

**WSPÓLDZIAŁANIE FITOHORMONÓW  
W REGULACJI POCZĄTKOWYCH FAZ WZROSTU  
I ROZWOJU WEGETATYWNEGO ROŚLIN  
(EMBRIOGENEZA, KIEŁKOWANIE NASION,  
MERYSTEM WIERZCHOŁKOWY PĘDU I KORZENIA)**

PHYTOHORMONE INTERACTIONS IN THE CONTROL OF INITIAL  
PHASES OF PLANT GROWTH AND DEVELOPMENT  
(EMBRYOGENESIS, SEED GERMINATION,  
SHOOT AND ROOT APICAL MERISTEMS)

Katarzyna MARCINIAK, Emilia WILMOWICZ,  
Agata KUĆKO, Jan KOPCEWICZ

Katedra Fizjologii Roślin i Biotechnologii,  
Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Toruń

*Streszczenie:* Wzrost i rozwój organizmów przebiegający według schematu zapisanego w genach podlega również znacznym modyfikacjom pod wpływem czynników środowiskowych i hormonalnych. Dotychczas poznano siedem klasycznych grup hormonów roślinnych. Biorąc pod uwagę niewielką liczbę tych związków nasuwa się pytanie o sposób ich kontroli nad wysoce złożonymi i różnorodnymi procesami morfogenetycznymi. Należy przyjąć, że fitohormony w większym stopniu wywołują określoną odpowiedź fizjologiczną poprzez sieć wzajemnych oddziaływań (ang. *cross-talk*, *cross-regulation*), niż indywidualne szlaki przekazywania sygnału. Pierwszą fazą w ontogenezie roślin jest embriogeneza, czyli okres pomiędzy powstaniem zygoty, a pełną dojrzałością nasiona. W regulacji tego procesu główną rolę odgrywają auksyny i cytokiny (CK), które wspólnie kontrolują specyfikację poszczególnych komórek. Auksyny zaangażowane są przede wszystkim w powstawanie osi apikalno-bazalnej, a za ich prawidłowe rozmieszczenie odpowiadają transmembranowe białka PIN, których lokalizacja podlega ciągłym i dynamicznym zmianom. Antagonistyczne interakcje pomiędzy auksynami i CK, polegające głównie na wyłączeniu działania CK poprzez bezpośrednią aktywację przez auksyny represorów sygnalizacji CK (ARR7/15), pozwalają na prawidłowe formowanie i rozwój merystemów. Wyniki wieloletnich badań prowadzonych u różnych gatunków roślin wskazują, że aktywacja zarodka prowadząca do wzrostu siewki (kiełkowanie, germinacja) jest wynikiem zwiększenia ilości giberelin (GA) w stosunku do kwasu abscysynowego (ABA). Za przeciwstawną regulację metabolizmu tych dwóch fitohormonów odpowiadają białka LEC1/LEC2, FUS3 i ABI3. W zależnym od

