

SZLAKI BIOSYNTETY AUKSYN

AUXIN BIOSYNTHESIS PATHWAYS

Agata KUĆKO, Emilia WILMOWICZ, Kamil FRANKOWSKI,
Krzysztof PIOTROWSKI, Jacek KĘSY,
Katarzyna MARCINIAK, Jan KOPCEWICZ

Katedra Fizjologii Roślin i Biotechnologii,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Toruń

Streszczenie: Auksyny, reprezentowane głównie przez kwas indolilo-3-octowy (IAA), są grupą fitohormonów odgrywających kluczową rolę w regulacji licznych procesów wzrostu i rozwoju roślin. Wyniki badań zarówno biochemicznych, jak i genetycznych wskazują, że auksyny mogą powstawać na drodze przemian tryptofanu, bądź niezależnie od tego aminokwasu. U roślin funkcjonują cztery równoległe szlaki biosyntezy IAA zależne od tryptofanu, których nazwy pochodzą od związków pośrednich – indolilo-3-acetaldoksymu, indolilo-3-pirogrononianu, indolilo-3-acetamidu, tryptaminy. Pomimo powszechności występowania auksyn, identyfikacji i charakterystyki wielu genów oraz enzymów zaangażowanych w powstawanie tych fitohormonów, żaden ze szlaków ich biosyntezy, jak dotąd, nie został w pełni poznany. Do niedawna uważano, że geny *TAA1/TAR* (Tryptophan Aminotransferase of Arabidopsis1/Tryptophan Aminotransferase-Related) i *YUCCA* są elementami odrębnych szlaków biosyntezy IAA, jednak wyniki ostatnio prowadzonych badań wskazują, że kodowane przez te geny białka funkcjonują w jednym szlaku metabolicznym. W niniejszej pracy podsumowaliśmy najnowsze informacje dotyczące charakterystyki szlaków biosyntezy auksyn zależnych od tryptofanu oraz usystematyzowaliśmy wiedzę na temat przebiegu tego procesu.

Słowa kluczowe: auksyny, biosynteza auksyn, kwas indolilo-3-octowy, fitohormony, TAA1/TAR, YUCCA

Summary: Auxins, mainly represented by indole-3-acetic acid (IAA), are class of phytohormones that play a key role in the regulation of many aspects of plant growth and development. The results of biochemical and genetic data indicate, that auxin could be synthesized from tryptophan, or independently of this amino acid. In plants, four parallel tryptophan-dependent pathways of IAA biosynthesis have been suggested, named from intermediates – indole-3-acetaldoxime, indole-3-py-

ruvic acid, indole-3-acetamide, tryptamine. Despite of common presence of auxin, identification and characterization of many genes and enzymes involved in their biosynthesis, their biosynthetic pathways remain poorly understood. Until recently it was thought that genes *TAA1/TAR* (Tryptophan Aminotransferase of Arabidopsis1/Tryptophan Aminotransferase-Related) and *YUCCA* are distinct elements of IAA biosynthetic pathway. However, the results of recent research suggests, that proteins encoded by these genes are involved in the same metabolic pathway. In this paper, we summarized the latest information about characteristic components of tryptophan-dependent auxin biosynthesis and systematized knowledge of the process.

Key words: auxins, auxin biosynthesis, indole-3-acetic acid, phytohormones, TAA1/TAR, YUCCA

