

BOŻENNA OLSZAŃSKA
Rolnicza Pracownia Izotopowa PAN

POBIERANIE MOCZNIKA PRZEZ ROŚLINY NA TLE POBIERANIA NIEKTÓRYCH INNYCH ZWIĄZKÓW ORGANICZNYCH

Mocznik — związek o składzie $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, o masie cząsteczkowej 60,06, dobrze rozpuszczalny w wodzie (109,4 g/100 ml wody w 21°C), ma stosunkowo małą stałą dysocjacji — $1,5 \times 10^{-14}$, prawie taką jak woda, a więc w roztworach wodnych znajduje się w formie niezdisocjowanej. Stała dielektryczna roztworów mocznika o stężeniach mniejszych od molarnego też różni się niewiele od stałej dielektrycznej wody.

Przez dłuższy czas utrzymywało się mniemanie, że mocznik pobierany jest przez rośliny po rozłożeniu do NH_3 i CO_2 , gdyż jego rozkład w warunkach polowych zachodzi tak szybko, że roślina z całą cząsteczką mocznika praktycznie się nie styka. Jednak, jak wiadomo, przy stosowaniu mocznika dolistnie, a nawet doglebowo, mogą zaistnieć warunki hamujące rozkład mocznika i dlatego wydaje się celowe poznanie możliwości pobierania tego związku w postaci całej, nierozłącznej cząsteczki. Istnieje szereg prac wykonanych na roślinach niższych (3,7,29,85) jak i wyższych (13,20,24,31,34,35,50,51,53,54,60,92), gdzie autorzy bezpośrednio stwierdzają zwiększenie ilości mocznika w komórkach lub tkankach roślin rosnących na pożywce z mocznikiem. Niektórzy autorzy stwierdzają, że mocznik może być zużytkowywany jako źródło azotu i węgla przez *Chlorella* — organizm, w którym nie znajdowano aktywnej ureazy, a więc mocznik nie ulegał enzymatycznemu rozkładowi wewnątrz komórek, ani też tym bardziej na zewnątrz — przed absorpcją (5,7,22,29,30,85,94). Freiberg (24) wykazał absorpcję mocznika przez liście banana, Cain (13) — przez liście banana, kawy i kakao, a japońscy uczeni (31,50) przez korzenie ryżu, mimo że nie wykryto aktywności ureazy w tkankach korzenia ryżu i tkankach asymilujących banana.

Już w latach 30-tych Yamaguchi (92,93) stwierdził pobieranie mocznika przez młode roślinki kukurydzy w warunkach sterylnych. Analizując sok wyciśnięty z liści oraz krople gutacji wydzielone przez kukurydzę rosnącą na roztworach mocznika o różnym stężeniu, stwierdził on obecność mocznika w kroplach gutacji oraz w soku z liści, przy jego stężeniu w pożywce 0,02 mol. Przy stężeniu mocznika 0,004 mol wydzielania mocznika nie obserwowano, ale w soku liści można było go wykryć

nawet przy tak niskiej koncentracji. Aktywność ureazy po 16 godz. inkubacji z mocznikiem była bardzo nieznaczna — stosunkowo największa w zarodku i scutellum, w liściach i korzeniach prawie żadna.

Przy wzroście roślin na pożywkach z dodatkiem mocznika jako źródła azotu, wykrywano go w płaczu roślin grochu (59) i kukurydzy (53). Bezpośrednie oznaczenia wolnego mocznika w tkankach roślin ziemniaka (51), rajgrasu (34,35), fasoli (88), po ich infiltracji roztworami mocznika, wykazało jego obecność w tkankach infiltrowanych oraz w tkankach liści jabłoni i brzoskwini umieszczonych ogonkami w roztworze mocznika (20). Pawłow (60) po opryskaniu liści kukurydzy 4% roztworem mocznika znajdował, po upływie 45 min, około 0,36% mocznika w tkance (w przeliczeniu na suchą masę); jednocześnie kontrola bez mocznika wykazywała 0%.

W pracy Ostromeckiej (56) nad pobieraniem azotu z mocznika i azotanu amonu przez owies zabezpieczono się przed możliwością rozkładu mocznika w pożywce przez częstą zmianę roztworów — co 3 godz. Wzrost i rozwój roślin na moczniku — chociaż gorszy niż na NH_4NO_3 — oraz zwiększenie ilości N całkowitego wykazały, że owies pobierał mocznik jako całą cząsteczkę, bez jej rozkładu.

Prócz omówionych wyżej prac, w których autorzy przez odpowiednie dobranie warunków doświadczenia zabezpieczyli mocznik przed rozkładem, lub też, po okresie absorpcji, oznaczali bezpośrednio mocznik w tkankach roślinnych, cały szereg innych badaczy obserwowało wzrost zawartości N w roślinie przy podawaniu mocznika dokorzeniowo (12,32) i dolistnie (14,21,23,48,60,68), a także obecność C^{14} i N^{15} w tkankach roślin, którym podawano mocznik znakowany (49,50,84). Jednak w tych doświadczeniach istniała możliwość rozkładu mocznika do momentu pobrania.

Obecnie więc pobieranie mocznika przez rośliny jako całej, niezdyso-cjowanej cząsteczki można uważać za udowodnione. Nie wyklucza to oczywiście pobierania poszczególnych składników NH_3 i CO_2 po jego rozkładzie, ale to pobranie odbywa się już na zasadzie pobierania jonów i nie wchodzi w zakres niniejszego przeglądu.

Rośliny mogą pobierać mocznik dwoma sposobami: w postaci niezdyso-cjowanej cząsteczki, lub po jej rozkładzie do NH_3 i CO_2 , zależnie od formy, z jaką się stykają. Ponieważ w warunkach glebowych zawsze zachodzi hydroliza mocznika, chociażby w niewielkim stopniu, a więc najczęściej oba te procesy przebiegają jednocześnie.

Pobieranie wszelkiego rodzaju substancji do wnętrza komórki może odbywać się na drodze pasywnego lub aktywnego przenikania przez błony komórkowe (77). Pobieranie pasywne zachodzi na zasadzie procesów fizyko-chemicznych, zgodnie z kierunkiem gradientu stężeń i potencjałów

elektrochemicznych. Może być opisane prawem Ficke'a i równowagi Donanna.

$$\frac{\partial m}{\partial t} = -DA \frac{\partial c}{\partial x}$$

gdzie: $\frac{\partial m}{\partial t}$ — ilość substancji (g) przeniesiona w jednostce czasu (sek.)