światła szlaku fitochromowym główną funkcję pełnią polipeptydy PIF1/PIL5, które pośrednio przy udziale czynników transkrypcyjnych SOM i DAG, również zmieniają ekspresję genów biosyntezy/dezaktywacji GA i ABA. Wpływ na szlaki transdukcji sygnałów obu fitohormonów przypisuje się białkom DELLA, PKABA1 oraz czynnikom transkrypcyjnym z rodziny WRKY. Proces kiełkowania nasion zależy także od zrównoważonych interakcji pomiędzy ABA a CK, które są relatywnie dobrze opisane, natomiast wciąż mało wiadomo na temat oddziaływań typu GA – etylen (ET) czy ABA – strigolaktyny (SL). Wszystkie organy wegetatywne (korzeń, łodyga i liście) formowane są w rozwoju postembrionalnym dzięki populacjom specyficznych komórek zwanych merystemami wierzchołkowymi pędu (SAM) i korzenia (RAM). W hormonalnej kontroli rozwoju SAM uczestniczą głównie CK, GA oraz auksyny. Ich szlaki powiązane są przez białka z rodziny KNOX oraz ARR typu A odgrywające kluczową rolę w określaniu tożsamości tej struktury. Prawidłowy rozwój RAM jest natomiast wynikiem współdziałania auksyn z CK. Za pośrednictwem białek SHY2/IAA3, oba fitohormony regulują w antagonistyczny sposób swój metabolizm, szlaki przekazywania sygnału oraz transport. Zapewnia to odpowiednią ilość podziałów komórek i stopień ich różnicowania w poszczególnych strefach RAM. Dodatkowo za specyfikację komórek w obrębie merystemu proksymalnego odpowiadają czynniki transkrypcyjne SCR/SHR i PLT. We właściwe funkcjonowanie RAM zaangażowane są również hormony wspomagające do których zaliczamy GA, ET oraz brasinosteroidy (BR). Pomimo znacznego postępu wiedzy w zakresie biologii molekularnej i genetyki roślin, kompleksowe poznanie mechanizmów działania fitohormonów wymaga wielu kolejnych lat badań. Zainteresowanym Czytelnikom polecamy artykuły opisujące szlaki sygnałowe poszczególnych fitohormonów [11, 19, 29, 30, 40, 47], natomiast głównym celem niniejszej pracy jest przedstawienie ich wzajemnych oddziaływań w początkowych fazach wzrostu i rozwoju wegetatywnego roślin.

*Słowa kluczowe:* współdziałanie fitohormonów, embriogeneza, kiełkowanie nasion, merystemy wierzchołkowe

*Summary:* The growth and development of all organisms takes place according to the pattern stored in the genes nevertheless it is also subject to significant modifications under environmental and hormonal influence. Currently, there are seven well-known classical groups of plant hormones. Given the small number of these compounds the question arises of how they control the highly complex and diverse morphogenetic processes. It is assumed that phytohormones cause more specific physiological response by the interaction network (cross-talk, cross-regulation) than the individual signal transduction pathways. The first stage of plant ontogenesis is embryogenesis, which is the period between the creation of zygote and the full maturity of seed. In the regulation of this process, the main role is played by auxins and cytokinins (CK), which together control the specification of individual cells. Most of all, auxins are involved in the formation of the apical-basal axis, and their correct placement is governed by transmembrane PIN proteins. Antagonistic interactions between auxins and CK, consisting principally in disengaging CK by direct activation of CK signalling repressors (ARR7/15) via auxin signalling, allow the proper formation and development of the meristems. The results of long-term research on different plant species indicate that the activation of the embryo leading to seedling growth (germination) is the result of increasing the amount of gibberellins (GA) relative to abscisic acid (ABA). The opposite regulation of the metabolism of these two phytohormones is governed by LEC1/LEC2, FUS3 and ABI3 proteins. In the light-dependent phytochrome signalling pathway, an important role is played by PIF1/PIL5 polypeptides, which indirectly, with the participation of SOM and DAG transcription factors, also alter expression of GA and ABA biosynthesis/inactivation genes. Effects on signal transduction pathways of both phytohormones is attributed to DELLA, PKABA1 and WRKY proteins. The process of seed germination depends also on the balanced interaction between ABA and CK, which is relatively well defined, but still little is known about the GA – ethylene (ET) or ABA – strigolactones (SL) interactions. All vegetative organs (root,

stem and leaves) are formed during postembryonic development by specific cell populations called shoot (SAM) and root (RAM) apical meristems. In the hormonal control of the development of the SAM, it is primarily CK and GA, as well as auxins, which participate. Their pathways are connected by KNOX and ARR type A family proteins, which play a crucial role in determining the identity of this structure. In turn, proper development of the RAM is the result of auxins and CK interactions. Through the SHY2/IAA3 proteins, both phytohormones can regulate their own metabolism, signal transduction pathways and transport in an antagonistic manner. This ensures the right amount of cell division and degree of differentiation in each RAM zone. In addition, the cell specification in the proximal meristem is controlled by SCR/SHR and PLT transcription factors. In the development of the RAM, GA, ET and brassinosteroids (BR) also participate, but it should be noted that they act as supporting hormones. Despite significant advances in knowledge in the field of molecular biology and plant genetics, a comprehensive understanding of the mechanisms of plant hormone function requires many years of research. To Readers interested to know more, we recommend articles describing various phytohormone signalling pathways [11, 19, 29, 30, 40, 47], while the main objective of this paper is to present their interactions in the initial vegetative phase of plant growth and development.

