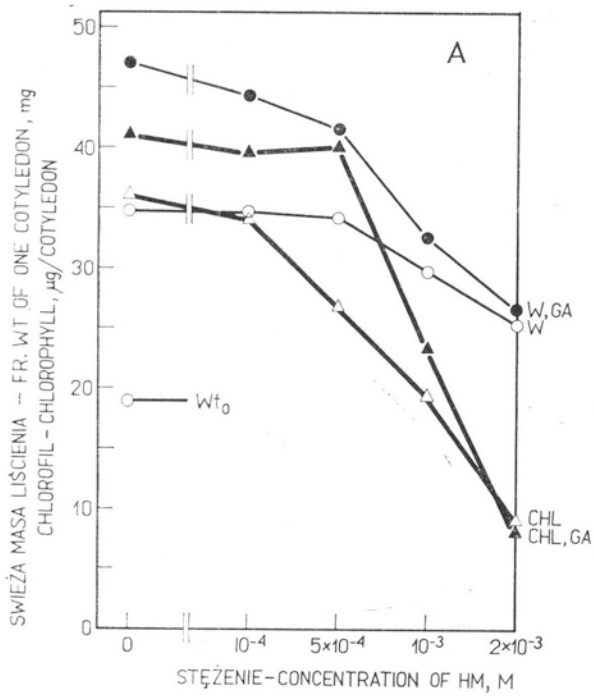
Hydroksymocznik w stężeniu 5×10^{-4}M, przy którym nie notuje się obniżenia wzrostu, obniża zawartość chlorofilu zarówno w przeliczeniu na jeden liścień (ryc. 1), jak i na gram świeżej masy (tab. 1). W stężeniach hamujących wzrost o połowę, HM obniża zawartość chlorofilu o około 75%.

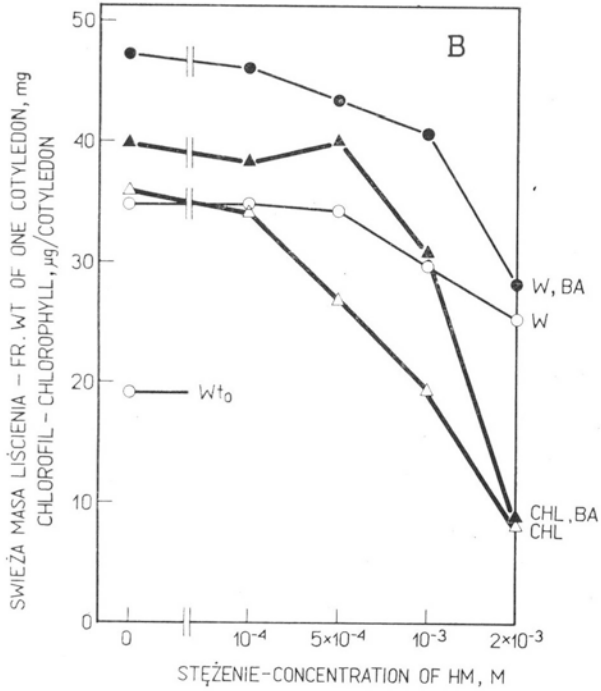
Tabela 1 — Table 1

Wpływ HM na wzrost i zawartość chlorofilu w izolowanych liścieniach ogórka po 2 dniowej inkubacji
The effect of N-hydroxyurea (HM) on growth and chlorophyll contents in detached cucumber cotyledons