WSTĘP

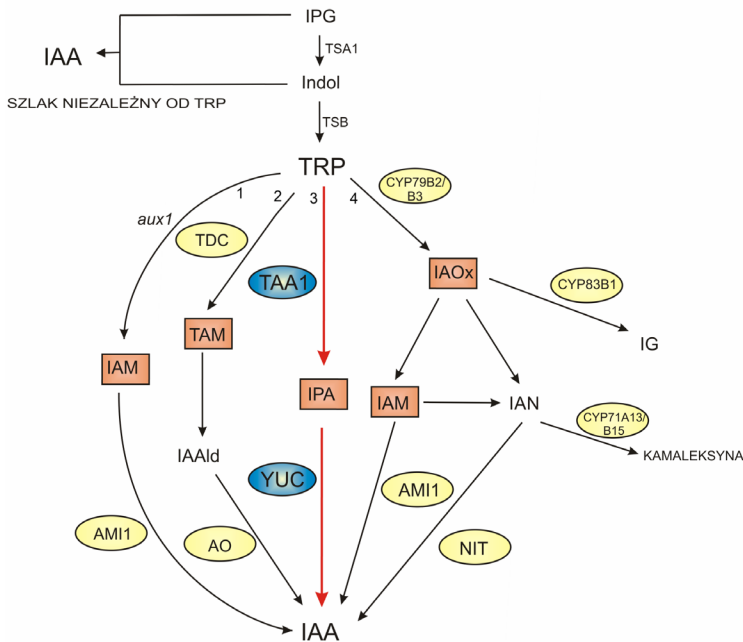
Auksyny regulują wiele procesów wzrostu i rozwoju roślin, zarówno na poziomie komórkowym (stymulacja wzrostu wydłużeniowego, podziały, różnicowanie), jak i na poziomie całego organizmu (wydłużanie korzenia, dominacja wierzchołkowa, fototropizm, geotropizm, różnicowanie tkanki przewodzącej, rozwój owoców). Niemniej ważne jest zaangażowanie tych fitohormonów w powstawanie odpowiedzi obronnych roślin na bodźce stresowe. Badania dotyczące auksyn prowadzone są w dwóch głównych nurtach badawczych. Pierwszy związany jest z przebiegiem i regulacją biosyntezy auksyn, natomiast drugi charakteryzuje poszczególne elementy szlaku transdukcji sygnału, od receptora(ów) do efektor(ów) oraz mechanizmy odpowiedzi roślin na ten hormon.

Biosynteza kwasu indolilo-3-otowego (ang. *Indole-3-Acetic Acid*, IAA) zachodzi głównie w młodych częściach roślin oraz tkankach merystematycznych. W zależności od typu organu i fazy rozwoju rośliny IAA może być syntetyzowany zależnie bądź niezależnie od tryptofanu (Trp). Zastosowanie metod genetycznych oraz biochemicznych umożliwiło zidentyfikowanie i charakterystykę wielu genów, których białkowe produkty katalizują przekształcanie Trp do IAA. Wyniki badań eksperymentalnych wskazują, że funkcjonują one głównie we wczesnej embriogenezie oraz podczas kiełkowania nasion. Z kolei biosynteza auksyn niezależna od Trp zachodzi podczas późnej embriogenezy i w czasie wzrostu wegetatywnego roślin. Charakterystyka auksotroficznych mutantów tryptofanowych *Zea mays* i *Arabidopsis thaliana* wykazała, że prekursorami IAA w szlaku niezależnym od Trp są indol lub indolilo-3-glicerofosforan (ang. *Indole-3-Glycerol Phosphate*, IPG). Związki te powstają dzięki aktywności syntazy tryptofanowej – heterotetramerycznego kompleksu składającego się z dwóch homodimerycznych podjednostek syntazy Trp α (TSA1) i syntazy Trp β (TSB) [4].

Z uwagi na występowanie kilku szlaków prowadzących do powstawania IAA, trudne jest precyzyjne i jednoznaczne przypisanie roli każdego z poznanych genów funkcjonujących w regulacji tego procesu. W prezentowanej pracy podjęto próbę podsumowania najnowszych informacji dotyczących biosyntezy IAA.