*Key words:* phytohormone interactions, embryogenesis, seed germination, apical meristems

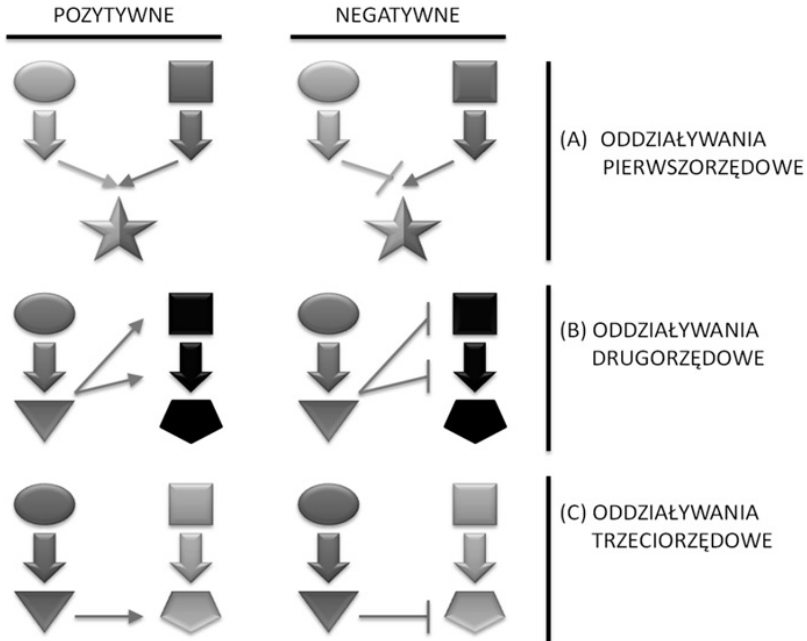
## WSTĘP

Tak jak wszystkie organizmy, rośliny wrażliwe są na bodźce środowiskowe i wewnętrzne. Oba typy czynników są niezwykle ważne, ale dopiero ich zintegrowanie zapewnia prawidłowy przebieg procesów wzrostowo-rozwojowych [44]. Do najważniejszych czynników zewnętrznych (egzogennych) należą fotoperiod, jakość światła i temperatura, natomiast wśród endogennych regulatorów syntetyzowanych przez rośliny wyróżniamy fitohormony. Jako drobnocząsteczkowe substancje organiczne wytwarzane przez komórki różnych tkanek, pełnią one rolę sygnałów chemicznych przekazujących informacje na małe i duże odległości [7]. Każdy z fitohormonów posiada oddzielny receptor wewnątrz- lub zewnątrzkomórkowy, a w wyniku przekazania sygnału do jądra komórkowego dochodzi do aktywacji pierwotnych genów i syntezy białek. Wskazuje to na wysoce specyficzny mechanizm ich funkcjonowania w generowaniu określonych odpowiedzi fizjologicznych [30]. Wiadomo jednak, że skutki działania różnych fitohormonów często nakładają się na siebie, dlatego trudno jest wskazać reakcję charakterystyczną dla jednego z nich. W procesach regulowanych przez zespoły fitohormonów, można wyróżnić hormony dominujące i wspomagające, a także takie, które działają synergistycznie lub antagonistycznie. W zależności od stężenia mogą one pobudzać lub hamować różne procesy, a wrażliwość poszczególnych organów roślinnych na działanie tego samego stężenia regulatora jest inna [26, 44]. Dodatkowo hormony roślinne działają na zasadzie równowagi, co oznacza, iż wszelkie zakłócenia w biosyntezie lub szlaku transdukcji sygnału jednego z nich natychmiast aktywują lub dezaktywują metabolizm lub funkcjonowanie drugiego. W chwili obecnej znanych jest siedem klasycznych grup fitohormonów, a mianowicie