Stężenie HM Concentration of HM M	Przyrost netto * Net increment of fr. wt.		Chlorofil a+b Chlorophyll a+b		Chl a / Ch b
	mg	%	µg/g św. masy µg per g fr. wt.	%	µg/liścień µg per cotyledon
H_2O	15,9	100	1040,2	100	2.50
4×10^{-3}	3,5	22.0	133.9	12,9	2,50
3×10^{-3}	4,1	25.8	152,2	14,6	2,50
2×10^{-3}	6,7	42,1	159,7	34,6	2,52
10^{-3}	10,8	67,9	656,5	63,1	2,50
5×10^{-4}	15,3	96,2	789,5	75,9	2,50
10^{-4}	15,9	100	982,8	94,5	2,49
+KCl 5×10^{-2}M					
0	44,5	289,9	1586,8	152,5	2,50
4×10^{-3}	7,5	47,2	284,1	27,3	2,50
3×10^{-3}	9,2	57,9	284,7	27,4	2,50
2×10^{-3}	15,7	98,7	424,9	40,8	2,50
10^{-3}	30,0	188,7	1104,3	106,2	2,50
5×10^{-4}	43,5	273,6	1203,5	115,7	2,50
+BA 10^{-5}M					
0	28,4	178,6	843,6	81,1	2,35
2×10^{-3}	9,3	58,5	322,7	31,0	2,36
10^{-3}	21,8	137,1	759,2	73,0	2,36
5×10^{-4}	24,5	154,5	928,6	89,2	2,35
10^{-4}	27,4	172,3	829,4	79,7	2,35
+GA_3 10^{-4}M					
0	28,4	178,6	879,7	84,6	2,40
2×10^{-3}	7,8	49,1	310,9	29,9	2,42
10^{-3}	13,7	86,2	723,9	57,8	2,40
5×10^{-4}	22,5	141,5	971,1	93,4	2,40
10^{-4}	25,6	161,0	894,4	86,0	2,40

* — wyjściowa masa 1-go liścienia = 18,9 mg, original fresh weight of one cotyledon = 18,9 mg





Rys. 1. Hamujący wpływ hydroksymocznika na syntezę chlorofilu w izolowanych liścieniach ogórka wobec GA_3 (A) lub BA (B)

Wt_0, wyjściowa masa liścieni (18.9 mg); W, świeża masa po 2 dniach inkubacji; CHL, chlorofil a + b; GA i BA, serie z dodatkiem GA_3 (10^{-4}M) lub BA (10^{-5}M)

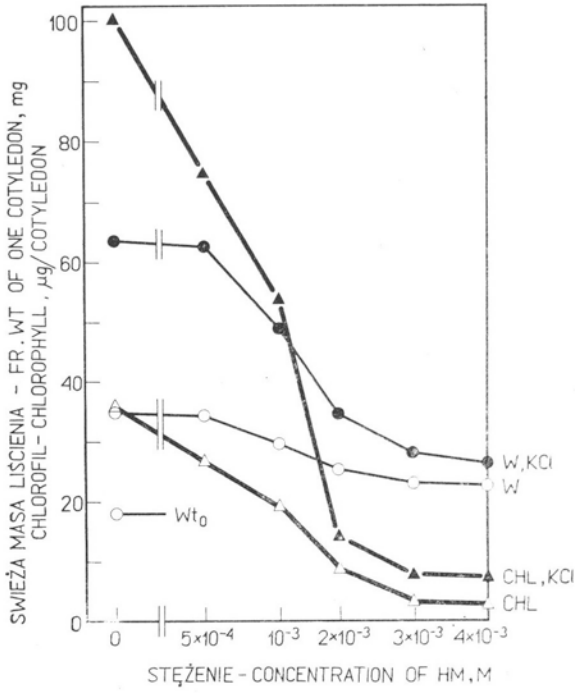
Fig. 1. Inhibition of chlorophyll synthesis in detached cucumber cotyledons by N-hydroxyurea, applied alone or in combination with GA_3 (A) or benzyladenine (B).

Wt_0, original fresh weight (18.9 mg); W, fresh weight after 2 day incubation; CHL, chlorophyll a + b; GA and BA the series supplemented with GA_3 (10^{-4}M) or BA (10^{-5}M);

Benzyloadenina (BA) i kwas giberelowy (GA_3) pobudzają wzrost netto o około 80% (tab. 1); zawartość chlorofilu w przeliczeniu na liścień wzrasta tylko o 10–15%, aw przeliczeniu na g świeżej masy obniża się o około 15%. GA_3 odwraca hamujący wpływ HM na syntezę chlorofilu tylko w przypadku stosowania roztworu o stężeniu 5×10^{-4}M (ryc. 1A). Podobnie jest z BA, chociaż ta ostatnia zwiększa również w sposób istotny zawartość chlorofilu w próbkach poddanych działaniu HM o stężeniu 0.001 M (ryc. 1B). Chociaż oba stymulatory wzrostu nie podnoszą zawartości chlorofilu w przeliczeniu na g świeżej masy liścieni, to jednak obniżają one częściowo hamujący wpływ HM, zastosowanego w stężeniach 0.001–0.005 M (tab. 1).