BIOSYNTENZA AUKSYN ZALEŻNA OD TRYPTOFANU

Tryptofan jest indolowym aminokwasem powstającym w chloroplastach na drodze przemian choryzmianu, a jego bezpośrednim prekursorem jest IPG. Przekształcenie Trp do IAA zachodzi u roślin poprzez cztery szlaki, których nazwy pochodzą od związków pośrednich: indolilo-3-acetaldotsymu (IAOx), indolilo-3-acetamidu (IAM), indolilo-3-pirogrononianu (IPA) oraz tryptaminy (TAM) (ryc.1). Do niedawna uważano, że szlaki te funkcjonują niezależnie, jednak wyniki najnowszych badań, prowadzonych głównie na *A. thaliana* wskazują, że geny *TAA1/TAR* (ang. *Tryptophan Aminotransferase of Arabidopsis1/Tryptophan Aminotransferase-Related*) i *YUC* (ang. *YUCCA*) uznawane za elementy osobnych szlaków biosyntezy IAA, działają jednak we wspólnym szlaku prowadzącym do powstania tego fitohormonu. Wykazano również, że produkt genu *YUC* uważany do tej pory za enzym katalizujący przekształcanie tryptaminy (TAM) do *N*-hydroksytryptaminy (HTAM) w szlaku TAM nie pełni przypisywanej mu funkcji [7].



RYCINA 1. Schemat ilustrujący szlaki biosyntezy auksyn zależne od tryptofanu; 1 – indolilo-3-acetamidu (IAM), 2 – tryptaminy (TAM), 3 – indolilo-3-pyrogrononianu (IPA), 4 – indolilo-3-acetaldotsymu (IAOx); związki pośrednie – prostokąty, enzymy – elipsy. Szczegółowy opis w tekście (wg [3,4], zmodyfikowany)

FIGURE 1. Scheme illustrating the tryptophan-dependent auxin biosynthesis pathways; 1 – indole-3-acetamide (IAM), 2 – tryptamine (TAM), 3 – indole-3-pyruvic acid (IPA), 4 – indole-3-acetaldotsime (IAOx); intermediates – rectangles, enzymes – ellipses. A detailed description in the text (according to [3,4], modified)

CHARAKTERYSTYKA SZLAKU IAOX

Szlak IAOx funkcjonuje wyłącznie u roślin z rodzaju *Brassica*, m.in. *Arabidopsis thaliana*, *Brassica napus* i *Sinapsis alba*. Synteza IAA z Trp przez indolilo-3-acetaldoksym (IAOx) jest złożonym procesem metabolicznym, regulowanym przez cytochrom P450 wykazujący aktywność monoooksygenazy. U *A. thaliana* zidentyfikowano dwa zlokalizowane w chloroplastach enzymy CYP79B2 (ang. *Cytochrome P450 79/B2*) i CYP79B3 (ang. *Cytochrome P450 79/B3*), katalizujące reakcję *N*-hydroksylacji Trp do IAOx. Mutanty *cyp79b2 cyp79b3* charakteryzują się obniżonym poziomem IAA w stosunku do roślin typu dzikiego oraz zaburzoną syntezą IAOx, związku zaangażowanego w powstawanie wtórnych metabolitów. Infekcja patogenów roślinnych sprawia, że duża część puli wytworzonego IAOx zostaje wykorzystana do syntezy alkaloidów obronnych. Są to najczęściej glukozynolany indolowe (ang. *Indole Glucosinolates*, IG), powstające w reakcji katalizowanej przez CYP83B1 lub kamaleksyna (fitoaleksyna), syntetyzowana dzięki aktywności CYP71A13 i CYP71B15. Związkiem pośrednim między IAOx, a fitoaleksyną jest indolilo-3-acetonitryl (ang. *Indole-3-AcetoNitrile*, IAN) [2].

W optymalnych dla rozwoju roślin warunkach IAOx przekształcany jest w indolilo-3-acetamid (IAM) i/lub rzadziej w IAN. Obydwa związki są wykorzystywane do biosyntezy IAA, w reakcji katalizowanej odpowiednio przez hydrolazę indolilo-3-acetamidu (ang. *Amidase1*, AMI1) lub nitylazę (ang. *Nitrilase*, NIT). U *A. thaliana* zidentyfikowano cztery izoformy NIT1-4, z których tylko jedna – NIT4 nie jest bezpośrednio zaangażowana w biosyntezę IAA, a wyłącznie w mechanizmy detoksykacji, polegające na hydrolizie β -cyjanoalaniny do kwasu asparaginowego oraz amoniaku. Transkrypty genów kodujących NIT zidentyfikowano również u *Brassica napus*, *Nicotiana tabacum* i *Oryza sativa* [4].