$\frac{\partial c}{\partial x}$ — gradient stężenia (g/cm³cm)

A — powierzchnia, przez którą zachodzi dyfuzja (cm²)

D — współczynnik dyfuzji — ilość substancji dyfundująca

przez 1 cm² w jednostce czasu, przy $\frac{\partial c}{\partial x} = 1$ (cm²sek),

zależny od t i d .

Dla związków niezdysojowanych równowaga Donanna nie odgrywa roli, gdyż cząsteczki ich nie posiadają ładunku elektrycznego.

Pobieranie aktywne zachodzi na drodze metabolicznych procesów związanych z wydatkowaniem energii i może prowadzić do akumulacji substancji wbrew gradientowi stężeń i potencjałów elektrochemicznych (70,77). Pojęcie aktywnego pobierania nie jest określone ścisłą definicją, zawierającą w sobie ilościową stronę tego zjawiska. Dlatego też przy analizie procesu pobierania jako kryteria istnienia procesu aktywnego przyjmuje się szereg czynników (70) a mianowicie:

1) stężenie — pobieranie aktywne nie jest liniową funkcją stężenia i szczególnie przy wyższych koncentracjach daje się obserwować faza nasycenia;

2) zjawisko konkurencji — w wypadku aktywnego pobierania można je obserwować przy obecności w roztworze chemicznie podobnych związków lub jonów;

3) wybiórczość — dla procesu aktywnego obserwuje się w stosunku do różnych, ale podobnych pod względem chemicznym związków, np. dla izomerów optycznych;

4) temperatura — współczynnik temperatury Q_{10} jest wyższy ($Q_{10} = 2-4$) dla procesów metabolicznych niż dla dyfuzji ($Q_{10} = 1-1,5$);

5) aktywność metaboliczna — pobieranie aktywne zależne jest od aktywności metabolicznej tkanki, od dostawy tlenu;

6) wrażliwość na inhibitory — aktywna składowa pobierania wrażliwa jest na działanie inhibitorów, jak np. KCN, DNP i in.;

7) akumulacja wbrew gradientowi stężeń i potencjału elektrochemicznego — jak dotąd najpewniejsze kryterium istnienia aktywnego procesu.

Wszystkie te czynniki należy rozpatrywać łącznie, gdyż każdy z nich

wzięty oddzielnie nie może dać jeszcze właściwego pojęcia o charakterze procesu pobierania.

Dla rozdzielenia procesu aktywnego i pasywnego Handley et al. (28) zastosowali pomysłową metodę oznaczenia pobierania jonów przez młode korzonki kukurydzy w różnym stadium wzrostu. Wychodząc z założenia, że pobieranie aktywne wymaga istnienia półprzepuszczalnej błony jako bariery dla swobodnego ruchu jonów, badali pobieranie Na^{22} przez bardzo młode, jeszcze niezvakuolizowane odcinki korzeni, w których nie było jeszcze wykształconego tonoplastu, oraz przez odcinki starsze, zvakuolizowane. Jeśli by bariera półprzepuszczalna umiejscowiona była w tonoplastcie, to tkanka niezvakuolizowana nie miałaby zdolności pobierania aktywnego. I rzeczywiście — doświadczalnie stwierdzono, że pobieranie Na^+ przez tkankę niezvakuolizowaną było podobne w niższej i wyższej temperaturze (2 i 26°), podczas gdy dla tkanki starszej pobieranie w temperaturze 26° było znacznie większe niż w temp. 2° , co świadczyłoby o istnieniu procesu aktywnego.

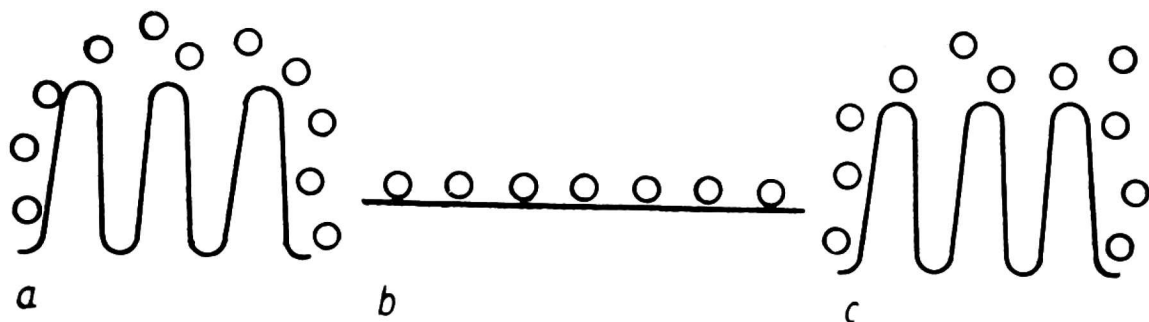
Mechanizm aktywnego pobierania nie jest jeszcze wyjaśniony ostatecznie i istnieje szereg hipotez tłumaczących różne strony tego procesu.

Pobieranie anionów wiązane było ze składową oddychania stymulowaną przez dodatek soli do roztworu (43,44,45). Hipoteza Lundegardha zakłada przenoszenie anionów wzdłuż systemu cytochromowego odwrotnie do kierunku przenoszenia elektronu, tzn. od oksydazy cytochromowej, poprzez cytochromy c, b, do wodoru utlenionego H^+ , gdzie wytworzony kwas może łączyć się z kationem dając neutralną sól. Dane doświadczalne wykazały, że zahamowaniu anionowej składowej oddychania przez dodatek inhibitorów (KCN, azyd, CO w ciemności) towarzyszy zmniejszone pobieranie anionów (44). Jednak inne dane, jak np. różny stopień pobrania anionów o tym samym znaku oraz zahamowanie przez DNP pobierania anionów bez wpływu na anionowe oddychanie, nie dadzą się wytłumaczyć na tej zasadzie (57). Lokalizacja takiego systemu przenoszenia anionów w komórce też pozostaje niewyjaśniona, a aktywne pobieranie kationów i związków niezvakuolizowanych wymagają oddzielnej teorii.

Bardziej ogólną hipotezę pobierania przedstawił Goldacre (26), postulując mechanizm pobierania związków przez zwijanie się i rozwijanie łańcuchów białkowych, według schematu na rys. 1.