KCl (0.05 M), przyspieszając wzrost netto liścieni ponad 2,5-krotnie, zwiększa zawartość chlorofilu w przeliczeniu na liścień o 280%, a w przeliczeniu na g świeżej masy o około 50% (tab. 1). Hydroksymocznik obniża stymulację syntezy chlorofilu wywołaną przez jony potasu, ale nawet w stężeniu 0.004 M nie niweluje dodatniego działania KCl (ryc. 2).

Przeprowadzone dla celów porównawczych badania nad wpływem mitomycyny C (MMC) — klasycznego inhibitora replikacji DNA (Iyer i Szybalski 1964), na zielenienie się etiolowanych liścieni ogórka, wskazują wyraźną zbieżność efektów działania MMC i HM. Przy stężeniach obniżających wzrost nieznacznie, MMC



Rys. 2. Obniżenie przez hydroksymocznik pobudzającego działania K^+ (5×10^{-2}M) na syntezę chlorofilu w izolowanych liścieniach ogórka. Szczegóły jak przy rys. 1.

Fig. 2. Stimulation of chlorophyll synthesis in detached cotyledons of cucumber by K^+ (KCl, 0.05 M) and its reduction by N-hydroxyurea. Details as in fig. 1.

silnie obniża zawartość chlorofilu. Na przykład przy stężeniu 250 mg/l MMC wzrost netto liścieni ulegał zahamowaniu tylko o około 30%, natomiast zawartość zielonego pigmentu spadała o 70% (tab. 2).

Tabela 2 — Table 2

Hamujące działanie mitomycyny C (MMC) na wzrost i syntezę chlorofilu w izolowanych liścieniach ogórka

Inhibition of growth and chlorophyll synthesis in detached cucumber cotyledons by mitomycin C (MMC)

Stężenie MMC, Concentration of MMC mg/l	Wzrost netto* Net increment of fr. wt*		Zawartość chlorofilu** Chlorophyll contents**			
			µg/liścień µg per cotyledon		µg/g świeżej masy µg per g of fr. wt.	
	mg	%	a+b	% a+b	a+b	% a+b
0	16,1	100	36,6	100	1057,8	100
50	12,8	79,5	19,8	54,1	632,6	59,8
100	11,4	70,8	16,1	44,0	538,5	50,9
250	11,1	68,5	11,1	30,4	375,0	35,5
500	6,2	38,5	6,3	17,2	255,1	24,1

* — początkowa świeża masa 1 liścienia = 18,5 mg
* — original fresh weight of one cotyledon = 18,5 mg
** — MMC nie zmnienia stosunku Chl a/Chl b
** — MMC did not change Chl a/Chl b ratio

2. Wpływ HM na rozpad chlorofilu

HM przyspiesza żółknięcie wycinków pierwszego liścia jęczmienia, hodowanych w ciemności, oraz silnie obniża hamujące działanie BA na rozpad chlorofilu (ryc. 3, krzywe "O, D" i "D, BA-1"). Odmienne rezultaty zanotowano w doświadczeniach przeprowadzonych na świetle. W tym przypadku sam HM również prześpiesza żółknięcie (ryc. 3, krzywa "L, O"). Jeżeli jednak HM podano w mieszaninie z BA (5 mg/l), to zupełnie nieoczekiwanie nie zanotowano przyspieszającego wpływu hydroksymocznika na rozpad chlorofilu. Próbki zawierające BA z HM o stężeniu 0,001 M były znacznie bardziej zielone niż próbki zawierające samą benzyloadeninę. HM w stężeniu 0,005 M działał w doświadczeniu na świetle toksycznie; wycinki po 3–4 dniach hodowli traciły turgor i stawały się ,,przejrzyste".

