

鈣 在 Auxin 的作用上 扮演的角色

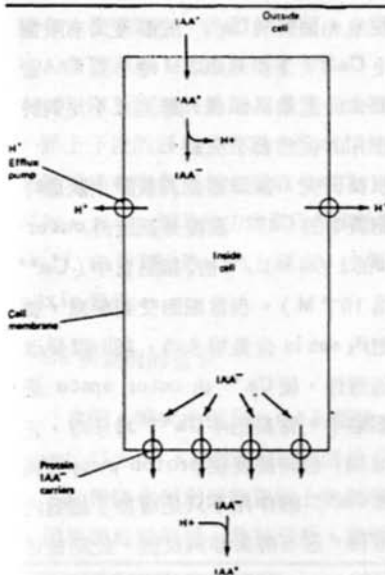
傅立香

我們都知道，鈣是植物體之必要元素。它在代謝作用上占重要的一席位，當植物體缺 Ca 時，最易讓人聯想到的就是細胞膜受損，但少有人會想到 Ca 與 auxin 有直接的關係。Auxin 在缺 Ca 的情形下，幾乎無法發揮其使細胞延長的效用。Ca 的重要性到底在哪裡呢？以下就 Auxin 的作用上，探討 Ca 的角色。

如衆所知悉的，auxin 是由莖頂細胞所產生，向下運送到延長部位，使植物細胞得以伸長，auxin 之運輸並非單純的擴散作用，在許多使用莖、葉鞘的試驗當中都發現 auxin 的移動速度大於擴散，是一種主動運輸。且燕麥的試驗中亦發現葉鞘的背光面 auxin 增多，而向光面鈣離子濃度提高如题目的暗示，auxin 的行為自然是與 Ca 離子有極大的關係，至於關係如何？請詳閱以下解說。

一、Ca 與 auxin 的運轉

在早先的假說中，將 auxin 的極化運輸模式解釋如圖 1。由不帶電荷的 auxin 進入細胞中，經 proton pump 將 H^+ 打出細胞外，使細胞內呈鹼性，進入的 auxin 便解離出 H^+ ，成 IAA^- ， IAA^- 便又可經由細胞下方的攜體 (carrier) 帶出細胞外。因而有試驗研究認為 auxin 會造成細胞的酸化，而此種酸化又與陽離子有關。由 Jerry 等 (1976) 的試驗顯示，不同的陽離子對 IAA 造成的酸化有不同程度的促進作用，其中尤以 Ca^{++} 、 Mg^{++} 最為顯著，在更多的試驗當中又顯示，祇有 Ca^{++} 對 auxin 造成的酸化有最大的促進作用。圖 2 是個差別明顯的實驗，當無 IAA 的存在時，單獨的 Ca^{++} 並不引起植物組織的酸化，祇有在 IAA 存在時，才有



Only non-ionized IAA diffuses in through the cell membrane, since lipid solubility is needed for penetration

In the cell the higher pH causes the IAA⁰ to ionize to IAA⁻. The higher pH is maintained by the outward pumping of H⁺ ions. As interior IAA⁰ concentration is lowered IAA⁰ continues to diffuse in

IAA⁻ is now at a higher concentration inside the cell than outside. It cannot cross the lipid cell membrane. It exits down a concentration gradient via specific carriers that are located only at the lower end of the cell

At the pH outside, IAA⁻ changes to IAA⁰ and diffuses into the next cell

圖 1. A possible way in which polar auxin transport takes place.

表 1. Effect of IAA on Acidification in the Presence of Various Salts

| Treatment | +10 ^μ M IAA | Without IAA |
|--------------------------|------------------------|-------------|
| 1 mM HEPES-NaOH | 0.52 ± 0.09 | 0.49 ± 0.01 |
| +1 mM CaCl ₂ | 0.84 ± 0.06 | 0.47 ± 0.02 |
| +1 mM MgCl ₂ | 0.85 ± 0.09 | 0.44 ± 0.03 |
| +1 mM KCl | 0.49 ± 0.05 | 0.44 ± 0.04 |
| +1 mM NaCl | 0.50 ± 0.03 | 0.44 ± 0.06 |
| +1 mM NH ₄ Cl | 0.55 ± 0.03 | 0.47 ± 0.03 |

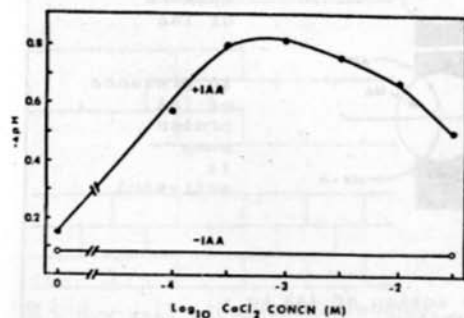


圖 2. Effects of CaCl₂ on acidification by acid-washed tissue. The mean deviation for duplicate samples at each concentration was ±0.03 or less.