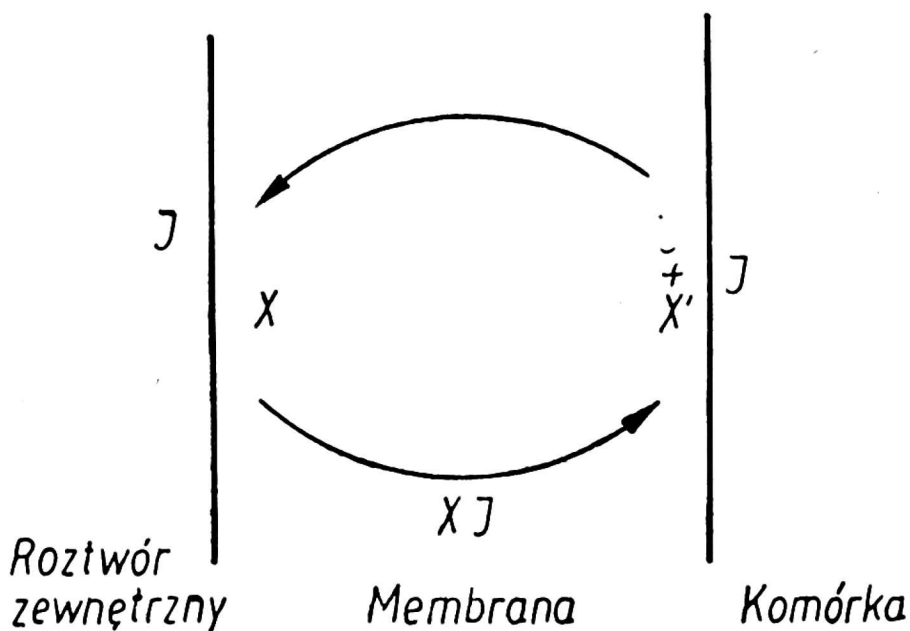
Na potwierdzenie swojej hipotezy przytacza szereg danych z obserwacji nad amebą oraz zwraca uwagę na fakt, że zwijanie się i rozwijanie molekuł białka jest zjawiskiem powszechnym w żywych komórkach.

W ostatnich latach największą popularność zdobyła sobie teoria nośników (39,57,77), która nie tylko obejmuje swoim zasięgiem wszystkie związki pobierane, ale pozwala na wytłumaczenie takich zjawisk jak wybiórczość oraz konkurencja między pobieranymi substancjami.



Rys. 1. Schemat pobierania i przenoszenia substancji według Goldacre'a

Najogólniej biorąc mechanizm nośnikowy zakłada istnienie w błonie związków, które przy zewnętrznej powierzchni błony reagują z jonami i w postaci takiego połączenia przechodzą do wewnętrznej powierzchni błony, gdzie ulegają rozpadowi na wolny jon (J) i nośnik (X), a raczej jego prekursor (X'). Wolny jon wchodzi do środowiska wewnętrznego, a prekursor wraca do zewnętrznej powierzchni, tworząc znowu nośnik.



Rys. 2. Schemat układu nośnikowego

Reakcja nośnika z jonem na powierzchni zewnętrznej błony może zachodzić różnymi drogami: adsorpcji, wymiany jonowej, wiązania chemicznego. Ani nośnik (X), ani też jego połączenie z jonem (XJ) nie może dyfundować na zewnątrz, ale swobodnie poruszają się w błonie. Podobnym mechanizmem można też objasnić pobieranie związków niezdysonowanych.

Charakter nośników nie jest znany. Przypuszczalnie są to wysokomolekularne związki białkowe (26,78), być może o charakterze enzymów (90), związki układu cytochromowego jako nośniki anionów (45,46) czy też aminokwasy (Steward i Street wg 57).

Najprawdopodobniej nie istnieje jeden uniwersalny układ nośnikowy przystosowany do przenoszenia wszelkich substancji, lecz szereg oddzielnych systemów, wyspecjalizowanych w przenoszeniu poszczególnych związków i jonów lub ich grup.

W ostatnich latach zwrócono uwagę na zjawisko pinocytozy, tzn. tworzenia w błonie plazmatycznej zagłębień w postaci pęcherzyków i kanalików i wychwytywania w ten sposób kropelek roztworu ze środowiska zewnętrznego. Autorzy sądzą, że być może jest to jeden ze sposobów pobierania substancji odżywczych ze środowiska (71.72.78).

W procesie pobierania i przenoszenia substancji przez błony plazmatyczne mogą jednocześnie występować procesy aktywne i pasywne. Początkowy etap pobierania stanowi zwykle pasywna adsorpcja i wymiana jonów na powierzchni błony i dyfuzja do „free-space”. Etap drugi — to aktywne, metaboliczne pobranie, połączone z wydatkowaniem energii (10,42,43,45,46,77), przebiegający znacznie wolniej niż początkowa pasywna adsorpcja.

Należy zwrócić uwagę na fakt, że zjawisko przenikania substancji przez błony, nawet w wypadku organizmów jednokomórkowych, nie ogranicza się tylko do przejścia przez zewnętrzną błonę plazmatyczną. Wewnątrz komórek istnieje szereg struktur posiadających błony półprzepuszczalne, a w wypadku organizmów wielokomórkowych procesy te są jeszcze bardziej złożone, gdyż oprócz struktur wewnątrzkomórkowych w grę wchodzi jeszcze przenikanie z komórki do komórki, przy czym wyodrębniają się całe tkanki i narządy wyspecjalizowane w przenoszeniu, pobieraniu i gromadzeniu związków (38).

Już w końcu ubiegłego stulecia Overton (wg 15,81), wykazał zależność pomiędzy szybkością przenikania związków organicznych przez błony komórkowe a długością ich łańcucha węglowego. Im dłuższa lipofilna część molekuly tym lepsza przepuszczalność dla tego związku. Na tej zasadzie Overton sądził, że zjawisko przepuszczalności polega na rozpuszczaniu się związków w lipidowej warstwie błony plazmatycznej. Inni autorzy (Ruhland wg 20,81 i 15,16,17) zakładali obecność por w błonie plazmatycznej, przez które cząsteczki mogłyby przenikać na zasadzie dyfuzji.