3. Wpływ HM na włączanie radioaktywnych prekursorów do białek i RNA izolowanych liścieni ogórka

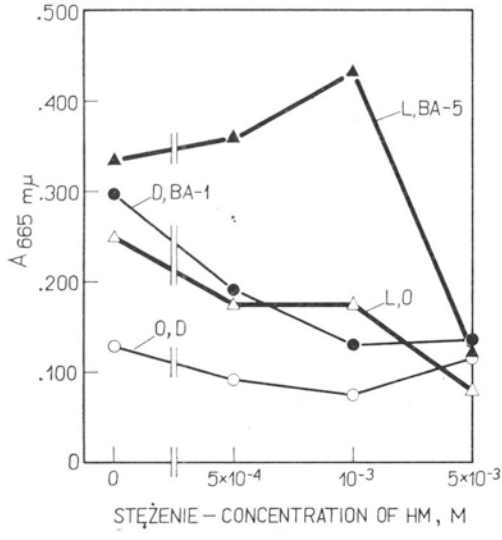
Dane liczbowe, zebrane w tabeli 3 wykazują, że w seriach kontrolnych, hodowanych wstępnie przez 24 godziny na wodzie destylowanej przy ciągłym oświetleniu, poziom białka nieznacznie spada, a poziom RNA wzrasta, natomiast synteza białek

Tabela 3 — Table 3

Synteza białek i RNA w izolowanych liścieniach ogórka inkubowanych przez 24 godziny z hydroksymocznikiem na świetle

RNA and protein synthesis in detached cucumber cotyledons incubated with N-hydroxyurea for 24 hours in light

	Wartości wyjściowe Original values	Po 24 godzinach w M: — After 24 hours in M:					
		H_2O (kontrola) (ocntrol)	HM 0,002 M	KCl 0,025 M	HM +KCl	BA 10^{-5}	BA +HM
Świeża masa liścienia, mg Fr. wt, mg/cotyledons	19,7	27,6	22,8	38,0	30,1	34,5	23,3
Białko, mg/liścień Protein, mg/cotyledon	1,194	1,182	1,194	1,190	1,192	—	—
RNA, µg/liścień RNA, /g/cotyledon	110,0	162,2	129,8	—	—	203,1	142,0
Inkubacja w roztworze leucyny — ^{14}C przez 3 godz. — Feeding with leucine — ^{14}C for 3 hours							
Substancje rozpuszcz.w 80% etanolu, imp/min./liścień 80% ethanol solved comp., counst/min/cotyledon	1210	1120	1200	1040	1300	—	—
Białko, imp./min./liścień Protein, counts/min/cotyledon	620	2490	2190	4020	2440	—	—
Specyf. akt. białka imp./min/mg Specific activity of protein, counts/min/mg	520	2110	1830	3380	2050	—	—
Inkubacja w roztworze uracylu 2-^{14}C przez 3 godz. — Feeding with uracil — 2-^{14}C for 3 hours							
Substancje rozp. w metanolu imp./min./liścień Metanol solved comp., counts/min/cotyledon	1290	3100	2400	—	—	3420	1830
Substancje rozp. w 0,2N $HClO_4$ imp./min/liścień 0,2N $HClO_4$ solved comp., counts/min/cotyledon	200	700	880	—	—	830	880
RNA, imp./min/liścień RNA, counts/min/cotyledon	130	780	340	—	—	1490	650
Specyf. akt. RNA, imp./min/µg Specific act. of RNA, counts/min/µg	1,18	4,81	2,64	—	—	7,34	4,56



Rys. 3. Hamujący wpływ BA na rozpad chlorofilu w wycinkach pierwszego liścia jęczmienia i obniżenie tego efektu przez HM w ciemności oraz wzmożenie na świetle.

L (grube linie), 6-dniowa inkubacja na świetle; D (cienkie linie), 2-dniowa inkubacja w ciemności; O, BA-1 i BA-5, serie z dodatkiem benzyloadeniny w stężeniach, odpowiednio, 0, 1, i 5 mg/l. Wyjściowe stężenie chlorofilu wynosi odpowiednio 0.553 i 0.618 dla serii w ciemności i na świetle

Fig. 3. Arrest of chlorophyll breakdown in senescing barley first leaf sections, and its potentation or reduction by hydroxyurea in light and in dark, respectively;

L, light; D, darkness; O, BA-1 and BA-5 series with addition of benzyleadenine at 0,1 (tests in darkness) and 5 (tests in light) mg/l, respectively; Original concentration of chlorophyll = 0.553 and 0.618 for the dark and light series, respectively

i RNA ulega około 5-krotnemu przyspieszeniu. Hydroksymocznik nie wpływa na poziom białek, lecz istotnie zmniejsza wzrost poziomu RNA. Substancja ta stosunkowo nieznacznie hamuje włączanie leucyny-^{14}C do białek: specyf. aktywność białek w kontroli wynosi 2110 imp./min./mg, a w seriach hodowanych z HM — 1830 imp./min./mg, natomiast włączanie uracylu-^{14}C do RNA ulega zahamowaniu o połowę: radioaktywność RNA w seriach kontrolnych wynosi 780 imp./min./liścień, a w seriach hodowanych w obecności HM — 340 imp./min./liścień.