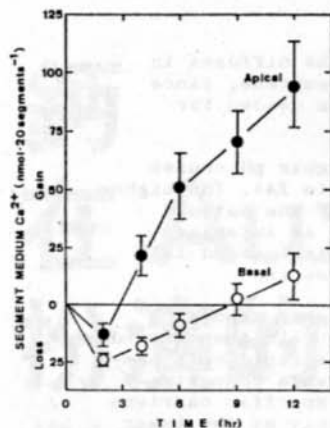


圖3. Apical and basal flux of Ca^{2+} in 2-cm hypocotyl segments of 7-d-old sunflower grown in vermiculite. The seedlings were watered once with full-strength Hoagland solution and tap water for the rest of the growing period. The segment medium (5 ml) contained $10 \mu\text{M}$ CaCl_2 . At the indicated intervals, the segments were lifted from the solution and the Ca^{2+} content of the segment medium determined with the Ca^{2+} electrode before returning the segments back to the same solution.

酸化現象，而對於 Ca^{2+} 的濃度又有限制，當 $[\text{Ca}^{2+}] = 0.003 \text{ M}$ 時，對IAA造成的酸化促進最為顯著，超過或不足對於酸化作用的促進都不明顯。

根據研究，當細胞處於較靜止狀態時，細胞質中的 Ca^{2+} 濃度是細胞外outer space的 $1/3 \sim 1/6$ 倍(細胞質中 $[\text{Ca}^{2+}]$ 約為 10^{-6} M)。但當細胞受到刺激，例如細胞內auxin含量增多時，細胞膜便改變其通透性，使 Ca^{2+} 由outer space進入到細胞中。當細胞中 Ca^{2+} 增多時，正電荷增加，也間接促使proton pump運轉，當然 Ca^{2+} 的作用不只是增加了細胞內的正電荷，還有酵素參與反應，此點後述。

關於auxin的運轉與Ca移動(Ca stream)的關係，Guzman (1984)取7天大的太陽花(sunflower)的幼苗，將其胚軸分開上下段分別浸於溶液中，測 Ca^{2+} 的釋放量，見圖3，胚軸上端含Ca

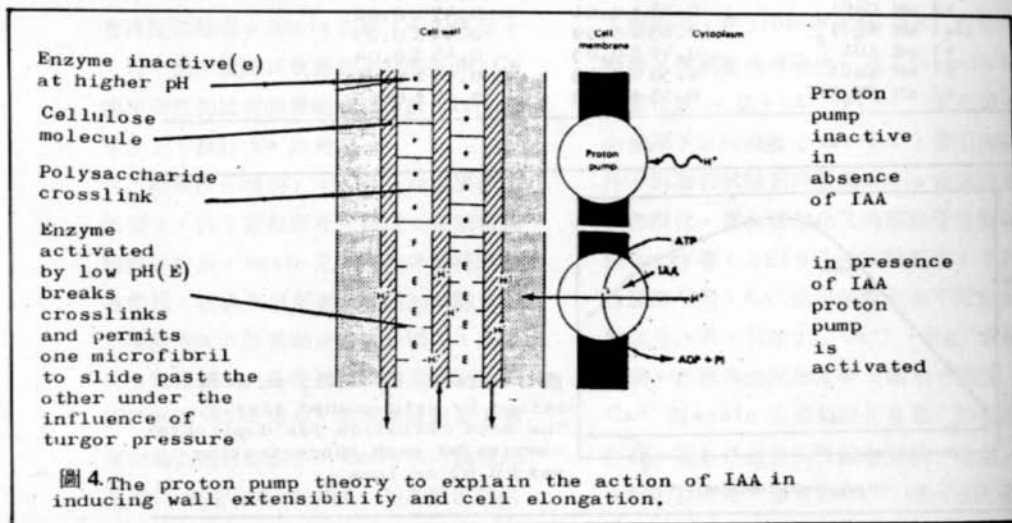


圖4. The proton pump theory to explain the action of IAA in inducing wall extensibility and cell elongation.