Obszerne badania Collander'a i jego szkoły nad przepuszczalnością błony plazmatycznej dla różnych związków organicznych doprowadziły do wniosków o lipidowo-sitowej budowie tej błony. Collander (16,17) badał zależność stałej przepuszczalności (P) dla różnych związków organicznych od masy cząsteczkowej (M) i współczynnika rozdziału (k) w rozpuszczalniku dwufazowym eter etylowy : woda lub oliwa : woda. Przedstawiając na wykresie zależność $PM^{1/2}$ od k dla szeregu substancji o różnej masie cząsteczkowej, stwierdził wyraźną zależność stałej przepusz-

czalności tłuszczowej danej substancji. Wpływ masy cząsteczki w zakresie 70—276 na przepuszczalność był nieznaczny, ale przejawiał się dla związków o masie $M < 70$. Przepuszczalność błony plazmatycznej dla tych związków była większa niż należałoby oczekiwać z ich rozpuszczalności tłuszczowej. Autor sądzi, że organiczne związki wielkocząsteczkowe przenikają przez błonę na zasadzie rozpuszczalności w warstwie lipoidowej, a cząstki o masie mniejszej od 70 mogą także dyfundować przez ultrapory w błonie. Efekt ten nazwano „efektem sitowym”, porównując przenikanie cząsteczek przez pory do przechodzenia przez sito. Collander zwraca uwagę, że czynnikiem decydującym jest nie tylko wielkość molekuly ale i jej kształt i rozkład ładunku elektrycznego, gdyż cząsteczki silnie rozgałęzione, jak np. tetrabutanol, triacetin, trójetylocytryniany, przenikają wolniej niż wskazywałyby ich masy i rozpuszczalność tłuszczowa. Collander uważa również, że nie można mówić o prostym zjawisku rozpuszczalności w stosunku do błon plazmatycznych. Według definicji Ulricha (wg 17), rozpuszczalność polega na dyspersji substancji w środowisku izotropowym, bez udziału sił powierzchniowych. A przecież jeśli chodzi o błony plazmatyczne to ani nie są one izotropowe w swojej strukturze, ani też nie można kwestionować roli sił działających na ich powierzchni.

Do wcześniejszych prac Collander'a krytycznie ustosunkowali się Dawson i Danielli, poddając w wątpliwość słuszność przedstawiania zależności P od k , gdyż według ich obliczeń należy wykreślać zależność $PM^{1/2}$ od k i twierdząc, że interpretowane w ten sposób dane Collander'a nie wykazują „efektu sitowego” dla małych molekuł. Próba obliczenia przez nich powierzchni por u *Beggiatoa mirabilis* na podstawie przepuszczalności ich błon dla mocznika dała w wyniku powierzchnię mniejszą niż powierzchnia molekuly ($0,0034 \text{ \AA}^2$). Jednak autorzy pracy wydanej w 1943 r. (19) nie znali późniejszych prac Collander'a (16,17) i innych (6), gdzie stwierdzano efekt sitowy również przy uwzględnieniu poprawki proponowanej przez Danielli.

Szereg zastrzeżeń jednak budzi metodyka doświadczeń Collander'a, gdyż, jak on sam pisze — niekiedy różnice w oznaczeniu P pomiędzy indywidualnymi komórkami *Nitella* dochodziły do 300%. Ponadto stosowana przez niego metoda oznaczania P na podstawie wymywanych ilości uprzednio pobranego związku mogła nie uchwycić pewnej części substancji pobranej i włączonej w metabolity komórek, tym bardziej, że aktywność metaboliczna badanych substancji była bardzo różna. Według oznaczeń Collander'a, mocznik należał do związków przenikających najwolniej — jego stała przepuszczalności dla komórek *Nitella* wynosiła 1,3.

Przy oznaczeniach P komórek roślinnych dla związków organicznych posługiwano się albo metodą plazmometryczną (15), metodą chemicznego

oznaczenia substancji wymywanych z komórek (17,86) lub metodą przyżyciowego barwienia komórek (6). Brak jest natomiast prac z użyciem techniki izotopowej, która, być może, pozwoliłaby na uzyskanie bardziej wiarogodnych wartości P .

Dla substancji organicznych możliwość aktywnego pobierania była także brana pod uwagę przez Collander'a (17), ale uważał on, że zjawisko to nie odgrywa większej roli. Na możliwość taką zwraca też uwagę Steinbach (75) pisząc; że być może w zjawisku przepuszczalności „czynnikiem decydującym nie jest jakaś fizyczna właściwość komórki, jak porowatość lub struktura lipoidowo-sitowa, ale mechanizm zależny od dostawy energii”.

W ostatnim dziesięcioleciu pojawiło się szereg prac, w których przedstawia się przykłady aktywnego przenikania związków organicznych przez błony plazmatyczne zwierzęce i roślinne.

Badania wykonane nad przepuszczalnością erytrocytów wykazały, że przenikanie cukrów zachodzi w nich na drodze procesu aktywnego, prawdopodobnie z udziałem nośników; np. glukoza łatwo wchodzi w komórki erytrocytów człowieka lub małą człekokształtnych tylko do pewnego stężenia, a z roztworów o stężeniu wyższym niż 2% pobieranie jej jest zahamowane (42). W podobny sposób zachowują się heksozy-aldozy: dekstroza, mannoza, galaktoza, natomiast przenikanie ketoz: sorbozy, lewulozy zachodziło zgodnie z prawami dyfuzji (42). Na tym obiekcie obserwowano też zjawisko antagonizmu przy pobieraniu cukrów — jednocześnie przenikanie *d*-ksylozy, *d*-arabinozy i glukozy było mniejsze niż suma poszczególnych ilości pobranych z pojedynczych roztworów tych cukrów (69,90). Antagonistyczne współoddziaływanie monocukrów stwierdził też Le Fevre (silne zahamowanie pobrania lewulozy w obecności glukozy, ale nie odwrotnie) (42). Współczynnik temperatury Q_{10} dla przenikania ketoz wynosił 3, a proces pobierania był wrażliwy na działanie inhibitorów (42). Niektóre inhibitory, jak floryzyna i cyjanki, hamują pobieranie glukozy z jelit (90).

Le Fevre sądzi, że przenikanie cukrów przez błonę erytrocytów jest związane wspólnym mechanizmem — prawdopodobnie wchodzi w grę pasywna dyfuzja i system nośnikowy, a względna szybkość tych procesów przejawia się w odmiennym zachowaniu aldoz i ketoz. Wilbrandt zwraca uwagę na fakt, że nie stwierdzono wypadków akumulacji cukrów w erytrocytach i proces przenikania prowadzi najwyżej do wyrównania stężeń.

