



Polskie Towarzystwo Botaniczne
Oddział w Białymstoku

Różnorodność biologiczna – od komórki do ekosystemu.

Rośliny i grzyby w zmieniających się
warunkach środowiska

pod redakcją
Iwony Ciereszko i Andrzeja Bajguza

Polskie Towarzystwo Botaniczne
Białystok 2013

Redakcja naukowa

dr hab. **Iwona Ciereszko**, prof. UwB

dr hab. **Andrzej Bajguz**

Recenzenci

prof. dr hab. **Elżbieta Romanowska**; prof. dr hab. **Wiesław Fałtynowicz**; prof. dr hab. **Czesław Hołdyński**; dr hab. **Iwona Ciereszko**, prof. UwB; dr hab. **Mirosława Kupryjanowicz**, prof. UwB; dr hab. **Grażyna Łaska**, prof. PB; dr hab. **Dorota Nalepka**, prof. PAN, Kraków; dr hab. **Andrzej Bajguz**; dr hab. **Agnieszka Gniazdowska-Piekarska**; dr hab. **Bożena Kiziewicz**; dr **Anna Matwiejuk**



Copyright © 2013 by: Polskie Towarzystwo Botaniczne – Oddział w Białymstoku.
Wszystkie prawa zastrzeżone

ISBN 978-83-62069-37-8

Korekta językowa:

Urszula Glińska

Projekt okładki:

Magdalena Muśko

wykorzystano fotografie autorstwa: Anety Adamczuk; Ewy Żebrowskiej; Piotra Talałaja

Redaktor techniczny:

Andrzej Poskrobko

Realizacja:

Agencja Wydawnicza EkoPress

601 311 838

4 Rola brassinosteroidów w odpowiedzi roślin na stres abiotyczny

Andrzej Bajguz / Martyna Pietrasz / Alicja Piotrowska-Niczyporuk

Uniwersytet w Białymstoku
Wydział Biologiczno-Chemiczny, Instytut Biologii, Zakład Biochemii Roślin i Toksykologii

ul. Świerkowa 20B, 15-950 Białystok
e-mail: abajguz@uwb.edu.pl

Streszczenie

Brassinosteroidy stanowią szeroko rozpowszechnioną grupę steroidowych hormonów roślinnych. Występują w niskich stężeniach, a ich zawartość zależy od gatunku, tkanki oraz stadium rozwojowego rośliny. Obecność tych fitohormonów wykazano u glonów, mszaków, paprotników, roślin nagozalążkowych oraz okrytozalążkowych. Najbogatszym źródłem brassinosteroidów są ziarna pyłku oraz niedojrzałe nasiona. W pędach i liściach notuje się ich niższą zawartość. Występowanie brassinosteroidów wykazano także w korzeniach niektórych roślin.

Brassinosteroidy wykazują wysoką aktywność biologiczną, wpływając na metabolizm, wzrost i rozwój roślin. Hormonom tym przypisuje się działania ochronne u roślin narażonych na stres biotyczny (patogeny wirusowe, bakteryjne, grzybowe) i abiotyczny (stres termiczny, wodny, solny i oksydacyjny, niedobór tlenu, metale ciężkie). W warunkach niskich temperatur (0-3°C) podnoszą odporność roślin na ochłodzenie oraz zwiększają przeżywalność roślin poddanych działaniu wysokich temperatur, stymulując syntezę białek szoku termicznego. Brassinosteroidy przyczyniają się do wzrostu masy korzeniowej i zwiększenia zawartości sacharozy. Stymulują aktywność syntetazy sacharozy pod wpływem stresu wodnego. W przypadku stresu solnego, hormony te przyspieszają kiełkowanie i rozwój nasion, hamują degradację barwników fotosyntetycznych oraz obniżają przepuszczalność błon plazmatycznych dla jonów sodowych. W warunkach stresu oksydacyjnego brassinosteroidy powodują wzrost aktywności antyoksydantów enzymatycznych oraz zawartości kwasu askorbinowego i karotenoidów. Brassinosteroidy ograniczają także akumulację metali ciężkich przez rośliny, wzmagają produkcję fitochelatyn.

Słowa kluczowe: aktywność biologiczna, hormony roślinne, metale ciężkie, stres solny, stres termiczny

4.1. Wstęp

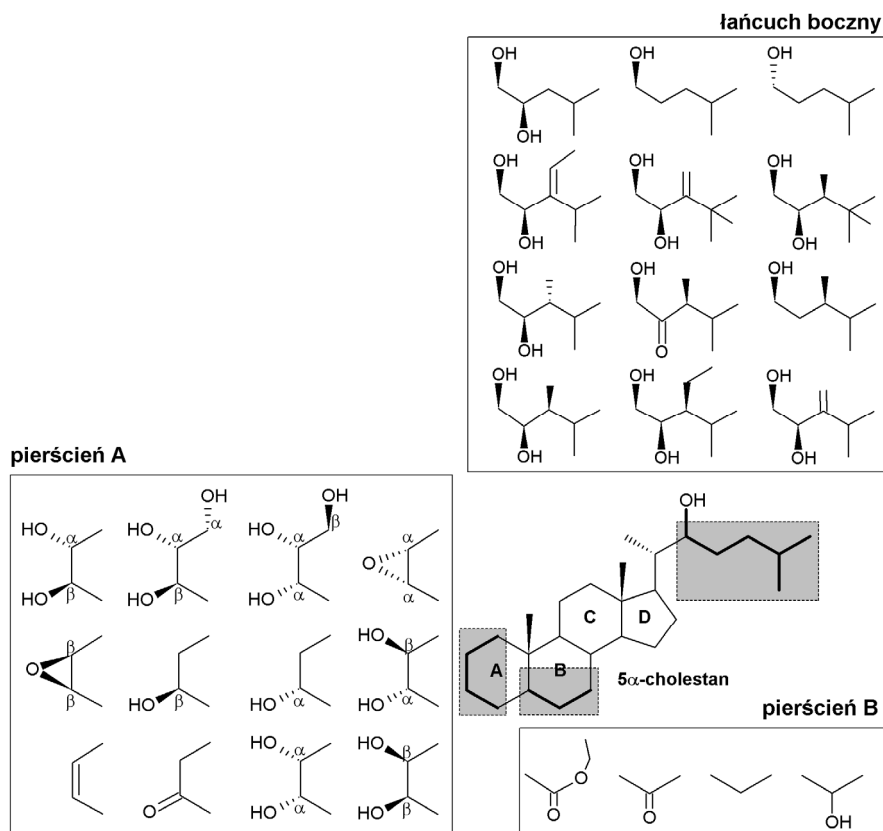
Brassinosteroidy (BR) są hormonami steroidowymi występującymi w roślinach. Pierwszym zidentyfikowanym związkiem z tej grupy fitohormonów był brasinolid (BL), który w 1979 roku został wyizolowany z pyłku rzepaku (*Brassica napus*). Obecnie znanych jest ponad 70 brassinosteroidów (Bajguz 2007b). Wykazują one aktywność fizjologiczną w stężeniach ok. 1000 razy mniejszych niż inne dotychczas poznane hormony roślinne. BR mogą regulować szereg procesów fizjologicznych, takich jak: embriogeneza i kiełkowanie nasion, podziały i wydłużanie komórek, rozwój pylników, kiełkowanie mikrospor oraz wzrost łagiewki pyłkowej, różnicowanie elementów trachealnych, polaryzacja błon komórkowych oraz starzenie i obumieranie liści (Bajguz 2007a). BR przypisuje się również działania ochronne u roślin narażonych na stres biotyczny (patogeny wirusowe, bakteryjne, grzybowe) i abiotyczny (stres termiczny, wodny, solny i oksydacyjny, niedotlenienie, działanie metali ciężkich) (Bajguz, Hayat 2009).