量多，而下端少，此因 auxin 由上部分產生，向下運送，因而聚集較多 Ca^{++} ，此乃 auxin 向下運送的結果。在另一個試驗中，將上下段的胚軸分置於含 Ca^{++} 溶液中，發現祇有下段胚軸會吸收 Ca^{++} ，由此可知，auxin 運送的方向與 Ca^{++} 移動相反， Ca^{++} 由下方吸收，向上運送，來幫助 auxin 運送。

三 Ca 與細胞的延長

在圖 4 模式中顯示，IAA 刺激 proton pump 打出 H^+ ，也就是前面提到的「酸化」，此種酸化作用使細胞壁上的酵素活化，因而使組織疏鬆，易於滑動，如圖 5，

當細胞內膨壓增大時，細胞撐大，向上下拉長，再重新合成酵素打斷的鍵結，由此步驟，組織便得延長。

而在細胞膜的結構上， Ca^{++} 是連繫碳水化合物與磷酸脂的重要元素，因而對於 auxin 的作用——使細胞擴大，是一種阻礙，如圖 6，在電子顯微鏡五十五萬倍，以 PACP 的染色照像下，細胞膜的厚度以 IAA 處理者最薄(②)，因 auxin 在使細胞擴大的過程中，有短暫的時間內，細胞尚薄；而以 0.5 M $CaCl_2$ 處理者，細胞膜最厚，因 Ca 促使細胞膜上的物質鍵結緊密，使細胞膜固着不易伸展。至於 Ca^{++} 阻礙 auxin 作用的機制，有下列四項假說：

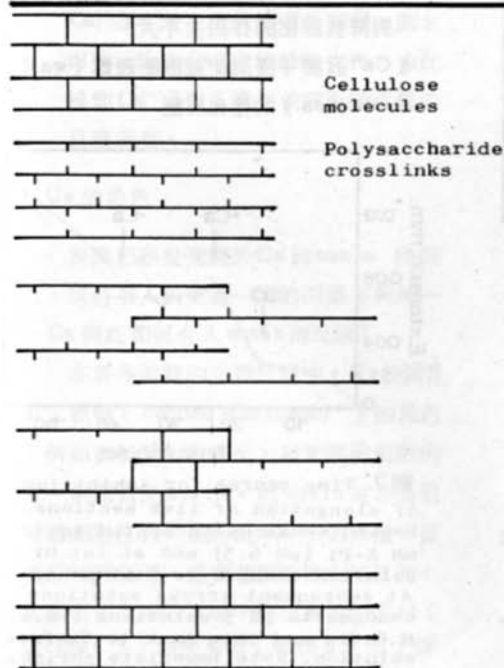
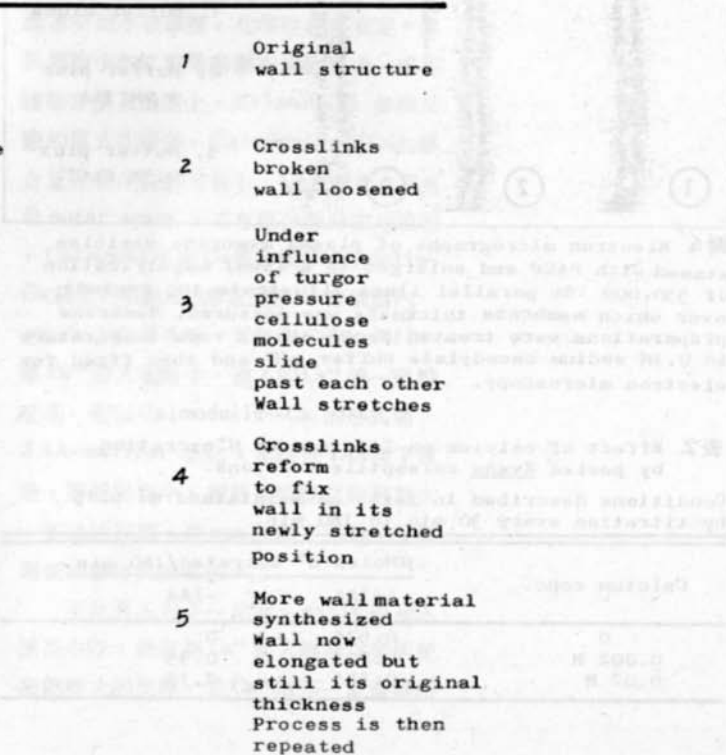


圖 5. How wall elongation probably occurs under the influence of auxin.