Szlak IAOx został opisany dzięki badaniom prowadzonym na mutantach *A. thaliana superroot1 (sur1)* i *superroot2 (sur2)* wykazujących zaburzenia w produkcji enzymów odpowiedzialnych za przekształcanie IAOx do IG. Zablockowanie syntezy IG u *sur1* i *sur2*, a w konsekwencji zwiększenie puli IAOx, prowadzi do powstania roślin o wydłużonym hipokotylu, silnej dominacji wierzchołkowej, nadmiernym wroście korzeni przybyszowych [5].

Pomimo wykrycia IAM również u *N. tabacum*, *O. sativa*, *Z. mays*, dotychczas nie zidentyfikowano u tych roślin żadnych genów kodujących ortologi CYP79B2. Dane te wskazują, że związek ten może powstawać w alternatywnych szlakach niezależnych od IAOx.

CHARAKTERYSTYKA SZLAKU IAM

Szlak biosyntezy IAA, w którym substratem jest IAM powstający bezpośrednio z Trp, początkowo uznawany był za funkcjonujący wyłącznie u bakterii. Jednak zidentyfikowanie hydrolaz IAM (AMI1) u *N. tabacum*, *A. thaliana*, *Lycopersicon esculentum*, *Vitis vinifera*, *Zea mays* i *Oryza sativa* potwierdziło występowanie takiego szlaku również u roślin.

Badania prowadzone na *A. thaliana* wykazały, że Trp ulega przekształceniu do IAA w dwustopniowej reakcji katalizowanej przez produkty genów *aux1* i *aux2*, kodujących odpowiednio monooksygenazę tryptofanu oraz cytoplazmatyczny enzym AMI1.

Mechanizm powstawania IAM u innych gatunków roślin nie został dotychczas poznany. Przypuszcza się, że związek ten jest syntetyzowany z fosforanu indolilo-3-glicerolu niezależnie od Trp lub, podobnie jak u bakterii, w reakcji przekształcenia Trp do IAM. Jednak poszukiwania genów homologicznych do *aux1* z *A. thaliana* nie przyniosły dotąd rezultatów [2].

BIOSYNTETA IAA Z UDZIAŁEM ENZYMÓW KODOWANYCH PRZEZ *TAA1/TAR* ORAZ *YUC*

Dotychczas przypuszczano, że transkrypt *TAA1/TAR* katalizuje przekształcenie Trp do IPA, który dzięki aktywności dekarboksylazy IPA, a następnie oksydazy aldehydu indolilo-3-octowego (ang. *Aldehyde Oxidase*, AO) miał ulegać konwersji do IAAld (ang. *Indole-3-acetaldehyde*) i w konsekwencji do IAA. Zakładano, że alternatywnym szlakiem biosyntezy IAA zależnej od Trp jest szlak TAM, wymagający aktywności monooksygenaz flawinowych kodowanych przez geny *YUC*. Uważano, że Trp zostaje przekształcony w tryptaminę (ang. *Tryptamine*, TAM), która w reakcji katalizowanej przez *YUC* ulega hydroksylacji do *N*-hydroksytryptaminy (ang. *N-hydroxytryptamine*, HTAM) – bezpośredniego prekursora IAA.