4.2. Budowa i występowanie brassinosteroidów

Brassinosteroidy (BR) stanowią szeroko rozpowszechnioną w świecie roślin grupę steroidowych hormonów roślinnych. Ich strukturę stanowi wielopierścieniowy szkielet węglowy 5 α -cholestanu (Ryc. 4.1). Zróżnicowanie BR wynika z rodzaju i pozycji grup funkcyjnych w obrębie pierścieni cyklicznych A i B oraz łańcucha bocznego. W pierścieniu A zwykle występują dwie sąsiadujące ze sobą grupy hydroksylowe w pozycjach C-2 α i C-3 α oraz w łańcuchu bocznym w pozycjach C-22 i C-23 (Bajguz 2007). Ponadto występują BR, które zamiast dwóch grup hydroksylowych w pierścieniu A, mają jedną grupę w pozycji C-3 lub grupę ketonową lub grupę epoksydową przy węglach C-2 i C-3 (np. sekasteron). Wyizolowano także dwa związki, które posiadają dodatkową grupę hydroksylową w pozycji C-1 α lub C-1 β , tj. 3-epi-1 α -hydroksykasteron (3-epi-1 α -OH-CS) oraz 1 β -hydroksykasteron (1 β -OH-CS). Spotykane są również BR, u których w pierścieniu A lub B występuje wiązanie podwójne (Bajguz, Tretyn 2003b). Ze względu na strukturę chemiczną pierścienia B, brassinosteroidy dzieli się na cztery typy:

- 1) 7-oksalakton, do którego zalicza się 12 związków zawierających tlen w pierścieniu B i który z grupą ketonową tworzy formę laktonową;
- 2) 6-keton (6-okso) stanowiący grupę 34 BR zawierających okso grupę w położeniu C-6;

- 3) 6-deokso (21 związków, których pierścień B pozabawiony jest atomu tlenu);
- 4) typ 6-hydroksy reprezentowany jest, jak dotąd, przez jeden związek z grupą hydroksylową w pozycji C-6 α (6 α -hydroksykasteron) (Bajguz, Tretyn 2003b; Bajguz 2007).

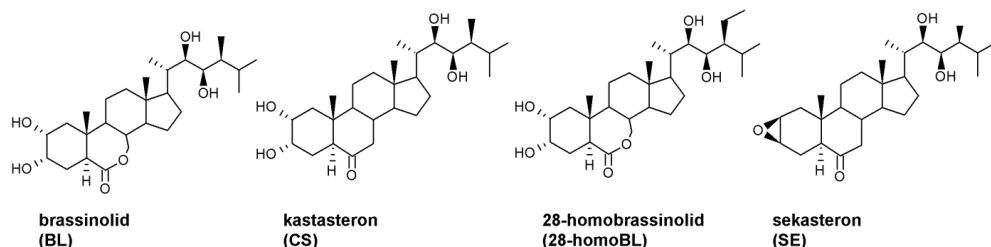


Ryc. 4.1. Zróżnicowanie w budowie chemicznej brassinosteroidów

Źródło: opracowano na podstawie: Bajguz A, Tretyn A. 2003a. The chemical characteristic and distribution of brassinosteroids in plants. *Phytochemistry*, 62: 1027-1046.

Pod względem budowy łańcucha bocznego, wyróżnia się trzy grupy: C₂₇, C₂₈ i C₂₉. BR typu C₂₇ bez podstawnika alkilowego w pozycji C-24 są pochodnymi cholesterolu. Związki zaliczane do typu C₂₈, mające α -metylowe, β -metylowe lub metylowe w pozycji C-24 – są pochodnymi odpowiednio: kampesterolu, dihydrobrassinasterolu bądź 24-metylencholesterolu. Formy C₂₉, mające w tej pozycji grupy α -etylowe lub etylidenowe, są pochodnymi odpowiednio: fitosterolu lub izofukosterolu. Związki należące do tej grupy, mające podstawnik metylenowy w pozycji C-24

i dodatkową grupę metylową w pozycji C-25, są pochodnymi 24-metyleno-25-metylocholesterolu. Poza wolnymi formami, występują także koniugaty glukozowe i acylowe. Wybrane wzory strukturalne wolnej formy BR przedstawione zostały na rycinie 4.2. (Bajguz, Tretyn 2003a, b).