1. Ca 降低 auxin 造成的酸化作用 (auxin-induced H^+ excretion)

在 Cleland (1977) 的試驗中 (表 1.) , 分別用三個 Ca 濃度處理配合加 IAA 與無 IAA 處理, 在 3 小時後, H^+ 之釋放量有 $0.625 \mu M$, 加入少量 Ca^{++} ($0.02 M$) 時, H^+ 就減少至 $0.525 \mu M$, 可見得高濃度 Ca^{++} 的確抑制了部分酸化作用。

2. Ca 降低細胞壁對 H^+ 的反應

有假說認為多量 Ca^{++} 使 wall-loosenig enzyme 不易吸附, 基於這

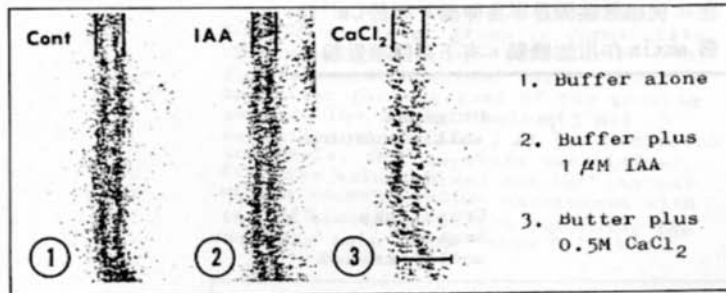


圖 6. Electron micrographs of plasma membrane vesicles stained with PACP and enlarged to a final magnification of 550,000. The parallel lines illustrate the regions over which membrane thickness was measured. Membrane preparations were treated for 20 min at room temperature in 0.1M sodium cacodylate buffer, pH7 and then fixed for electron microscopy.

表 2. Effect of calcium on IAA-induced H^+ excretion by peeled *Avena* coleoptile sections.

Conditions described in text. pH maintained at 6.15 by titration every 30 min to 180 min.

| Calcium conc. | μ Moles H^+ excreted/180 min | |
|---------------|------------------------------------|------|
| | +IAA | -IAA |
| 0 | 0.625 | 0 |
| 0.002 M | 0.85 | 0.35 |
| 0.02 M | 0.525 | 0.15 |

個假說, Cleland (1977) 做了表 2. 中的試驗, IAA 促進 H^+ 的釋放, 而此 H^+ 可使酶活化, 但細胞的延長並不因 Ca^{++} 的出現與否而有差異, 所以此項假說的可能性較小。

3. Ca 降低膨壓 (turgor pressure)

對於細胞的擴大, 膨壓增加為必備因素, 基於這項考慮學者做了個有趣的試驗, 在圖 7. 的試驗中, 加入 $0.02 M CaCl_2$ 時, 細胞有輕微的收縮現象 (osmotic shrinkage), 而在移去溶液中的 Ca^{++} 時, 細胞有一小段快速增大, 之後維持穩定的增長, 這都是膨壓的影響, 也由此可知, Ca^{++} 對降低膨壓的作用並不大。

4. Ca^{++} 直接干擾到使細胞壁疏鬆 (wall-loosen) 的生化反應

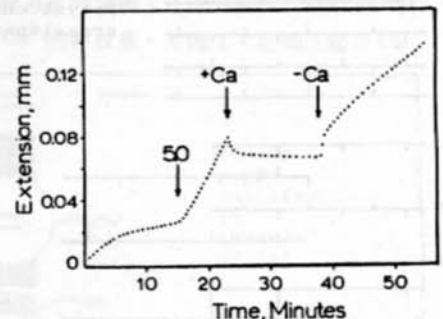


圖 7. Time course for inhibition of elongation of live sections. Peeled sections incubated in 10 mM K-Pi (pH 6.5) and at 1st hr solution changed to 1 at pH 5. At subsequent arrows solutions changed to pH 5 solutions + 0.02 M $CaCl_2$, and then back to Ca-free solution. Note immediate shrinkage and total inhibition of acid-induced growth caused by calcium.

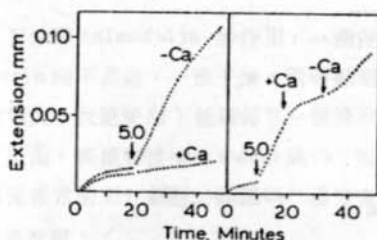


圖 8. Inhibition of in vitro acid-induced cell wall loosening by calcium ions. Peeled, frozen-thawed sections initially incubated in 1 mM HEPES-NaOH (pH 6.5) under 15-g load, then solution changed at first arrow to 1 mM HEPES-NaOH (pH 5.0) \pm 0.003 M CaCl_2 . Note reversibility of calcium inhibition of acid-induced extension (right).