Późniejsze badania wykluczyły zaangażowanie *YUC* w przekształcenie TAM do HTAM. W rozwijających się nasionach grochu pomimo wysokiego poziomu transkryptu *PsYUC-like*, poziom TAM nie zmienia się. Wprawdzie w korzeniach tej rośliny nie wykryto HTAM, ale stwierdzono, że tryptamina może zostać przekształcona do IAAld, a następnie IAA. Podobne wyniki uzyskano w badaniach pro-

wadzonych u *A. thaliana*. Mutanty *yuc1 yuc2 yuc4 yuc6* nie akumulują TAM, co wskazuje, że białkowe produkty genów z tej rodziny nie biorą udziału w przekształceniu TAM do HTAM. Ponadto poziom IPA u tych mutantów jest wyższy niż u roślin typu dzikiego. Badania z zastosowaniem białka fuzyjnego GST-YUC2 potwierdzają możliwość wykorzystywania IPA jako substratu dla YUC [4,7].

Najnowsze wyniki badań wskazują jednak, że enzymy kodowane przez geny *TAA1/TAR* i *YUC* funkcjonują w obrębie tego samego szlaku metabolicznego, będącego zmodyfikowanym szlakiem IPA, który obecnie uważany jest za podstawowe źródło IAA u *A. thaliana*. Zaproponowany model zakłada przekształcenie Trp do IPA w reakcji katalizowanej przez TAA1, a następnie syntezę IAA z IPA przy udziale białek YUC [6]. Funkcjonalne powiązanie genów *TAA1/TAR* oraz *YUC* potwierdzono w badaniach z użyciem kompetycyjnego inhibitora białek TAA1/TAR – L-kinureny. W optymalnych warunkach uprawy wszystkie mutanty *yuc A. thaliana* wykazywały fenotyp charakterystyczny dla wysokiego stężenia auksyn, natomiast zastosowanie L-kinureny znosiło ten efekt.

Gen *TAA1* u *A. thaliana* należy do rodziny *TAA1* oraz *TAR1-TAR4*, a wyniki analiz molekularnych dowodzą, że jest on identyczny z *TIR2* (ang. *Transport Inhibitor Response*). Wykazano, że *TAA1* koduje białko o charakterze aminotransferazy wymagającej do swojej aktywności kofaktora w postaci fosforanu pirydoksalu. Produkty białkowe *TAA1/TIR2* oraz *TAR1* występują w cytoplazmie, natomiast transkrypty *TAR2-TAR4* posiadają peptyd tranzytowy na N-końcu skierowany do wakuoli. Mutanty z uszkodzonym genem *TAA1* charakteryzują się deficytem IPA, natomiast *yuc* akumulują ten związek pośredni, co sugeruje, że TAA odpowiada za przekształcanie Trp do IPA. Dodatkowo stwierdzono, że mutanty *tir2 A. thaliana*, odporne na kwas 1-N-naftyloftalamowy (NPA) – inhibitor transportu auksyn, charakteryzują się osłabionym grawitropizmem korzeni, zmniejszoną liczbą korzeni bocznych i zaburzeniami w funkcjonowaniu tkanki przewodzącej liścieni. Dodanie do pożywki auksyn lub IPA przywraca właściwy fenotyp roślin, co wskazuje, że białko TIR2 jest zaangażowane w biosyntezę auksyn, natomiast nie reguluje transportu tych fitohormonów [4].

U *A. thaliana* występuje 11 genów *YUC*, których białkowe produkty są odpowiedzialne za przekształcenie IPA do IAA [3, 4]. Pojedyncze mutacje w genach *YUC* nie prowadzą do zaburzeń rozwojowych. Natomiast podwójne (*yuc1 yuc4* i *yuc2 yuc6*), potrójne (*yuc1 yuc2 yuc6*, *yuc2 yuc4 yuc6*) i poczwórne (*yuc1 yuc2 yuc4 yuc6*) mutanty wytwarzają kwiaty o obniżonej lub całkowitym braku płodności oraz charakteryzują się zniesioną dominacją wierzchołkową. Ortologi genu *YUC* zidentyfikowano m.in. u petunii (*FZY*), ryżu (*OsYUCA1-OsYUCCA7*), kukurydzy (*spi1*), grochu (*PsYUC-like*) i pomidora (*ToFZY*) [7].