Ryc. 4.2. Wybrane wzory strukturalne formy wolnej brassinosteroidów

Źródło: opracowano na podstawie: Bajguz A, Tretyn A. 2003a. The chemical characteristic and distribution of brassinosteroids in plants. *Phytochemistry*, 62: 1027-1046.

Brassinosteroidy występują u roślin w niskich stężeniach, zależnie od gatunku, tkanki oraz stadium rozwojowego rośliny. Obecność tych fitohormonów wykazano u przedstawicieli zielenic (*Hydrodictyon reticulatum*, *Chlorella vulgaris*), mszaków (*Marchantia polymorpha*), paprotników (*Equisetum arvense*), a także u trzech rodzin należących do nagozalążkowych. Wśród roślin okrytozalążkowych obecność BR wykryto u szesnastu rodzin roślin dwuliściennych oraz pięciu rodzin jednoliściennych. BR występują w następujących częściach roślin: korzenie, pędy, liście, pyłek kwiatowy, pylniki i nasiona. Najbogatszym źródłem brassinosteroidów są ziarna pyłku oraz niedojrzałe nasiona, w których związki te występują w zakresie stężeń od 1 do 100 ng/g świeżej masy. Z kolei w pędach i liściach notuje się niższą zawartość, w granicach 0,001-0,1 ng/g świeżej masy. Zasobne w BR okazały się także galasy kasztana japońskiego (*Castanea crenata*) czy *Distylium racemosum* (Bajguz 2007a; 2009).

4.3. Aktywność fizjologiczna brassinosteroidów

Brassinosteroidy, ze względu na swą wysoką aktywność biologiczną, są ważnymi regulatorami wielu procesów zachodzących w roślinach. BR mogą uczestniczyć w procesach transkrypcji i translacji. Różnorodne inhibitory biosyntezy RNA i białek oraz inhibitory działania BR powodują osłabienie lub zahamowanie aktyw-

ności tych procesów. BR współzawodniczą z inhibitorami, blokując ich działanie poprzez zwiększenie aktywności polimerazy RNA i DNA w epikotylu fasoli złotej (*Vigna radiata*), co objawia się zwiększoną zawartością kwasów nukleinowych i białek (Bajguz, Tretyn 2003).

Od strony fizjologicznej, najlepiej poznanym efektem działania BR jest ich stymulujący wpływ na wzrost różnych organów roślinnych, jak np. ukierunkowane wydłużanie komórek. Analizy mikroskopowe przekrojów podłużnych liścieni i hipokotyli mutantów *Arabidopsis thaliana* charakteryzujących się defektami w metabolizmie BR wykazały, że ograniczony wzrost siewek spowodowany jest redukcją wzrostu wydłużeniowego komórek, co wskazuje na kluczową rolę BR w tym procesie. Wykazano, że fitohormony te mogą stymulować ekspresję genów kodujących enzymy związane z rozbudową ściany komórkowej, takie jak: endotransglukozylazy ksyloglukanu (XET) oraz ekspansyny (Bajguz, Tretyn 2003b; Lisso i in. 2005). BR stymulują eksport protonów do apoplastu, a inhibitor transbłonowej ATPazy hamuje indukowane przez BR wydłużanie komórek. BR regulują także aktywność enzymów regulujących zawartość pektyn i białek strukturalnych ścian komórkowych: proteoglikanów i ekstensyn. Potraktowanie BR mutantów *A. thaliana*, charakteryzujących się zaburzeniami w syntezie BR i anormalną orientacją mikrotubul korowych, przywraca ich normalną orientację. Stwierdzono, że korzenie siewek ryżu, traktowane BR, wykazują wzrost zawartości tubulin, co świadczy o roli BR w procesie rearanżacji mikrotubul oraz wydłużaniu komórek. Ponadto, wykazano stymulujący wpływ omawianych fitohormonów na ekspresję wielu genów kodujących podjednostki syntetazy celulozowej (Lisso i in. 2005).

Brassinosteroidy aktywują również proces proliferacji komórek, stymulując ekspresję genu *CycD3* kodującego cyklinę typu D3 odpowiedzialną za przejście komórki z fazy G₁ do S. Wykazano, że po potraktowaniu BR mutantą *det2 A. thaliana*, wykazującego defekt w procesie syntezy BR, następuje indukcja czynnika białkowego *CycD3*. Dowodzi to o stymulującym wpływie BR na proces cytokinezy (Fu i in. 2008). Wykazano, że w komórkach tytoniu poddanych działaniu BR, znacząco wzrasta indeks mitotyczny oraz akumulacja transkryptów genów kodujących histony H1A, H3 i H4, które są dobrymi wskaźnikami intensywności przebiegu podziałów komórkowych (Miyazawa i in. 2003).

Poza wpływem na podziały i wzrost komórek roślinnych, BR mogą także kontrolować proces ksylogenezy. Stwierdzono, że unikonazol, będący inhibitorem syntezy BR, hamuje ekspresję genów biorących udział w trzecim etapie różnicowania komórek drewna. Efekt ten jest znoszony po podaniu BR. Fakt ten sugeruje, iż endogenne BR mogą inicjować ostatni etap ksylogenezy, a zwiększone stężenie BR w drugiej fazie tego procesu prowadzi do stymulacji ekspresji genów zaangażowa-

nych w przebieg trzeciej fazy różnicowania komórek. Poza regulacją procesu różnicowania ksylemu, BR mogą także kontrolować rozmieszczenie pasm elementów trachealnych w obrębie organu. W genomie *A. thaliana* zidentyfikowano geny, które kodują polipeptydy o dużym poziomie podobieństwa do receptora BRI1. Dwa z polipeptydów kodowanych przez te geny: BRL1 i BRL3 – z dużym powinowactwem wiążą cząsteczki BR. Mutacje prowadzące do utraty funkcji przez BRL1 i BRL3 wywołują zakłócenia w tworzeniu wiązek przewodzących, zwiększając udział floemu kosztem ksylemu (Bajguz, Tretyn 2003b; Dettmer i in. 2009).