W komórkach roślinnych, przy pobieraniu cukrów, obserwowano zjawiska podobne, a więc nasycenie pobierania przy większych stężeniach sacharozy (87) i glukozy (27,52), a także silne antagonistyczne działanie heksoz. Najsilniejsze konkurencyjne działanie wykazywała glukoza w sto-

sunku do innych (galaktozy i fruktozy), podczas gdy wpływ innych cukrów na jej pobieranie był niewielki. Pobieranie sacharozy w obecności glukozy, fruktozy i mannitu nie ulegało zmianie (82), ale dodatek równoważnych stężeń (1%) lewulozy, galaktozy, ksylozy, maltozy powodował silne zmniejszenie jej pobierania (76). Floryzyna hamowała pobieranie sacharozy, prawdopodobnie również na zasadzie konkurencji — zwiększenie zahamowania ze wzrostem stężenia inhibitora i odwrócenie tego procesu przy zwiększeniu stężenia sacharozy (76). Współczynnik temperatury Q_{10} dla pobierania sacharozy wynosił 1,8 dla temperatury $5,5^{\circ}$ — $14,6^{\circ}\text{C}$ oraz 1,5 dla temperatury $19,7^{\circ}$ — $28,0^{\circ}\text{C}$ (87), ale sposób obliczania Q_{10} w tym wypadku daje wyniki zaniżone. Zwiększenie temperatury z 10° do 30°C powodowało dwukrotne zwiększenie absorpcji sacharozy przez komórki epidermy *Allium cepa* (74). Dodatek jonów PO_4^{3-} stymulował pobieranie glukozy (oznaczane pośrednio, przez pomiar oddychania), przejawiała się też zależność tego procesu od pH (76). Z drugiej strony jednak obserwowano zmniejszenie pobierania sacharozy w obecności fosforanów Ca, Na i K (74). Wpływ światła na pobieranie cukrów nie jest dokładnie znany; są dane świadczące o stymulacji pobierania sacharozy (62) lub też o braku jakiegokolwiek efektu (87), ale pobieranie cukrów zależne było od dostawy tlenu (11).

Thimann i wsp. (80) wykazali wchodzenie mannitolu znakowanego C^{14} w tkanki bulwy ziemniaka. Większa część pobranego mannitolu dawała się na powrót usunąć w ciągu kilku minut, a pozostała — widocznie związana silniej — nie ulegała wypłukaniu nawet po dłuższym czasie. Autorzy identyfikują tę łatwo wymywalną część mannitolu z jego ilością znajdującą się we „free-space”, a pozostałą — z ilością pobraną do wnętrza komórki. Ponieważ jednak oznaczeń dokonywano na podstawie pomiarów wypłukiwanej radioaktywności C^{14} , nie jest wykluczone, że część C^{14} wchodziło w skład produktów metabolizmu przy tak długim okresie absorpcji, jaki ci autorzy stosowali (3 dni).

Powaznym dowodem istnienia aktywnego procesu pobierania cukrów są rezultaty badań Granta i Beevers'a, którzy wykazali ich akumulację w tkankach roślinnych ponad stężenie w środowisku zewnętrznym (27).

Jeżeli chodzi o pobieranie innych substancji organicznych, to wydaje się, że słabe kwasy, jak np. IAA (indoloocetowy) (1,67) czy jabłkowy (8) pobierane są łatwiej w formie niezdisocjowanej. Reinhold podaje (67), że krzywa pobierania IAA spadała silnie ze wzrostem pH, ale nie była równoległa do spadku stężenia cząstek niezdisocjowanych, i tę zależność od pH wykazywała tylko niemetaliczna składowa pobierania — metaboliczna pozostawała bez zmiany. Autorka tłumaczy to w ten sposób, że stężenie substratu nawet przy stosunkowo wysokim pH (7,2) wystarczało do nasycenia nośnika. Przenikanie 2,4-D (kwas dwuchlorofenoksyocetowy)

też jest łatwiejsze w postaci cząsteczek niezdysonowanych, ale aniony pobierane są również (89).

Pobieranie aminokwasów bez uprzedniego rozkładu ich cząsteczek zostało potwierdzone wielokrotnie (10,65,73,83) różnymi metodami. Virtanen oznaczał stosunek C:N w roztworze kwasu asparaginowego przed i po absorpcji, i stosunek ten pozostawał stały, równy 3,43, tzn. tak jak w cząsteczce aminokwasu. W trakcie doświadczeń nie stwierdzał on zmian pH ani obecności NH_4^+ .

Obserwowano obecność aminokwasów w płaczu roślin hodowanych na ich roztworach (73) i gromadzenie się aminokwasów w tkance (4,65), a także ich desorpcję na powrót z tkanki do roztworu (10).

Przy rozpatrywaniu krzywej kinetyki pobierania aminokwasów (alanina, seryna, kwas glutaminowy) przez tkanki mezofilu i tkanki przewodzące wyróżnia się początkowy okres szybkiej absorpcji fizycznej — około 15 min, po którym następował wolniejszy proces pobierania aktywnego (10). Taki sam charakter krzywych kinetyki stwierdzono dla 2,4-D i wykazano, że w początkowej fazie absorpcji jego pobranie było liniową funkcją stężenia; w następnej, metabolicznej fazie pobieranie było względnie szybsze przy niższym stężeniu ($5 \times 10^{-5} \text{ M}$), co autor przypisuje wysyceniu enzymów przy stężeniu większym (10^{-3} M) (89). Druga faza pobierania aminokwasów była hamowana przez DNP 10^{-4} M , ale efekt ten uległ odwróceniu przez dodatek ATP, co wskazuje na związek metabolicznej fazy absorpcji z procesami oksydatywnej fosforylacji (10). Pobieranie aminokwasów wrażliwe było także na działanie innych inhibitorów: NaN_3 , NaF, Co (91) i HCN, HN_3 (88). Pobieranie IAA zmniejszało się przy dodaniu KCN nawet silniej niż proces oddychania (67).

Konkurencję między aminokwasami obserwował Ratner i Wright (66,91). Pobranie glikokolu i tyrozyny zmniejszało się przy dodaniu do roztworu alaniny i feniloalaniny, przy czym dodatek aminokwasu podobnego strukturalnie miał efekt silniejszy. Arisz podaje także obserwacje dotyczące zahamowania pobrania asparaginy w liściach *Valisneria spiralis* w obecności sacharozy (4). Natomiast między glicyną a jej dwupeptydem konkurencji nie stwierdzono i pobieranie dwupeptydu było kilkakrotnie większe niż aminokwasu (41). Konkurencji nie stwierdzono również przy przenikaniu ornityny i cytruliny w tkanki wątroby, a pobieranie ich było proporcjonalne do stężenia w środowisku zewnętrznym (9). Z innych czynników branych pod uwagę przy analizie procesu pobierania stwierdzono zależność absorpcji aminokwasów (4,88,91) i IAA (67) od dostępu tlenu.

Powyższe fakty wskazują na istnienie aktywnego procesu w pobieraniu aminokwasów przez tkanki roślinne, chociaż brak jest danych o akumulacji aminokwasów wbrew gradientowi stężenia.