auksyny, cytokininy (ang. *Cytokinins*, CK), gibereliny (ang. *Gibberellins*, GA), kwas abscysynowy (ang. *Abscisic Acid*, ABA), etylen (ang. *Ethylene*, ET), jasmoniany (ang. *Jasmonates*, JA) i brasinosteroidy (ang. *Brassinosteroids*, BR). Istnieją także związki, które pretendują do tego miana, m.in. kwas salicylowy (ang. *Salicylic Acid*, SA) czy strigolaktyny (ang. *Strigolactones*, SL). Ze względu na ilość i złożoność procesów regulowanych przez fitohormony w wegetatywnej fazie wzrostu roślin, w niniejszym artykule opisano ich wzajemne oddziaływania na etapie embriogenezy, kiełkowania nasion oraz rozwoju merystemów wierzchołkowych pędu i korzenia. Głównym celem drugiej części pracy jest natomiast przedstawienie wzajemnych interakcji hormonalnych w rozwoju organów wegetatywnych dojrzałej rośliny, tj. łodyga, liście i korzeń.

## RODZAJE ODDZIAŁYWAŃ FITOHORMONALNYCH

Począwszy od etapu embriogenezy, poprzez kiełkowanie nasion, rozwój wegetatywny i generatywny, rośliny realizują genetyczny program wzrostowo-rozwojowy. Jest to ściśle związane z ekspresją specyficznych genów i syntezą kodowanych przez nie białek, która zachodzi w komórkach tkanek poszczególnych organów na zróżnicowanym poziomie, w zależności od fazy rozwoju. Oprócz czynników genetycznych i środowiskowych, do prawidłowego przebiegu morfogenezy każdej rośliny potrzebne są różnorodne interakcje hormonalne. Próby rozdzielania skomplikowanych szlaków ich wzajemnych oddziaływań pozwalają z coraz lepszym skutkiem wyjaśnić mechanizmy działania tych związków w kolejnych fazach ontogenezy. Wyróżniamy trzy rodzaje pozytywnych i negatywnych oddziaływań pomiędzy fitohormonami – pierwszorzędowe (pierwotne, podstawowe, bezpośrednie), drugorzędowe (wtórne, pośrednie) oraz trzeciorzędowe (koregulacja) [21, 26]. Interakcje pierwszorzędowe polegają na wpływie dwóch równorzędnych szlaków hormonalnej transdukcji sygnału na regulację aktywności transkrypcyjnej wspólnego genu lub genów (ryc. 1A). W wyniku tego powstaje białko lub białka, które bezpośrednio ze sobą oddziałują. W chwili obecnej oddziaływania tego typu są wciąż mało poznane. W interakcjach drugorzędowych mamy do czynienia z wpływem jednego szlaku hormonalnego na biosyntezę/degradację, transport lub drogę przekazywania sygnału drugiego hormonu (ryc. 1B). Opisane oddziaływania obserwowane są najczęściej i występują w przypadku wszystkich fitohormonów [35]. Z kolei w oddziaływaniach trzeciego rzędu końcowy produkt jednego szlaku sygnałowego wpływa na rezultat działania drugiego (ryc. 1C). Proces ten zwany koregulacją kontrolowany jest przez więcej niż jedną cząsteczkę sygnałową, a odpowiedź determinowana jest przez połączenie wydajności niezależnych reakcji, które kumulują się w synergistycznych, addytywnych lub antagonistycznych relacjach [21]. Należy dodać, że efekt działania fitohormonów nie ogranicza się tylko i wyłącznie do zmian ekspresji genów (odpowiedzi wolne). Równie ważne są odpowiedzi szybkie, mające miejsce na przykład na poziomie błony komórkowej (otwieranie i zamykanie kanałów jonowych).