Wykazano, że dodanie 24-epibrassinolidu (24-epiBL) do podłoża przyspiesza rozpoczęcie reakcji grawitropicznej korzeni grochu zwyczajnego (Amzallag, Vaisman 2006). Badania prowadzone na siewkach ryżu ukazują, że BR inicjują rozwój korzeni bocznych, jednocześnie hamując wzrost wydłużeniowy korzenia głównego (Nakamura i in. 2006).

Transport wody przez błony komórkowe roślin odbywa się za pomocą białkowych kanałów zwanych akwaporynami. Analiza wydajności akwaporyn dzikiego typu *A. thaliana* syntetyzującego BR i dwóch mutantów *cpd* i *bri1* wykazuje, że protoplasty z hypokotyli mutantów odznaczają się znacznie mniejszą przepustowością dla wody niż typu dzikiego. Podanie brassinolidu (BL) daje efekt pozytywny, ale tylko w przypadku mutantu *cpd*. W przypadku siewek rzodkiewki (*Raphanus sativus*) nie zauważono zmian w poziomie mRNA i białkowych akwaporyn. Dane takie sugerują, że BR prawdopodobnie wpływają na aktywność akwaporyn, ale nie na poziom transkrypcji (Netto-Pereira 2011).

Efekt oddziaływania BR na proces fotosyntezy jest zróżnicowany w zależności od gatunku rośliny, stadium rozwoju, w którym podano hormony oraz zastosowanego stężenia (Hola 2011). Generalnie, BR znacząco zwiększają przepustowość aparatów szparkowych i transpirację. W roślinach potraktowanych BR stwierdza się przeciętnie 2-krotnie większą zawartość chlorofilu *a* i *b*, cukrów nieredukujących i redukujących oraz skrobi. Przypuszczalnie BR mają stymulujący wpływ na zwiększenie się powierzchni liści oraz asymilację CO₂ w cyklu Calvina-Bensona, co przypisuje się wzmożonej aktywności enzymu Rubisco. Mutanty *A. thaliana* z zakłóceniami biosyntezy BR charakteryzują się zaburzeniami w metabolizmie węglowodanów i obniżoną produkcją biomasy (Bajguz, Tretyn 2003; Hola 2011).

Dotychczas niewiele wiadomo o udziale BR w procesie zakwitania roślin. Mutanty *A. thaliana det2*, z zaburzeniami biosyntezy BR, wykazują opóźnienie zakwitania o 10 dni w porównaniu z typem dzikim. Okazało się, że poziom endogennych BR był o 10% niższy niż u typu dzikiego, co może sugerować, że stężenie endogennych BR ma wpływ na czas zakwitania (Hola 2011). Traktowanie ogórka BR powoduje przyspieszenie pojawienia się kwiatów żeńskich oraz zwiększenie całkowitej

liczby kwiatów żeńskich. Wykazano także, że BR sprzyjają przyswajaniu i akumulacji węglowodanów w wiechach i mogą promować dojrzewanie, poprzez regulowanie ilości hormonów endogennych, takich jak auksyny, kwas abscysynowy, etylen – nie tylko w naturalnych warunkach, ale również w niskich temperaturach. Z drugiej strony, badania prowadzone na roślinach dnia krótkiego *Pharbitis zera Chois cv. Violet* pokazują, że egzogenne zastosowanie BL i kastasteronu (CS) hamuje kwitnienie roślin. Obserwuje się zmniejszenie liczby kwiatów w stosunku do roślin kontrolnych, co zależy od zastosowanego stężenia hormonów oraz długości trwania okresu ciemności. W przypadku roślin indukowanych długim okresem ciemności BR całkowicie hamują kwitnienie. Sugeruje się, że BR mogą działać podobnie jak auksyny, ponieważ są to sprawdzone egzogenne inhibitory kwitnienia roślin dnia krótkiego (Gomes 2011).

Pod wpływem BL zwiększa się zawartość cukrów w owocach. Traktowanie kwitnących drzew liczi (*Litchi chinensis cv. nuomoci*) roztworem BL powoduje wzrost aktywności metyloesterazy pektyn i poligalakturonazy, zawartości wapnia i hamowanie aktywności celulazy, co objawia się mniejszą ilością popękanych owoców (Gomes 2011).

4.4. Brassinosteroidy a odpowiedź roślin na stres abiotyczny

Brassinosteroidy poprzez oddziaływanie na wzrost, rozwój i metabolizm roślin, mogą także uczestniczyć w reakcjach odpowiedzi roślin na działanie czynników stresowych (Bajguz, Hayat 2009).

U roślin znajdujących się pod wpływem działania stresu solnego obserwuje się spadek wartości wszystkich parametrów wzrostu w porównaniu do kontroli. Notuje się zahamowanie podziałów komórkowych, a w efekcie kiełkowania, zahamowanie syntezy DNA, RNA oraz białek rozpuszczalnych, spadek stabilności błon plazmatycznych, obniżenie wydajności reakcji fotochemicznych fotosyntezy, obniżenie zawartości wody, chlorofilu, węglowodanów i aktywności reduktazy azotanowej (Dalio i in. 2011; Talaat, Shawky 2012). Badania prowadzone na nasionach ryżu poddanych działaniu stresu solnego wykazały, że egzogenne podanie 24-epiBL indukuje kiełkowanie nasion (Anuradha, Rao 2001). Podobne efekty otrzymano w przypadku nasion *Brassica napus* (Kagale i in. 2007) i *Cucumis sativus* (Wang i in. 2011). Dodatkowo, w liściach i korzeniach truskawki (*Fragaria ananasa*) poddanych działaniu stresu solnego, a następnie 24-epiBL, odnotowano wzrost zawartości wody, mikro- i makroelementów, ale jednocześnie znaczny spadek zawartości

jonów Na^+ i Cl^- (Karlidag i in. 2011; Ding i in. 2012). W przypadku siewek ryżu (*Oryza sativa*) zaobserwowano także znaczny wzrost zawartości kwasów nukleinowych i białek rozpuszczalnych (Anuradha, Rao 2001). Badania wykazały także, że rośliny rosnące w warunkach stresu solnego, poddane działaniu BR, charakteryzują się wyższymi wartościami świeżej i suchej masy roślin, powierzchni liści, wyższą zawartością wody w tkankach części nadziemnych i korzeni, większym stężeniem cukrów i barwników fotosyntetycznych, zwiększoną wydajnością fotosyntezy oraz wyższą aktywnością enzymów antyoksydacyjnych i reduktazy azotanowej niż rośliny kontrolne (Andruha, Rao 2003; Dalio i in. 2011; Hayat i in. 2012).