W procesie pobierania wody istnienie składowej aktywnej budzi jeszcze szereg zastrzeżeń. Wprawdzie oznaczenia Q_{10} dla przenikania wody do komórki dały wartości bardzo wysokie — 2 do 10 (2) i obserwowano zmniejszenie pobierania wody w obecności CO_2 oraz przy braku tlenu (25), ale było to prawdopodobnie wywołane zmianą własności protoplazmy i błon plazmatycznych. Osterhout (55) zwraca uwagę na łatwość przenikania wody do komórek i dużą szybkość tego procesu pomimo wysokiego stopnia hydrofobowości substancji błon plazmatycznych. Szczerbakow (79), oznaczając pobranie wody przez żywe i martwe tkanki, próbował udowodnić istnienie mechanizmu aktywnego, ale jego doświadczenia nie są przekonujące, bo zabicie liści przez wysuszenie w temperaturze 105°C powoduje nieodwracalną denaturację koloidów plazmy i stąd trudności porównywania i interpretacji wyników. Według Kramera (37,38), pasywne pobieranie wody odgrywa rolę zasadniczą, a istnienie aktywnego procesu nie jest udowodnione.

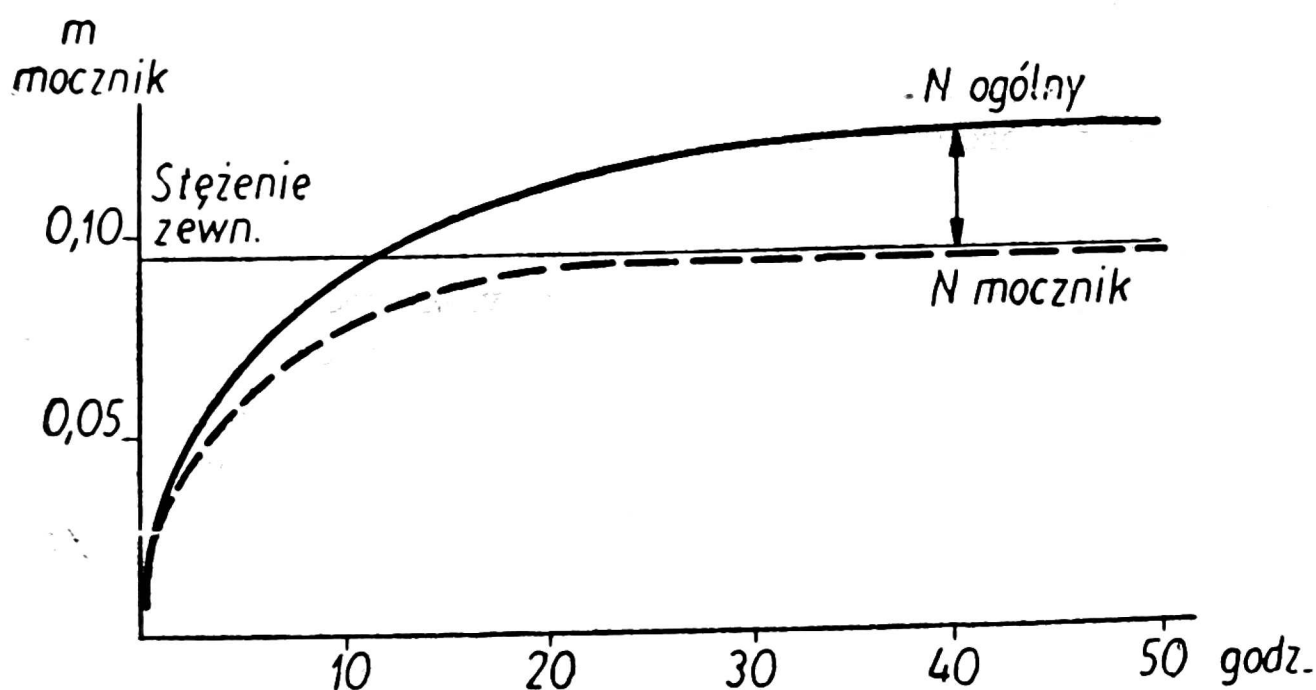
Jeśli chodzi o pobieranie mocznika, to większość istniejących danych wskazuje na pasywny proces jego absorpcji. Absorpcja mocznika wykazuje proporcjonalną zależność od stężenia (31, 36, 40). W doświadczeniach Hirose (31) pobieranie mocznika i jonów NH_4^+ , w zależności od stężenia, przebiegało odmiennie. Pobranie NH_4^+ przez młode roślinki ryżu wzrastało ze wzrostem stężenia w pożywce do 20 ppm, następnie do 80 ppm obserwowano pewne zwolnienie tempa pobierania i w stężeniach wyższych absorpcja zaczynała się zmniejszać. Natomiast pobieranie mocznika zwiększało się stale ze wzrostem stężenia i nawet przy 250 ppm nie pojawiała się faza nasycenia. Inni autorzy (36, 40) znajdowali około dwukrotnie większą absorpcję mocznika z roztworu 4% niż 2%.

Niektórzy autorzy przypisują ochronne działanie sacharozy, w wypadku wyższych stężeń mocznika, zmniejszeniu jego absorpcji w obecności cukru (18,40,58), ale bezpośrednio zmniejszenie absorpcji stwierdzono tylko w jednym wypadku (18). Jak jednak wiadomo, brak węglowodanów w roślinie powoduje zatrucie amoniakiem (64,93), a asymilacji N z mocznika towarzyszyło zawsze zwiększenie intensywności oddychania i zużycowania węglowodanów (30,33,61). Można więc sądzić, że dodatek sacharozy działa neutralizująco na produkty rozkładu mocznika, dostarczając substratu do wiązania amoniaku. Potwierdzają to doświadczenia Pawłowa (61) z opryskiwaniem kukurydzy roztworami mocznika i gibereliny, który znajdował przyrost N ogólnego i białkowego w kombinacji mocznik + giberelina większy niż przy samym moczniku.

Współczynnik temperatury Q_{10} dla absorpcji mocznika przez liście cytrusowych wynosił 1,19 — 1,44 (40). Pobieranie mocznika zahamowane było dodatkiem niektórych inhibitorów: DNP, NaN_3 , PCMB, CO, a pozostawało bez zmiany po dodaniu innych: KCN, arseniany, fluorek, ure-

tan, tiomocznik, hydrazyna, borany, chlorany (29,63). Wpływ inhibitorów na pobieranie mocznika można jednak odnieść do zmian w metabolizmie azotu i przepuszczalności błon plazmatycznych, a nie tylko do zahamowania aktywnej składowej pobierania. Oświetlenie prawdopodobnie działa na pobieranie mocznika pośrednio, poprzez zmianę poziomu węglowodanów, temperatury i wilgotności (18,29,84). Wykazano pewien wpływ pH (18,84) — najniższe pobranie było przy $\text{pH} \approx 7$.