Jony potasu silnie przyspieszają syntezę białek; hydroksymocznik całkowicie znosi stymulujący wpływ KCl na włączanie znakowanej leucyny do białek — w rezultacie aktywność białek w seriach kontrolnych jest równa aktywności białek w liścieniach hodowanych na mieszaninie HM i KCl (tab. 3).

Benzyloadenina ponad 2-krotnie przyspiesza syntezę RNA; hydroksymocznik całkowicie znosi tę stymulację (kontrola — 780, BA — 1490 a BA + HM — 650 imp./min./liścień we frakcji RNA; tab. 3).

Warto podkreślić, że HM nie wpływa na pobieranie leucyny z roztworu inkubacyjnego ponieważ radioaktywność związków rozpuszczalnych w 80% etanolu (wolna leucyna) jest podobna zarówno w kontroli, jak i w seriach hodowanych z HM. Hydroksymocznik dość znacznie hamuje pobieranie uracylu-^{14}C z medium

inkubacyjnego (radioaktywność związków rozp. w metanolu) oraz nieznacznie przyspiesza włączanie uracylu do nukleotydów (radioaktywność związków rozp. w 0.2 N $HClO_4$; tab. 3).

DYSKUSJA

Doświadczenia przeprowadzone z mikroorganizmami i komórkami zwierzęcymi, doprowadziły do wniosku, że hydroksymocznik hamuje przede wszystkim syntezę DNA nie działając bezpośrednio na syntezę RNA i białek, a tym samym i enzymów katalizujących syntezę DNA (Young i Hodas 1964; Rosenkranz i wsp. 1966); jednakże synteza białek jest niezbędna dla przejawienia się biologicznej aktywności hydroksymocznika (Rosenkranz i Carr 1966). Podobnych analiz z roślinami wyższymi nie przeprowadzono. Niemniej wiadomo, że hydroksymocznik 1° blokuje mitozy u cebuli (Truhant i wsp. 1967) i kukurydzy (Barlow 1969); 2° hamuje rozwój glonów (Singh i Kumar 1968; Heilporn-Pohl i Limbosch-Rolin 1969); 3° hamuje wzrost hodowanych *in vitro* tkanek tytoniu (Potapczykowa i wsp. 1970). Wydaje się, że we wszystkich wymienionych przypadkach zaburzeniu ulega synteza DNA.

Niniejsze badania wykazały, że hydroksymocznik obniża zawartość chlorofilu liścieni ogórka już przy stężeniach, przy których słabo wpływa na wzrost. Rezultaty tych doświadczeń (tab. 1, ryc. 1) zgadzają się z rezultatami analiz przeprowadzonych przez Buetowa i Mego (1967), którzy stwierdzili, że HM hamuje w pierszym rzędzie syntezę chlorofilu, a następnie syntezę DNA, RNA, i białek u komórek *Euglena*. Podobnie jak HM, na syntezę chlorofilu w izolowanych liścieniach ogórka i ich wzrost działa również mitomycyna C (tab. 2). Podobieństwo efektów, wzbudzanych przez MMC i HM, zdaje się wskazywać, że ten ostatni rzeczywiście działa przez zaburzenie syntezy DNA w liścieniach.

Zielenienie się liścieni uzależnione jest od ciągłej syntezy białek i RNA. HM słabo hamuje syntezę białek; efekt ten nie może więc być przyczyną zahamowanej syntezy chlorofilu. Jednakże synteza RNA w liścieniach ulega silnej inhibicji pod wpływem HM. Stopień tego zahamowania jest porównywalny ze stopniem hamowania zielenienia. Można by więc sądzić, że przyczyną obserwowanego zahamowania syntezy chlorofilu, a także opóźnienia wzrostu liścieni jest inhibicja syntezy RNA. Natomiast niwelujący wpływ HM na wzbudzaną przez KCl syntezę białek i wzbudzaną przez BA syntezę RNA jest niewątpliwie przyczyną zahamowania wzrostu indukowanego przez te substancje.