Siewki ogórka (*Cucumis sativus*), rosnące na pożywce ubogiej w tlen z dodatkiem 24-epiBL, odznaczają się intensywnym wzrostem pędów i korzeni, wyższym natężeniem fotosyntezy netto (P_n), większym stężeniem fruktozy, sacharozy i ogólnie cukrów rozpuszczalnych w komórkach korzenia w porównaniu do roślin, których pożywka z deficytem tlenu nie była wzbogacona hormonem. Zaobserwowano także, że po podaniu fitohormonu w komórkach korzenia wzrasta aktywność dehydrogenazy alkoholowej, natomiast spada dehydrogenazy mleczanowej. Takie wyniki mogą sugerować, że BR stymulują przemieszczanie asymilatów do komórek korzeni, fermentację alkoholową oraz utrzymanie pH cytozolu. Co ciekawe, 24-epiBL nie wywiera znaczącego wpływu na analizowane parametry u roślin z pożywki z optymalną zawartością tlenu (Kang i in. 2009).

BR mogą oddziaływać na rośliny przystosowane do życia w różnorodnych, często ekstremalnych warunkach środowiska. Pod wpływem stresu wodnego, hamujące działanie BR na wzrost systemu korzeniowego, zachodzące w normalnych warunkach środowiskowych, jest niwelowane (Bajguz, Tretyn 2003). Widoczne zmiany morfologiczne w odpowiedzi roślin na stres suszy, takie jak: więdnienie liści, redukcja wzrostu czy całkowite wyschnięcie sadzonek *A. thaliana* i *B. napus* zostały znacznie zmniejszone po potraktowaniu roślin 24-epiBL (Kagale i in. 2007). Z badań przeprowadzonych na liściach pomidora (*Lycopersicon esculentum*) (Behnamnia i in. 2009) wynika, że 24-epiBL obniża zawartość dialdehydu malonowego, który jest wskaźnikiem peroksydacji lipidów oraz zawartość nadtlenku wodoru. Zaobserwowano także wzrost stężenia enzymów antyoksydacyjnych: peroksydazy askorbinianowej (APX), katalazy (CAT), dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) oraz nieenzymatycznych związków antyoksydacyjnych: askorbinianu i karotenoidów oraz proliny (Behnamnia i in. 2009), a u siewek *Chorispora bungeana* dodatkowo odnotowano wzrost zawartości wody i chlorofilu (Li i in. 2012). Podobne efekty wywiera zastosowanie 28-homoBL na siewki *B. juncea* rosnące w warunkach suszy (Fariduddin i in. 2009). Jednocześnie nie stwierdzono wzrostu zawartości kastasteronu, czynnego biologicznie BR, w tkankach roślin w trakcie suszy. Dane takie

mogą sugerować, że reakcje roślin podczas stresu wodnego nie są regulowane przez endogenne BR (Jager i in. 2008).

Narażenie roślin na wysokie temperatury powoduje zahamowanie wzrostu korzeni, pędów, spadek świeżej i suchej masy roślin oraz zawartości wody w tkankach. Potraktowanie roztworem 28-homobrassinolidu (28-homoBL) siewek *Vigna radiata* rosnących w wysokiej temperaturze powoduje znaczący wzrost wszystkich tych parametrów. Odnotowano także wzrost zawartości i wzmożoną aktywność enzymów antyoksydacyjnych, takich jak: peroksydaza askorbinianowa (APX), katalaza (CAT), dysmutaza ponadtlenkowa (SOD) i reduktaza glutationowa (GR) oraz większe stężenie proliny (Hayat i in. 2010). Traktowanie siewek pomidora (*Lycopersicon esculentum*) rosnących w wysokiej temperaturze (45°C) roztworem BR, zwiększa przeżywalność sadzonek oraz zapobiega nekrozie i chlorozie liści, które obserwuje się u roślin kontrolnych (Mazorra i in. 2011). W sadzonkach jęczmienia (*Hordeum vulgare*) dodatkowo odnotowano wzrost wydajności fotochemicznej fotosystemu II (PSII) (Janeczko i in. 2011). Badania ekspresji białek szoku termicznego (HSP) w siewkach *B. napus* poddanych działaniu wysokiej temperatury wykazują większe stężenie białek należących do grup HSP100, HSP90, HSP70 i małowadzących białek szoku cieplnego (sHSP) (Krishna 2003). Podobny wpływ na fizjologię i metabolizm roślin ma niska temperatura. Najbardziej widocznym efektem działania chłodu (8-10°C, 3-5°C) na siewki ogórka jest spadek natężenia fotosyntezy, zmniejszona ilość chlorofilu, obniżona wydajność fotochemiczna PSII, reduktazy azotanowej i anhidrazy węglanowej. Potraktowanie siewek 28-homoBL niweluje wpływ niskiej temperatury na powyższe parametry, przyczynia się do wzrostu zawartości wody w tkankach oraz wzmożonej ekspresji enzymów antyoksydacyjnych i wzrostu zawartości proliny w tkankach (Fariduddin i in. 2011). Badania na siewkach *Arabidopsis* sugerują, że 24-epiBL może wpływać na aktywność metyloesterazy pektyn, enzymu biorącego udział w syntezie pektyn, które są ważnym elementem ściany komórkowej. Kondycja ściany komórkowej jest jednym z czynników decydujących o mrozoodporności i prawidłowej homeostazie jonów wewnątrz komórki (Qu i in. 2011). Owoce mango (*Mangifera indica*) również wykazują większą tolerancję na niskie temperatury (5°C) po spryskaniu ich roztworem fitohormonu. Okazuje się, że lipidy zawarte w błonie komórkowej mają niższą temperaturę przejścia fazowego oraz wyższy stopień nienasyceń, co zapewnia większą płynność błony (Li i in. 2012). Wykazano, że egzogenne traktowanie siewek ryżu 24-epiBL poddanych działaniu niskiej temperatury (15°C) stymuluje wydłużanie komórek, przyspiesza kiełkowanie oraz wzrost siewek. Zastosowanie 24-epiBL minimalnie podnosi tolerancję *Bromus inermis* na niskie temperatury

(3-5°C), ale znacznie zwiększa żywotność tych siewek narażonych na działanie wysokich temperatur (40-45°C) (Bajguz, Hayat 2009).