Prell (63), badając pobieranie mocznika i wody przez tkanki *Taraxacum* i *Helodea*, stwierdził, że stężenie mocznika w komórkach przekraczało jego stężenie w środowisku zewnętrznym. Ilości absorbowanego



Rys. 3. Pobieranie mocznika przez tkankę *Taraxacum* (wg 54)

mocznika obliczane były na podstawie oznaczeń N całkowitego, ale ponieważ w tkankach *Taraxacum* nie wykryto aktywności ureazy, więc autor przyjął, że cały mocznik w tkance znajdował się w postaci niezmięnionej. Ta akumulacja mocznika wskazywałaby na jego transport niezgodny z gradientem koncentracji, a tym samym na aktywny proces pobierania. Jednak Mothes na podstawie danych uzyskanych w jego laboratorium inaczej komentuje wyniki Prella. Przy powtórzeniu doświadczeń Prella otrzymano również przyrost N całkowitego przekraczający jego stężenie w środowisku zewnętrznym, ale bezpośrednie oznaczenie zawartości mocznika wykazało, że stężenie mocznika w tkance nigdy nie przekraczało stężenia w roztworze (rys. 3). A więc otrzymywany przyrost N całkowitego spowodowany był prawdopodobnie szybkim metabolizmem mocznika w tkance, przy czym usuwany był on z równowagi dyfuzyjnej. Tak więc jeden z najbardziej przekonujących dowodów aktywnego pobierania mocznika został zachwiany.

Jak wynika z powyższych danych, mechanizm pobierania mocznika pozostaje w dalszym ciągu niewyjaśniony. Pewne fakty, jak np. zależność od obecności inhibitorów, od pH, świadczyłyby na korzyść procesu aktywnego. Z drugiej strony liniowa zależność od stężenia, niski Q_{10} , wskazywałyby na obecność procesu pasywnego. O ile udział składowej aktywnej w pobieraniu szeregu związków organicznych, jak cukry czy aminokwasy, można uważać za dowiedziony, to dla mocznika zagadnienie to pozostaje w dalszym ciągu otwarte.

LITERATURA

1. Albaum H. G., Keiser S., Nestler H. A.: *Am. Journ. Bot.*, t. 24, nr 8, 513—518 (1937).
2. Aleksiejew A. M., Sowietowa A. I., Samodielkina S. D.: *Fizjoł. Rast.*, t. 6, nr 6, 649—653, (1959).
3. Allison R. K. et al: *Plant Phys.*, t. 29, nr 2, 164—168, (1954).
4. Arisz W. H., v. Dijk P. J. S.: *Proc. Kon. Neder. Akad. v. Wetensch.*, t. 42, 820—831, (1959).
5. Arnow P., Olsen J. J., Williams J. H.: *Am. Journ. Bot.* t. 40, 100—104, (1953).
6. Äyräpää T.: *Phys. Plant.*, t. 3, nr 4, 402—429, (1950).
7. Baker J. E., Thompson J. F.: *Plant Phys.*, t. 37, nr 6, 618—624, (1962).
8. Beevers H. E., Goldshmidt P., Koffler H.: *Arch. Biochem. a. Biophys.*, t. 39, nr 1, 236—238, (1952).
9. Bronk J. R., Fisher R. B.: *Bioch. Journ.* t. 64, 106—111, (1956).
10. Browczenko J. I.: *Fizjoł. Rast.* t. 10, nr 4, 416—425, (1963).
11. Brown R.: *Int. Rev. Cytol.*, t. 1, 107—118, (1952).
12. Bullock R. M., Benson N. R., Tsai B. K.: *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, t. 60, 71—74, (1952).
13. Cain J. C.: *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, t. 67, 279—286, (1956).
14. Cartwright P. M., Snow D.: *Annals of Bot.*, t. 26, nr 102, 251—258, (1962).
15. Collander R.: *Phys. Plant.*, t. 2, 300—311, (1949).
16. Collander R.: *Phys. Plant.*, t. 3, 45—57, (1950).
17. Collander R.: *Phys. Plant.*, t. 7, 420—445, (1954).
18. Cook J. A., Boynton D.: *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, t. 59, 82—90, (1952).
19. Dawson H., Danielli J. F.: *The Permeability of Natural Membranes.* Cambridge, 1943.
20. Dilley D. R., Walker D. R.: *Plant Phys.*, t. 36, nr 6, 757—761, (1961).
21. Eckert J. W., Childers N. F.: *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, t. 63, 19—22, (1954).
22. Ellner P. D., Steers E.: *Arch. Biochem. a. Biophys.*, t. 59, 534—535, (1955).
23. Fisher E. C.: *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, t. 59, 91—98, (1952).
24. Freiberg S. R., Payne P.: *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, t. 69, 226—234, (1957).
25. Glinka Z., Reinhold L.: *Plant Phys.*, t. 37, nr 4, 481—486, (1962).
26. Goldacre R. J.: *Intern. Rev. Cytol.* t. 1, 135—164, (1952).
27. Grant B. R., Beevers H.: *Plant Phys.* t. 39, nr 1, 78—85, (1964).
28. Handley R., Vidal R. D., Overstreet R.: *Plant Phys.*, t. 35, nr 6, 907—912, (1960).
29. Hattori A.: *Journ. Bioch. (Tokyo)*, t. 44, nr 5, 253—273, (1957).