**RYCINA 1.** Sposoby współoddziaływań hormonalnych szlaków sygnałowych. **A)** Oddziaływania pierwotne, bezpośrednie; **B)** oddziaływania wtórne, pośrednie; **C)** oddziaływania trzeciorzędowe, koregulacja. Kółkiem lub kwadratem zaznaczono receptor, szeroka strzałka oznacza szlak przekazywania sygnału, natomiast element poniżej strzałki to pierwotny gen odpowiedzi na dany czynnik. Szczegóły w tekście. Na podstawie [26], zmodyfikowane

**FIGURE 1.** A classification scheme for regulation between signalling pathways. **A)** Primary cross-regulation; **B)** secondary cross-regulation; **C)** tertiary cross-regulation, co-regulation. A circle or square marks the receptor, a wide arrow indicates a signal transduction pathway and the element below the arrow is the primary response gene. Details in the text. According to [26], modified

## EMBRIOGENEZA

Zapłodniona komórka jajowa, od której rozpoczyna się proces embriogenezy, dzieli się wiele razy według ściśle określonego planu. Najpierw powstaje kulisty prazarodek, który w krótkim czasie przekształca się w zarodek spolaryzowany z wykształcającą się osią apikalno-bazalną. Wzdłuż tej osi, wyznaczanej przez merystemy wierzchołkowe pędu i korzenia, znajdują się takie struktury jak liścienie, hipokotyl oraz zawiązek korzenia [18]. W embrionalnym kształtowaniu merystemów wierzchołkowych pędu i korzenia uczestniczą głównie auksyny i CK, które wspólnie kontrolują specyfikację poszczególnych komórek [32, 34]. Auksyny zaangażowane są przede wszystkim w powstawanie osi apikalno-bazalnej. Ich zróżnicowane rozmieszczenie w zarodku możliwe jest dzięki transmembranowym białkom PIN (ang. *Pin*

-formed), których lokalizacja podlega ciągłym i dynamicznym zmianom. Na etapie dwukomórkowego zarodka, w większej komórce bazalnej, wzmożonej aktywności transkrypcyjnej ulega gen *PIN7*, w wyniku czego powstają białka eksportowe wbudowane do błony po stronie apikalnej, co umożliwia przepływ auksyn do mniejszej komórki. Po dwóch kolejnych podziałach, białka te umiejscowione są w błonie apikalnej komórek wieszadelka powstałych po podziale komórki bazalnej, co skutkuje wysokim stopniem akumulacji auksyn w całym zarodku [12]. W związku z charakterystycznym rozmieszczeniem auksyn, w czterech subepidermalnych komórkach regionu apikalnego zarodka będącego we wczesnej fazie globularnej (16 komórek), nasilonej ekspresji ulega gen *WUS* (ang. *Wuschel*). Uznawany jest on za specyficzny marker inicjacji merystemu wierzchołkowego pędu SAM (ang. *Shoot Apical Meristem*) kształtującego się ostatecznie do stadium torpedy. W późnym, 32-komórkowym stadium zarodka globularnego następuje zmiana lokalizacji białek *PIN7* z apikalnej na bazalną, w związku z czym obserwuje się transport auksyn z powrotem do komórek wieszadelka [24]. Cząsteczki fitohormonu gromadzone są przeważnie w szczytowej komórce wieszadelka określanej mianem hypofizy (wstawki), która daje początek centralnej części merystemu korzeniowego RAM (ang. *Root Apical Meristem*) oraz komórkom inicjalnym czapeczki [12]. Pierwszy, asymetryczny podział hypofizy prowadzi do powstania mniejszej komórki apikalnej będącej prekursorem strefy spoczynkowej QC (ang. *Quiescent Centre*) oraz większej komórki bazalnej będącej głównym miejscem interakcji pomiędzy auksynami a CK. Niektóre z komponentów szlaku sygnalizacji CK zostały wykryte w tym rejonie we wczesnym stadium globularnego rozwoju zarodka. Działanie CK zostaje całkowicie wyłączone poprzez bezpośrednią aktywację przez auksyny represorów sygnalizacji CK, a mianowicie polipeptydów *ARR7* i *ARR15* (ang. *Arabidopsis Response Regulator 7/15*) [34]. Antagonistyczne interakcje pomiędzy tymi dwoma grupami fitohormonów pozwalają na prawidłowy rozwój merystemu korzeniowego. W późniejszym etapie rozwoju zarodka sercowatego, w miejscach zbiegania się strumieni auksyny w protodermie określanych jako punkty konwergencyjne, maksima stężenia fitohormonu wyznaczają miejsca inicjacji zawiązków liścieniowych. We wczesnych etapach embriogenezy *Arabidopsis thaliana* (rzodkiewnik pospolity), auksyny spełniają swoje funkcje za pośrednictwem białek *MP/ARF5* (ang. *Monopteros / Auxin Response Factor 5*) i *BDL/IAA12* (ang. *Bodenlos / Auxin-induced protein 12*) [48]. Białka *MP* potrzebne są do prawidłowego kształtowania osi apikalno-bazalnej, hypofizy oraz rozwoju domeny centralnej [45].