Skrajne temperatury (7 i 34°C) mogą powodować powstawanie plam nekrotycznych na liściach banana. Jednak u roślin poddanych działaniu analogu BR objawy te ustępują. Ekspozycja roślin na niskie temperatury powoduje redukcję liczby liści, ale podanie homologu BR odwraca ten efekt. Obie skrajne temperatury znacząco ograniczają wzrost roślin, natomiast zastosowanie homologu hormonu przynosi korzystny efekt tylko u roślin poddanych działaniu wyższej temperatury (González-Olmedo i in. 2005).

Jednym z czynników stresowych roślin są metale ciężkie, przyczyniające się m.in. do ograniczenia wzrostu, spadku natężenia fotosyntezy netto, spadku zawartości barwników fotosyntetycznych, węglowodanów, proliny, zwiększonej zawartości dialdehydu malonowego czy powstania stresu oksydacyjnego. Siewki *B. juncea* hodowane w obecności jonów miedzi w podłożu, charakteryzują się karłowatością, obniżoną zawartością chlorofilu oraz parametrów fotosyntezy. Po podaniu 28-homoBL zaobserwowano poprawę powyższych parametrów oraz zmniejszoną zawartość nadtlenu wodoru w komórkach siewek. Ponadto, odnotowano wzrost zawartości proliny i aktywności enzymów antyoksydacyjnych: peroksydazy, katalazy, dysmutazy ponadtlenkowej (Fariduddin i in. 2009). U siewek rzodkiewki (*Raphanus sativus*), w odpowiedzi na działanie jonów Cu i Cr, BR zwiększały syntezę fitochelatyn (Choudhary i in. 2010; Sharma i in. 2011). Podobne efekty uzyskano w przypadku siewek *B. juncea* hodowanych w obecności soli kadmu oraz kobaltu (Hayat i in. 2007; Arora i in. 2012). Analogiczne skutki aktywności 24-epiBL, w odpowiedzi na działanie jonów niklu, zauważono u siewek *Vigna radiata* (Yusuf i in. 2012). W przypadku siewek pomidorów rosnących na pożywce z dodatkiem Cd²⁺, aplikacja BR zwiększa owocowanie i usprawnia system antyoksydacyjny owoców (Hayat i in. 2012). Zastosowanie 28-homoBL u siewek *Vigna radiata* narażonych uprzednio na działanie jonów boru, zwiększa aktywność fotosyntetyczną oraz powoduje wzrost aktywności katalazy, peroksydazy i dysmutazy ponadtlenkowej oraz zwiększa zawartość proliny (Yusuf i in. 2011). Traktowanie BR kultur *Chlorella vulgaris* rosnących w obecności metali ciężkich zmniejsza poziom stresu wywołany metalami ciężkimi oraz ogranicza ich bioakumulację. Podanie BR i metali zmniejsza akumulację metali następująco: cynk > kadm > ołów > miedź. BR zwiększają zawartość chlorofilu, białek, cukrów, fitochelatyn, dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT) i peroksydazy askorbinianowej (APX), reduktazy glutationowej (GR) oraz askorbinianu i glutationu w komórkach glonu traktowanego metalami ciężkimi (Bajguz 2000; 2002).

Rośliny narażone na działanie różnych czynników stresowych, zarówno biotycznych, jak i abiotycznych, omówionych powyżej, generują dużą ilość reaktywnych form tlenu, które mogą utleniać lipidy, białka oraz kwasy nukleinowe powodując zaburzenia na poziomie komórkowym prowadzące do apoptozy. Funkcję ochronną przed toksycznym i mutagennym działaniem aktywnych form tlenu pełnią antyoksydanty enzymatyczne (m. in. dysmutazy, katalazy, peroksydazy) oraz antyoksydanty nieenzymatyczne (karotenoidy, glutation, askorbinian, tokoferol) (Bajguz, Tretyn 2003; Hayat i in. 2010). Badania prowadzone na sadzonkach ryżu dowodzą, że 24-epiBL skutecznie usuwa z komórek aktywne formy tlenu, przez zwiększenie aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT) i peroksydazy askorbinianowej (APX) (Ding i in. 2012). U siewek kukurydzy (*Zea mays*) rosnących w warunkach suszy i traktowanych BL zanotowano dodatkowo wzrost zawartości kwasu askorbinowego i karotenoidów. Natomiast u sorgo (*Sorghum vulgare*), w warunkach stresu osmotycznego, BR zwiększają aktywność CAT, ale zmniejszają peroksydazy i oksydazy kwasu askorbinowego (Bajguz, Hayat 2009). Wykazano, że u siewek ogórka (*Cucumis sativus*) BR indukują ekspresję genów RBOH, MAPK1 i MAPK3 oraz geny zaangażowane w reakcje antyoksydacyjne. Zauważono także wzrost aktywności oksydazy NADPH i wzrost stężenia nadtlenu wodoru, zarówno w liściach traktowanych roztworem BR, jak też w pozostałych nie traktowanych hormonem liściach, co wskazuje, że hormon ten ma działanie nie tylko lokalne, ale uruchamia odpowiedź w całej roślinie (Xia i in. 2011).