在圖 8 的試驗中，溶液為 pH 5 時，燕麥芽鞘呈穩定快速生長，而有 Ca^{++} 存在時，生長顯著受抑制，圖 8 則明示除去 Ca^{++} 之後持續生長，由此推知 Ca^{++} 直接干擾到使細胞壁疏鬆的反應過程。

Ca 的角色

前面已經提到關於 Ca 與 auxin 的關係，或許有人對更進一步的問題有興趣——Ca 到底如何介入 auxin 的反應？

在許多細胞的生理反應中，Ca 扮演著第二訊號 (second messenger) 的角色，例如在植物生長方面，植物體給細胞的第一個訊號是 auxin，但 auxin 並不是直接將細胞拉長，而是由 auxin 的刺激，促使 Ca 參與反應，達到使細胞增大的目的。此處有個有趣的比喻，Ca 就像槍的板機 (trigger)，即使有槍 (植物)、有子彈 (auxin)，但若沒扣下板機 (Ca 的參與

)，就沒有以後一連串的反应。

Ca 如何參與反應呢？它是藉由一種酵素，稱為 Calmodulin 來完成，這種酵素在 1967 年發現，起先是由牛腦中分離出來，之後陸續發現其他生物體中也是由 Calmodulin 來參與 Ca 的反應，直至 1978 年才發現在植物體中，參與 Ca 的反應的，也是這種酵素。Calmodulin 的分子模式見圖 9，它是由十九種一百四十八個胺基酸所組成的長鏈分子，分子量 16,700，分別在長鏈的四處可以整合 Ca，當 Calmodulin 的此四部分有 Ca 整合其上時，這個酵素便被活化而可參與一連串的反应。Calmodulin 之化學性耐酸、耐熱，甚至可在沸水中而不被破壞，化學性相當安定。其於細胞中的位置是游離在細胞質中，或是連接在膜及胞器上，Calmodulin 參與反應的模式如圖 10，Calmodulin 與 Ca 的整合反應發生在細胞質中，Ca 的來源主要來自 outer space，亦有極少部分來自液泡，Calmodulin 與 Ca 整合成 Calmodulin-Ca 後便可參與其他酵素反應。當細胞內 auxin 含量增多時，可促使 Calmodulin 將 Ca^{++} 帶入細胞中，進入的 Ca^{++} 達一定濃度後，便以 Calmodulin-Ca 的形式將 IAA-carrier 活化，而促使 IAA 向下運送，運送過程中，順便將所經之細胞擴大，如此的反應，使 auxin 向下運送，又達到使組織伸長的目的。