30. Hattori A.: Journ. Bioch. (Tokyo), t. 45, nr 1, 57—64, (1958).
31. Hirose S., Goto Y.: Soil Sci. a. Plant Nutr., t. 7, nr 2, 85, (1961).
32. Hutchinson H. B., Miller N. H. J.: Journ. Agric. Sci. t. 4, 282—302, (1912).
33. Kalinkiewicz A. F.: Ziemielielije, nr 6, 45—49, (1954).
34. Kaniuga Z.: Acta Soc. Bot. Pol., t. 27, 313—322, (1958).
35. Kaniuga Z.: Acta Soc. Bot. Pol. t. 27, 323—340, (1958).
36. Keleg F. M., Baghdadi H. A., Minessy F. A.: Ph. D. Thesis, University of Alexandria, 1959 r.
37. Kramer P. J.: Plant and Soil Water Relationship, N. Y. — Toronto-London, 1943.
38. Kramer P. J.: Ann. Rev. Plant Phys. t. 6, 253—273, (1956).
39. Kursanow A. J.: Agrochimica, t. 6, nr 3, 205—230, (1962).
40. Kuykendall J. R., Wallace A.: Proc. Am. Soc. Hort. Sci., t. 64, 112—127, (1954).
41. Leach F. R., Snell E. E.: Bioch. et Biophys. Acta., t. 34, 292—293, (1959).
42. LeFevre P.: Symp. Soc. Exptl. Biol., t. 8, 118—135, (1954).
43. Lundegardh H.: Phys. Plant., t. 2, 388—400, (1949).
44. Lundegardh H.: Phys. Plant. t. 3, 103—150, (1950).
45. Lundegardh H.: Ann. Rev. Plant Phys., t. 6, 1—24, (1955).
46. Lundegardh H.: Phys. Plant., t. 12, 336—341, (1959).
47. Lundegardh H.: Phys. Plant., t. 12, 342—351, (1959).
48. Malavolta E., Arzolla J. D. P., Haag H. P.: Plant Phys., t. 32, suppl. (1957).
49. Mitsui S., Tenesho K., Kurihara K.: w Radioisotopes in Scientific Research, Ed. Extermann R. C. London, 1958.
50. Mitsui S., Kurihara K.: Soil Sci. a. Plant Nutr., t. 8, nr 6, 219—225, (1962).
51. Mokronosow A. T., Ilinych Z. G.: Dokł. Ak. Nauk SSSR, t. 154, nr 6, 1454—1457, (1964).
52. Moses V.: Journ. Exp. Bot., t. 6, nr 17, 222—234, (1955).
53. Mosołow I. B., Pylniowa P. I.: Wiestn. Sielsk. Nauki, nr 9, 42—46, (1963).
54. Mothes K.: Can. Journ. Bot. t. 39, 1785—1807, (1961).
55. Osterhout W. J. V.: Journ. Gen. Physiol., t. 33, nr 4, 275—284, (1950).
56. Ostromęcka M.: Roczn. Nauk Roln., t. 82-A-2, 473—488, (1961).
57. Overstreet R., Jacobson L.: Ann. Rev. Plant Phys., t. 3, 188—206, (1952).
58. Ozaki H. Y., Carew J.: Proc. Am. Soc. Hort. Sci., t. 64, 307—310, (1954).
59. Pate J. S., Wallace W.: Ann. Bot., t. 28, nr 109, 83—99, (1964).
60. Pawłow A. N.: Dokł. Ak. Nauk SSSR, t. 134, 475—477, (1960).
61. Pawłow A. N.: Fizjoł. Rast., t. 10, nr 5, 556—560, (1963).
62. Phyllis E., Mason T. G.: Ann. Bot. N. S., t. 1, 231—237, (1937).
63. Prell H.: Planta, t. 46, 361—380, (1955).
64. Prianisznikow D. N.: Azot w żizni rastienii i w ziemielielii, Izbrannyje Soczinienija, t. 2, Moskwa, 1953.
65. Ratner J. I., Smirnow A., Huan-Kui-Szu, Uchina C., Kuzowkina I. I.: Fizjoł. Rast. t. 10., nr 6, 673—681, (1963).
66. Ratner J. I., Besiermieni Z.: Fizjoł. Rast., t. 6, nr 5, 537—543, (1959).
67. Reinhold L.: New Phytologist, t. 54, nr 2, 217—239, (1954).
68. Rodney D. R.: Proc. Am. Soc. Hort. Sci., t. 59, 99—102, (1952).

69. Rosenberg T., Wilbrandt W.: *Int. Rev. Cytology*, t. 1, 65—89, (1952).
70. Rosenberg T.: *Symp. Soc. Exptl. Biol.* t. 8, 27—41, (1954).
71. Salajew R. K.: w „Tiezisy dokładow II-oj konferencji fizjologow i biochimikow rastienii Sibirii i Dalniego Wostoka” Irkuck 1964.
72. Salajew R. K.: w „Tieorieticzeskije osnovy riegulirowanija mineralnogo pitaniija rastienii” Moskwa, 1964.
73. Shimoda Y.: *Soil a. Plant Food*, t. 6, nr 2, 59—65, (1960).
74. Starck-Turnowska Z.: *Acta Soc. Bot. Polon.* t. 28, nr 3, 409—424, (1959).
75. Steinbach H. B.: *Ann. Rev. Plant Phys.* t. 2, 323—342, (1951).
76. Street H. A., Lowe J. S.: *Ann. of Bot.* t. 14, 307—329, (1950).
77. Sutcliffe J. E.: *Mineral Salts Absorption in Plants*. London, 1962.
78. Sutcliffe J. E.: ustny komunikat, odczyty w Moskwie, 1966.
79. Szczerbakow B. I. *Fizjoł. Rast.*, t. 11, nr 2, 325—327, (1964).
80. Thimann K. V., Loos G. M., Samuel E. W.: *Plant Phys.* t. 35, nr 6, 848—853, (1960).
81. Troszin A. S.: *Problema klietocznoj pronicajemosti*, Moskwa, 1956.
82. Turkina I. W., Kursanow A. L., Sokołowa S. W.: *Fizjoł. Rast.*, t. 10, nr 5, 800—811, (1964).
83. Virtanen A. J., Linkola H.: *Nature*, t. 158, nr 4015, 515—515, (1946).
84. Volk R., McAuliffe C.: *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, t. 18, 308—312, (1954).
85. Walker J. B.: *Proc. Nat. Acad. Sci. US.*, t. 38, nr 7, 561—563, (1952).
86. Wartiovaara W.: *Phys. Plant.*, t. 2, 184—195. (1949).
87. Weatherley P. E.: *New Phytologist*, t. 52, nr 2, 204—216, (1954).
88. Webster G. C., Varner J. E., Gansa A. N.: *Plant Phys.* t. 30, nr 3, 372—374, (1955).
89. Wedding R. T., Erickson L. C.: *Plant Phys.*, t. 32, 503—512, (1957).
90. Wilbrandt W.: *Symp. Soc. Exptl. Biol.*, t. 8, 136—162, (1954).
91. Wright D. E.: *Arch. Bioch. et Biophys.*, t. 97, 174—180, (1962).
92. Yamaguchi S.: *J. Fac. Sci. Hokkaido Univ.*, ser. 5 Bot., t. 1, 37—55, (1930).
93. Yamaguchi S.: *J. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ.*, ser. 5, t. 4. 47—64, (1935).
94. Yokoyama K., Slonim R. A.: *Plant Phys.* t. 37, suppl. (1962).