## KIELKOWANIE NASION

Silne odwodnienie dojrzałego zarodka pozwala na spowolnienie metabolizmu, dopóki nie nastąpią odpowiednie warunki do jego dalszego rozwoju. Po okresie spoczynku następuje kiełkowanie, w trakcie którego z nasiona wyłania się os

rodka. Pierwsze stadium kiełkowania, określane jako skotomorfogeneza, charakteryzuje się gwałtownym wzrostem łodygi w kierunku powierzchni gleby. Kiedy siewka wyrasta nad jej powierzchnię eksponowana jest na światło, co rozpoczyna stadium fotomorfogenezy [7]. W procesach tych główną rolę odgrywają GA i ABA (ryc. 2). Liczne mutacje związane z fazą kiełkowania łączy się z genami kodującymi komponenty szlaków biosyntetycznych lub sygnałowych tych fitohormonów. Wyniki wieloletnich badań prowadzonych u różnych gatunków roślin potwierdziły antagonistyczny sposób funkcjonowania GA i ABA [51]. Zidentyfikowano także kilka czynników transkrypcyjnych typu B3 odpowiedzialnych za ścisłą regulację metabolizmu tych dwóch fitohormonów. Wśród nich wyróżniono białka LEC1, LEC2 (ang. *Leafy Cotyledon 1/2*), FUS3 (ang. *Fusca 3*) i ABI3 (ang. *Abcisic acid Insensitive 3*). Curaba i wsp. zaobserwowali zwiększoną zawartość białek LEC2 i FUS3 w nasionach *A. thaliana*. Obydwa białka, poprzez bezpośrednie wiązanie do sekwencji RY zlokalizowanej w promotorze genu *AtGA3ox2* (ang. *GA3-oxidase 2*), hamują jego ekspresję, co w konsekwencji obniża zawartość GA [6]. Rezultaty prowadzonych w tym samym czasie badań Gazzarrini i wsp. [15] pokazały, że wzmożona ekspresja genu *FUS3*, prowadzi jednocześnie do wzrostu stężenia ABA i hamowania ekspresji dwóch kolejnych genów kodujących białka biosyntezy GA – *AtGA3ox1* i *AtGA20ox1* (ang. *GA20-oxidase 1*). Białko FUS3 funkcjonuje więc jako pozytywny i negatywny regulator zawartości odpowiednio ABA i GA. Szlaki sygnałowe obu fitohormonów kontrolują również poziom białka FUS3, co wskazuje na istnienie pętli sprzężenia zwrotnego, która pozwala utrzymać stan równowagi hormonalnej w rozwijających się nasionach [15, 28]. Fenotyp mutantów *lec* i *fus* jest żyworośny, co oznacza przedwczesne kiełkowanie polegające na aktywacji SAM i różnicowaniu komórek pędu już w zarodku. Dodatkowo mutanty te charakteryzują się liściokształtną morfologią liścieni oraz zmniejszoną akumulacją białek zapasowych. Nadekspresja genu *LEC* w kiełkujących siewkach prowadzi natomiast do ektopowego rozwoju struktur podobnych do zarodka. Taki fenotyp nie pojawia się jednak przy nadekspresji genów *FUS* i *ABI* [7].