Analizy nad stymulującym wpływem BR na metabolizm roślin, wykazały szereg interakcji BR z innymi fitohormonami. Dowiedziono, że współdziałają synergistycznie z auksynami i cytokininami, natomiast addytywnie z giberelinami. ABA jest antagonistą BR i zauważono pewne różnice w regulacji ekspresji genów przez te dwa hormony. Badania molekularne potwierdzają, że indywidualne szlaki sygnalizacji hormonalnej i regulacji ekspresji genów mogą się krzyżować. Współdziałanie BR z auksynami, giberelinami, kwasem abscysynowym, etylenem i kwasem jasmonowym obejmuje zmiany w ekspresji genów, biosyntezie hormonów i/lub przekazywaniu sygnałów. Dlatego przy określaniu zmian molekularnych, wywołanych przez BR, należy mieć na uwadze, że nie wszystkie z nich będą spowodowane wyłącznie przez BR, ale możliwe jest, że niektóre lub większość będzie wynikiem współdziałania z innymi fitohormonami (Krishna 2003). Biorąc pod uwagę, rolę ABA w odpowiedzi roślin na chłód, zasolenie, suszę czy kwas jasmonowy i etylen w reakcjach obronnych roślin, które są dobrze poznane, należy zakładać udział tych hormonów w indukowanej przez BR odpowiedzi roślin na stres abiotyczny (Krishna 2003).

Podziękowania

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2012/05/B/NZ8/00958.

Literatura

- Amzallag G. N., Vaisman J. 2006. Influence of brassinosteroids on initiation of the root gravitropic response in *Pisum sativum* seedlings. *Biol. Plant.*, 50: 283-286.
- Anuradha S., Rao S. S. R. 2001. Effect of brassinosteroids on salinity stress induced inhibition of seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Growth Regul.*, 33: 151-153.
- Andruha S., Rao S. S. R. 2003. Application of brassinosteroids to rice seeds (*Oryza sativa* L.) reduced the impact of salt stress on growth, prevented photosynthetic pigment loss and increased nitrate reductase activity. *Plant Growth Regul.*, 40: 29-32.
- Arora P., Bhardwaj R., Kanwar M. K. 2012. Effect of 24-epibrassinolide on growth, protein content and antioxidative defense system of *Brassica juncea* L. subjected to cobalt ion toxicity. *Acta Physiol. Plant.*, 34: 2007-2017.
- Bajguz A. 2000. Blockade of heavy metals accumulation in *Chlorella vulgaris* cells by 24-epibrassinolide. *Plant Physiol. Biochem.*, 38: 797-801.
- Bajguz A. 2002. Brassinosteroids and lead as stimulators of phytochelatins synthesis in *Chlorella vulgaris*. *J. Plant Physiol.*, 159: 321-324.
- Bajguz A. 2007a. Wpływ brassinosteroidów na kultury *Chlorella vulgaris* poddane działaniu wybranych fitohormonów i czynników stresowych. Wyd. UwB, Białystok.
- Bajguz A. 2007b. Metabolism of brassinosteroids in plants. *Plant Physiol. Biochem.*, 45: 95-107.
- Bajguz A. 2009. Isolation and characterization of brassinosteroids from algal cultures of *Chlorella vulgaris* Beijerinck (Trebouxiophyceae). *J. Plant Physiol.*, 166: 1946-1949.
- Bajguz A, Tretyn A. 2003a. The chemical characteristic and distribution of brassinosteroids in plants. *Phytochemistry*, 62: 1027-1046.
- Bajguz A, Tretyn A. 2003b. Brassinosteroidy – hormony roślinne. Wyd. UMK, Toruń.
- Bajguz A., Hayat S. 2009. Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. *Plant Physiol. Biochem.*, 47: 1-8.
- Behnamnia M., Kalantari Kh. M., Rezanejad F. 2009. Exogenous application of brassinosteroid alleviates drought-induced oxidative stress in *Lycopersicon esculentum* L. *Gen. Appl. Plant Physiol.*, 35: 22-34.
- Choudhary S. P., Bhardwaj R., Gupta B. D., Dutt P., Gupta R. K., Biondi S., Kanwar M. 2010. Epibrassinolide induces changes in indole-3-acetic acid, abscisic acid and poly-

- amine concentrations and enhances antioxidant potential of radish seedlings under copper stress. *Physiol. Plant.*, 140: 280-296.
- Dalio R. J. D., Pinheiro H. P., Sodek L., Haddad C. R. B. 2011. The effect of 24-epibrassinolide and clotrimazole on the adaptation of *Cajanus cajan* (L.) Millsp. to salinity. *Acta Physiol. Plant.*, 33:1887-1896.
- Dettmer J., Elo A., Helariutta Y. 2009. Hormone interactions during vascular development. *Plant Mol. Biol.*, 69: 347-360.
- Ding H. D., Zhu X. H., Zhu Z. W., Yang S. J., Zha D. S., Wu X. X. 2012. Amelioration of salt-induced oxidative stress in eggplant by application of 24-epibrassinolide. *Biol. Plant.*, 56: 767-770.
- Fariduddin Q., Khanam S., Hasan A. A. 2009. Effect of 28-homobrassinolide on the drought stress-induced changes in photosynthesis and antioxidant system of *Brassica juncea* L. *Acta Physiol. Plant.*, 31: 889-897.
- Fariduddin Q., Yusuf M., Chalkoo S., Hayat S., Ahmad A. 2011. 28-homobrassinolide improves growth and photosynthesis in *Cucumis sativus* L. through an enhanced antioxidant system in the presence of chilling stress. *Photosynthetica*, 49: 55-64.
- Fu F. Q., Mao W. H., Shi K., Zhou Y. H., Asami T., Yu J. Q. 2008. A role of brassinosteroids in early fruit development in cucumber. *J. Exp. Bot.*, 59: 2299-2308.
- González-Olmedo J. L., Córdova A., Aragón C. E., Pina D., Rivas M., Rodríguez R. 2005. Effect of an analogue of brassinosteroid on FHIA-18 plantlets exposed to thermal stress. *InfoMusa*, 14: 18-20.
- Gomes M. M. A. 2011. Physiological effects related to brassinosteroid application in plants. [W:] Hayat S., Ahmad A. (red.), *Brassinosteroids: a class of plant hormone*. Wyd. Springer, 194-242.
- Hayat S., Ali B., Hasan S. A., Ahmad A. 2007. Brassinosteroid enhanced the level of antioxidants under cadmium stress in *Brassica juncea*. *Environ. Exp. Bot.*, 60: 33-41.
- Hayat S., Hasana S. A., Yusuf M., Hayat Q., Ahmad A. 2010. Effect of 28-homobrassinolide on photosynthesis, fluorescence and antioxidant system in the presence or absence of salinity and temperature in *Vigna radiate*. *Environ. Exp. Bot.*, 69: 105-112.
- Hayat S., Maheshwari P., Wani A. S., Irfan M., Alyemeni M. N., Ahmad A. 2012. Comparative effect of 28 homobrassinolide and salicylic acid in the amelioration of NaCl stress in *Brassica juncea* L. *Plant Physiol. Biochem.*, 53: 61-68.
- Hayat S., Alyemeni M. N., Hasan S. A. 2012. Foliar spray of brassinosteroid enhances yield and quality of *Solanum lycopersicum* under cadmium stress. *Saudi J. Biol. Sci.*, 19: 325-335.
- Hola D. 2011. Brassinosteroids and photosynthesis. [W:] Hayat S., Ahmad A. (red.), *Brassinosteroids: a class of plant hormone*. Wyd. Springer, 143-192.
- Jager C. E., Symons G. M., Ross J. J., Reid J. B. 2008. Do brassinosteroids mediate the water stress response? *Physiol. Plant*, 133: 417-425.