Poziom endogennego IAA i jego metabolitów u mutantów *yuc1 yuc2 yuc4 yuc6* jest wyraźnie niższy niż u roślin typu dzikiego, co jest kolejnym dowodem na funkcjonowanie wspólnego szlaku dla TAA1/TAR oraz YUC. Wprowadzenie transgenu *TAA1:YUC1* do roślin linii dzikiej powoduje niewielki wzrost pozio-

mu wolnego IAA oraz znaczny przyrost ilości koniugatów IAA: kwasu 2-oksindolilo-3-octowego (ang. *2-Oxindole-3-Acetic Acid*, oxIAA), indolilo-3-acetylo asparagianinu (ang. *Indole-3-Acetyl Asp*, IAAsp) i indolilo-3-acetylo glutaminianu (ang. *Indole-3-Acetyl Glu*, IAGlu) [4].

Wyniki prowadzonych badań wykluczają udział YUC w regulacji pozostałych szlaków biosyntezy IAA tj. IAM i IAOx. U poczwórnych mutantów *yuc1 yuc2 yuc4 yuc6* poziom IAOx jest podobny, jak u roślin typu dzikiego. Nadekspresja *YUC1* oraz mutacja w genach *CYP79B2* i *CYP79B3* prowadzi do powstania fenotypu charakterystycznego dla roślin z podwyższonym poziomem auksyn, co oznacza, że geny *CYP79B2/B3* oraz *YUC* funkcjonują w odrębnych szlakach biosyntezy IAA [4].

Zidentyfikowanie ortologów genów *TAA1/TAR* oraz *YUC* u kukurydzy (ang. *Vanishing Tassel2, VT2*; ang. *Sparse Inflorescence1, SPI1*), wskazuje, że aktualny model szlaku IPA utworzony na podstawie badań prowadzonych u *A. thaliana* ma uniwersalny charakter. Jednak w odróżnieniu od *A. thaliana*, już pojedyncza mutacja genu *VT2* bądź *SPI1* u kukurydzy prowadzi do obniżenia poziomu auksyn oraz wytworzenia podobnych fenotypowo roślin, charakteryzujących się zredukowaną długością pędów, mniejszą ilością zawiązków liści i skróconymi kwiatostanami, natomiast podwójne mutanty *vt2 spi1* są podobne do *vt2*. Wyniki powyższych badań wskazują, że geny *VT2* i *SPI1* uczestniczą w regulacji jednego szlaku biosyntezy IAA [4].

Auksyny mogą powstawać również w alternatywnym szlaku (TAM), w reakcji katalizowanej przez dekarboksylazę tryptofanu (ang. *Tryptophan Decarboxylase*, TDC) oraz oksydazę aldehydową [1]. Dekarboksylazę tryptofanu zidentyfikowano u wielu gatunków roślin, m.in. *Solanaceae*, *Rubiaceae*, *Cornaceae*, *Apocynaceae*, *Oryza sativa*, *Triticum*, *Hordeum* [4]. Enzymy te regulują biosyntezę alkaloidów indolowych oraz serotoniny. Transgeniczne rośliny tytoniu z nadekspresją *TDC* charakteryzują się podwyższonym poziomem TAM.

Oksydazy aldehydowe katalizujące przekształcenie IAAld do IAA charakteryzują się szeroką specyficznością substratową i są zaangażowane w regulację wielu procesów rozwojowych oraz odpowiedzi roślin na stres. AO należą do podrodziny cytozolowych białek wymagających do swojej aktywności molibdenu oraz dinukleotydu flawinoadeninowego (ang. *Flavin Adenine Dinucleotide*, FAD) [7]. Geny kodujące AO zostały zidentyfikowane u *Arabidopsis*, *Pisum sativum*, *Cucumis sativus* i *Zea mays*. U *Arabidopsis* oraz *P. sativum* funkcjonują po trzy izoformy oksydaz (AO1-AO3, PsAO1-PsAO3).