至此吾人可下一結論，auxin 初進入細胞中時，便促使 Ca^{++} 進入細胞以參與使細胞增大的反應，當 Ca^{++} 增至一定濃度時

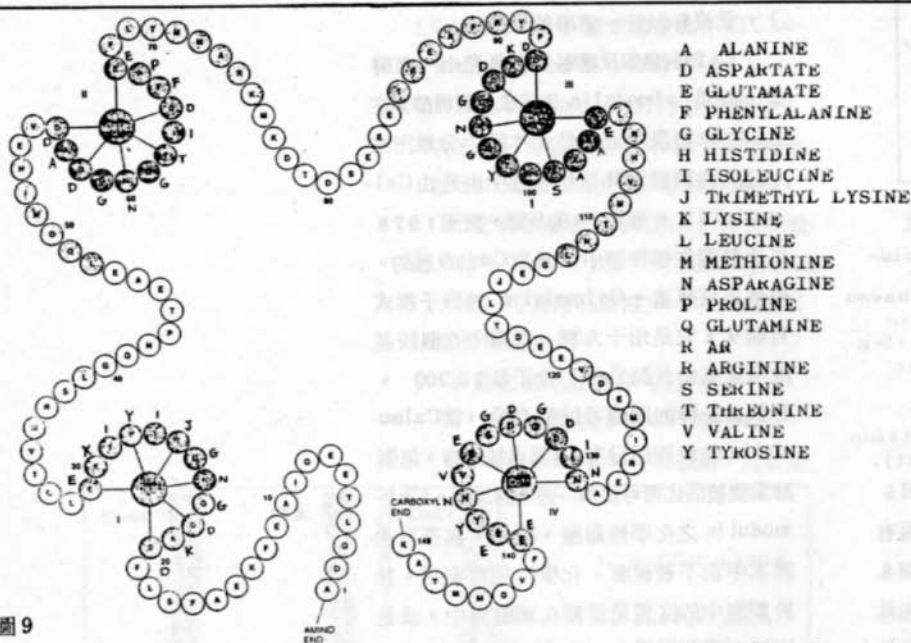


圖 9

CALMODULIN MOLECULE, which mediates many of the regulatory functions of calcium ions, is a single protein of 148 amino acid subunits. The chain has four very similar domains, each with a site that binds a calcium ion (Ca^{++}). The schematic diagram of the molecule emphasizes the putative structure of the four calcium-binding sites as proposed by Robert H. Kretsinger of the University of Virginia. Kretsinger based his proposed structure on an X-ray crystallographic study of parvalbumin, a calcium-binding protein with amino acid sequences closely related to those of calmodulin. Each binding site is a loop (dark color) flanked by a helical region (light color). Each calcium ion is thought to be bonded to six amino acids. The diagram gives the amino acid sequence of calmodulin from bovine brain. The sequence was established by Thomas C. Vanaman of the Medical Center of Duke University and colleagues.

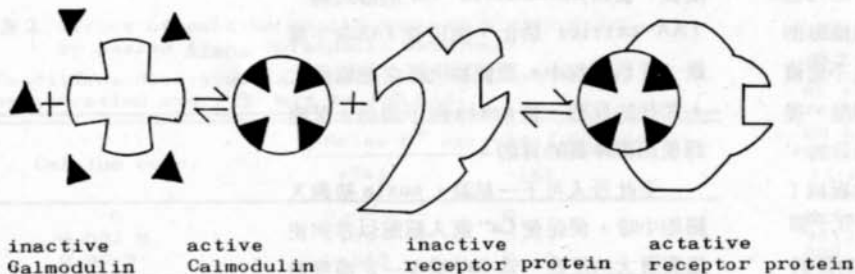


圖 10.

，又藉著 calmodulin 的作用，一面促使 auxin 向下運送，一面干擾、阻碍細胞繼續增大，反應便向下延續到下一個細胞。所以說，在植物體中，auxin 與 Ca^{++} 濃度關係非常密切，細胞以調節 Ca^{++} 濃度來配

合 auxin 的作用，隨著 Ca^{++} 向上移動，auxin 也配合着向下運移。但目前對於其中機制尚未完全明瞭，如果您有興趣，不妨深入探討，以瞭解此項有趣的生理反應。



參考文獻：

1. Cheung, W. Y. 1982. Calmodulin. *Scientific American*. 246: 48-56.
2. Cleland, K.E. & D.C. Kayle, 1977.
Reevaluation of the effect of calcium ion on auxin-induced elongation. *Plant Physiol* 60: 709-712.
3. Cohen, J.D. & K.D. Nadler, 1976. Calcium requirement for indoleacetic acid-induced acidification by *avena coleoptiles*. *Plant Physiol*. 57:347-350
4. De Guzman, C.C. & R.A. Dela Fuente, 1984. Polar Calcium flux in Sunflower hypocotyl segment. *Plant Physiol*. 76: 347-352.
5. Dela Fuente, K.K. 1984. Role of calcium in the polar Secretion of indoleacetic acid. *Plant Physiol*. 76: 342-346.
6. Galston, W. & P.J. Davies & K.L. Satter, 1980.
The life of the green plant. p. 216-255.
7. Helper, P.A. & K.O. Wayne, 1985, Calcium and plant development. *Ann. Rev. Plant Physiol*. 36: 397-439.
8. Marm'e, D. 1982. The role of calcium ion in signal transduction of higher plant. P. 419-426. In P.F. Wareing(ed) *Plant growth Substance*.
9. Marm'e, D. 1983. Calcium transport and function. P. 599-611. In Göttinger A. P. & M. H. Zimmumaun (ed) *Encyclopedia of plant Physiology*. Vol. 15B, Springer-Verlag, Berlin.
10. Morre', D.J. & C.E. Bracker, 1976. Ultrastructural alteration of Plant Plasma membranes induced by auxin and calcium ions. *Plant Physiol*. 58: 544-547.
11. Reiss, H.D. & W. Herth, 1979, Calcium gradients in tip growing plant cells visualized-by chlorotetracycline fluorescence. *Planta*. 146: 615-621.
12. Kaven, J.A. 1975. Transport of indoleacetic acid in plant cells in relation to pH and electrical potential gradients and its significance for polar IAA transport. *New phytol*. 74: 163-172.