- Janecko A., Okleštková J., Pocięcha E., Kościęlniak J., Mirek M. 2011. Physiological effects and transport of 24-epibrassinolide in heat-stressed barley. *Acta Physiol. Plant.*, 33: 1249-1259.
- Kagale S., Divi U. K., Krochko J. E., Keller W. A., Kriszna P. 2007. Brassinosteroid confers tolerance in *Arabidopsis thaliana* and *Brassica napus* to a range of abiotic stresses. *Planta*, 225: 353-364.
- Kang Y. Y., Guo S. R., Li J., Duan J. J. 2009. Effect of root applied 24-epibrassinolide on carbohydrate status and fermentative enzyme activities in cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings under hypoxia. *Plant Growth Regul.*, 57: 259-269.
- Karlidaga H., Yildirim E., Turanc M. 2011. Role of 24-epibrassinolide in mitigating the adverse effects of salt stress on stomatal conductance, membrane permeability, and leaf water content, ionic composition in salt stressed strawberry (*Fragaria ananassa*). *Sci. Horticul.*, 130: 133-140.
- Krishna P. 2003. Brassinosteroid-mediated stress responses. *J. Plant Growth Regul.*, 22: 289-297.
- Li B., Zhang C., Cao B., Qin G., Wang W., Tian S. 2012. Brassinolide enhances cold stress tolerance of fruit by regulating plasma membrane proteins and lipids. *Amino Acids*, 43: 2469-2480.
- Li Y.H., Liu Y.J., Xu X.L., Jin M., An L.Z., Zhang H. 2012. Effect of 24-epibrassinolide on drought stress-induced changes in *Chorispora bungeana*. *Biol. Plant.*, 56: 192-196.
- Lisso J., Steinhauer D., Altmann T., Kopka J., Müssig C. 2005. Identification of brassinosteroid-related genes by means of transcript co-response analyses. *Nucleic Acids*, 33: 2685-2696.
- Mazorraa L. M., Holtonb N., Bishopb G. J., Ineza M. 2011. Heat shock response in tomato brassinosteroid mutants indicates that thermotolerance is independent of brassinosteroid homeostasis. *Plant Physiol. Biochem.*, 49: 1420-1428.
- Miyazawa Y., Nakajima N., Abe T., Sakai A., Fujioka S., Kawano S., Kuroiwa T., Yoshida S. 2003. Activation of cell proliferation by brassinolide application in tobacco BY-2 cells: effect of brassinolide on cell multiplication, cell-cycle-related gene expression and organellar DNA contents. *J. Exp. Bot.*, 54: 2669-2678.
- Nakamura A., Fujioka S., Sunohara H., Kamiya N., Hong Z., Inukai Y., Miura K., Takatsuto S., Yoshida S., Ueguchi-Tanaka M., Hasegawa Y., Kitano H., Matsuoka M. 2006. The role of OsBRI1 and its homologous genes, OsBRL1 and OsBRL3, in rice. *Plant Physiol.*, 140: 580-590.
- Qu T., Liu R., Wang W., An L., Chen T., Liu G., Zhao Z. 2011. Brassinosteroids regulate pectin methylesterase activity and AtPME41 expression in *Arabidopsis* under chilling stress. *Cryobiology*, 63: 111-117.
- Pereira-Netto A. B. 2011. Genomic and non-genomic events involved in the brassinosteroid – promoted plant cell growth. [W:] Hayat S., Ahmad A. (red.), *Brassinosteroids: a class of plant hormone*. Wyd. Springer, 243-268.

- Sharma I., Pati P. K., Bhardwaj R. 2011. Effect of 28-homobrassinolide on antioxidant defence system in *Raphanus sativus* L. under chromium toxicity. *Ecotoxicology*, 20: 862-874.
- Wang B., Zhang J., Xia X., Zhang W. H. 2011. Ameliorative effect of brassinosteroid and ethylene on germination of cucumber seeds in the presence of sodium chloride. *Plant Growth Regul.*, 65: 407-413.
- Xia X. J., Zhou Y. H., Ding J., Shi K., Asami T., Chen Z., Yu J. Q. 2011. Induction of systemic stress tolerance by brassinosteroid in *Cucumis dativus*. *New Phytologist*, 191: 706-720.
- Yusuf M., Fariduddin Q., Ahmad A. 2011. 28-Homobrassinolide mitigates boron induced toxicity through enhanced antioxidant system in *Vigna radiata* plants. *Chemosphere*, 85: 1574-1584.
- Yusuf M., Fariduddin Q., Ahmad A. 2012. 24-Epibrassinolide modulates growth, nodulation, antioxidant system, and osmolyte in tolerant and sensitive varieties of *Vigna radiata* under different levels of nickel: A shotgun approach. *Plant Physiol. Biochem.*, 57: 143-153.