PODSUMOWANIE

Różnorodność procesów wzrostu i rozwoju roślin regulowanych przez auksyny przyczyniła się do wytworzenia kilku odrębnych szlaków biosyntezy IAA zależnych od tryptofanu: IAOx (indolilo-3-acetaldoxymu), IPA (indolilo-3-pi-rogronianu), IAM (indolilo-3-acetamidu), TAM (tryptaminy). Występowanie

licznych interakcji pomiędzy elementami tworzącymi poszczególne szlaki, utrudnia dokładną charakterystykę biosyntezy IAA. Znaczny postęp w poznaniu regulacji tego procesu przyniosły badania prowadzone z zastosowaniem mutantów *taa1/tar* oraz *yuc A. thaliana*, na podstawie których wykluczono udział *TAA1/TAR* i *YUC* w odrębnych szlakach powstawania auksyn. Utworzono wówczas nowy, zmodyfikowany model, według którego *TAA1/TAR* katalizuje reakcję syntezy IPA z Trp, a następnie dzięki aktywności *YUC* dochodzi do powstania IAA.

Wiedza na temat biosyntezy auksyn nie jest jeszcze kompletna, jednak scharakteryzowanie czterech szlaków powstawania IAA zależnego od Trp, przybliży nas do zrozumienia przebiegu tego procesu.

PODZIĘKOWANIA

Praca powstała dzięki wsparciu finansowemu Programu Wieloletniego MRiRW nr 149/2011

LITERATURA

- [1] ABU-ZAITOON YM, BENNETT K, NORMANLY J, NONHEBEL HM. A large increase in IAA during development of rice grains correlates with the expression of tryptophan aminotransferase *OsTAR1* and a grain-specific *YUCCA*. *Physiol Plant* 2012; **146**(4): 487-99.
- [2] AHUJA I, KISSEN R, BONES AM. Phytoalexins in defense against pathogens. *Trends Plant Sci* 2012; **17**(2): 73-90.
- [3] CHENG Y, DAI X, ZHAO Y. Auxin biosynthesis by the YUCCA flavin monooxygenases controls the formation of floral organs and vascular tissue in *Arabidopsis*. *Genes Dev* 2006; **20**(13): 1790-1799.
- [4] MANO Y, NEMOTO K. The pathway of auxin biosynthesis in plants. *J Exp Bot* 2012; **63**(8): 1-20.
- [5] NOVÁK O, HÉNYKOVÁ E, SAIRANEN I, KOWALCZYK M, POSPIŠIL T, LJUNG K. Tissue-specific profiling of the *Arabidopsis thaliana* auxin metabolome. *Plant J* 2012; **72**(3): 523-536.
- [6] TIVENDALE ND, DAVIDSON SE, DAVIES NW, SMITH JA, DALMAIS M, BENDAHDANE AI, QUITTENDEN LJ, SUTTON L, BALA RK, LE SIGNOR C, THOMPSON R, HORNE J, REID JB, ROSS JJ. Biosynthesis of the Halogenated Auxin, 4-Chloroindole-3-Acetic Acid. *Plant Physiol* 2012; **159**(3): 1055-1063.
- [7] ZHAO Y. Auxin biosynthesis: a simple two-step pathway converts tryptophan to indole-3-acetic acid in plants. *Mol Plant* 2012; **5**(2): 334-338.
- [8] ZHAO Y, CHRISTENSEN SK, FANKHAUSER C, CASHMAN JR, COHEN JD, WEIGEL D, CHORY J. A role for flavin monooxygenase-like enzymes in auxin biosynthesis. *Science* 2001; **291**: 306-309.

Redaktor prowadzący – Andrzej Kononowicz

Otrzymano: 12.11.2013

Przyjęto: 12.12.2013

Agata Kućko

ul. Lelewela 1B/6, 87-100 Toruń

tel.: 0 56 6114461

e-mail: kuckoa@poczta.onet.pl