Hydroksymocznik przyspiesza zanik chlorofilu w starzejących się tkankach liściowych jęczmienia. Przyczyną tego zjawiska może być zarówno zahamowanie syntezy RNA, jak i hamowanie — na świetle — procesu replikacji chloroplastów.

Podsumowując stwierdza się, że skutkiem działania HM w izolowanych liścieniach ogórka następuje hamowanie syntezy chlorofilu i RNA oraz wzrostu. Zahamowanie wzrostu i syntezy chlorofilu może być spowodowane zahamowaniem syntezy RNA. Jednak zahamowanie zielenienia się wskazuje równocześnie na zaburzenia syntezy DNA.

STRESZCZENIE

Hydroksymocznik (HM) w stężeniu 5×10^{-4}M, przy którym nie notuje się jeszcze obniżenia wzrostu, obniża zawartość chlorofilu zarówno w przeliczeniu na 1 liścień jak i na g świeżej masy. Analogiczne wyniki otrzymano z mitomycyną C, specyficznym, inhibitorem syntezy DNA.

BA i GA_3 częściowo obniżają hamujący wpływ HM na zawartość chlorofilu w liścieniach. HM obniża stymulację syntezy chlorofilu wywołaną przez jony potasu jednak nie niweluje jej całkowicie. Zanik chlorofilu w starzejących się tkankach liściowych jęczmienia, ulega przyśpieszeniu pod wpływem HM, HM nieznacznie hamuje włączanie leucyny-^{14}C do białek, natomiast włączanie uracylu-^{14}C do RNA zmniejsza o połowę.

Przypuszcza się, że obserwowane efekty działania HM są skutekim zaburzenia syntezy DNA.

(Wpłynęło dn. 22.3.1971 r.)

LITERATURA

Barlow P. W., 1969, Planta (Berl.) 88: 215–223.

Bruinsma J., 1963, Photochem. Photobiol. 2; 241–249.

Buetow D. E., J. L. Mego, 1967, Biochem. Biophys. Acta 134: 395.

Cherry J. H., 1962, Plant Physiol. 37: 670–678.

Heilporn-Pohl V., S. Limbosch-Rolin,,1969, Biochem. Biophys. Acta 174: 220–229.

Iyer V. N., W. Szybalski, 1964, Science 145: 55–58.

Kende H., 1964, Science 145: 1066.

Knypl J. S., 1971, Acta Soc. Bot. Pol. 40: 258–274.

Knypl J. S., A. Rennert, 1970, Zesz. Nauk. Uniw. Łódzk., Ser. II, Biol., z. 37: 77–96.

Kulayeva O. N., [w:] J. W. Rakitin "Metody, opredelenija reguliatorov rosta i gebricidov", Izd. Nauka, 1966.

Lowry O. H., N. J. Rosenbrough, A. L. Farr, R. J. Randall, 1951, J. Biol. Chem. 193: 265–275.

Maciejewska-Potapczykowa W., A. Rennert, A. Bilecka, 1970, Zesz. Nauk. Uniw. M. Kopernika, Ser. XIII, Biol. z. 23: 257–262.

Rennert A., J. S. Knypl, 1972, Zesz. Nauk. Uniw. Łódzk., (w druku).

Rosenkranz H. S., H. S. Carr, 1966, Journal of Bacteriology 92: 178–185.

Rosenkranz H. S., A. J. Garro, J. A. Levy, H. S. Carr, 1966, Bioch. Bioph. Acta 114: 501–515.

Singh M. K., H. D. Kumar, 1968. Flora, Abt. A 153: 445–450.

Truhant R., G. Deysson, Y. Bradel, 1967, C.R. Acad. Sci., Ser. D 265 (22): 1756–1759.

Venis M. A., 1967, Phytochemistry, 6: 799–806.

Young C. W., S. Hodas, 1964, Science 146: 1172–1174.

Praca ta była finansowana przez Państwową Radę d/s Pokojowego wykorzystania Energii Jądrowej.