Równie istotne jak oddziaływania na poziomie biosyntezy są wzajemne regulacje szlaków transdukcji sygnałów GA i ABA (ryc. 2). Podczas kiełkowania ziarniaków zbóż, rozwijający się zarodek uwalnia do komórek warstwy aleuronowej duże ilości GA, które indukują transkrypcję wielu genów kodujących enzymy hydrolytyczne, w tym głównie  $\alpha$ -*Amy* (ang.  *$\alpha$ -Amylase*). Enzymy wydzielane są następnie do bielma gdzie trawią skrobię dostarczając w ten sposób zarodkowi wielu substancji odżywczych. W przeciwieństwie do opisanego mechanizmu, ABA hamuje syntezę i sekrecję hydrolaz. Wszystkie sekwencje promotorowe  $\alpha$ -*Amy* zawierają element odpowiedzi na GA – GARE (ang. *GA Response Element*), który jest wymagany zarówno do aktywacji ich ekspresji przez GA, jak i hamowania przez ABA [49]. Białkami łączącymi się z sekwencją GARE są czynniki transkrypcyjne GA-Myb (ang. *GA-induced Myb-like protein*), kodowane przez geny znajdujące się pod

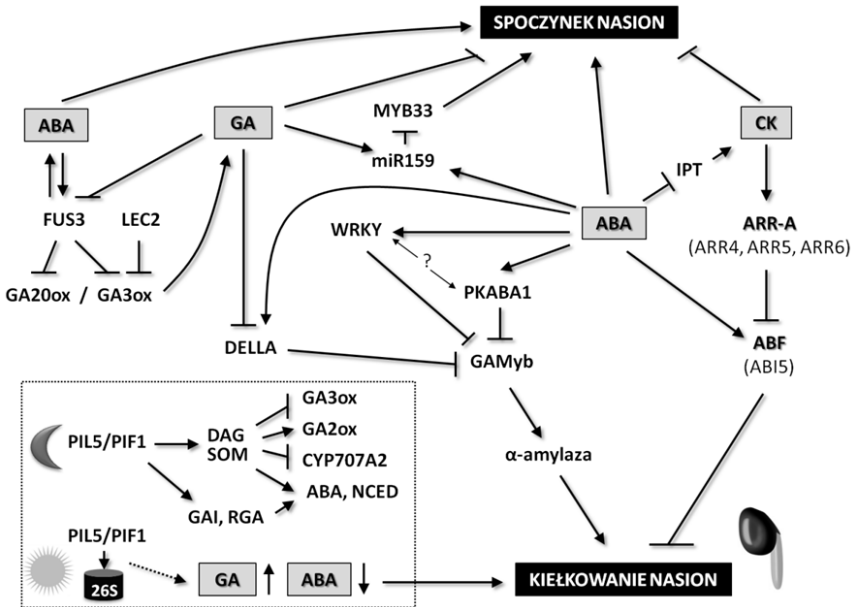
ściśle kontrolą polipeptydów DELLA. W przypadku wysokiego stężenia GA, białka DELLA ulegają degradacji w proteasomach 26S, w związku z czym czynniki GAMyb mogą łączyć się z promotorami  $\alpha$ -amylaz i indukować ich syntezę. Z kolei przy braku lub bardzo niskim stężeniu GA, białka DELLA uniemożliwiają ekspresję genów *GAMyb* i tym samym nie obserwuje się odpowiedzi na GA. Przez długi czas zastanawiano się jak w opisany schemat wkomponowuje się szlak sygnałowy ABA. Wykazano, że oprócz białek DELLA, indukcję genów *GAMyb* i  $\alpha$ -Amy hamuje serynowo-treoninowa kinaza białkowa PKABA1, której zawartość znacznie wzrasta po podaniu ABA [16]. Wyniki innych badań prowadzonych z wykorzystaniem RNAi pokazały, że pomimo wyciszenia genu *PKABA1*, ABA wciąż hamuje ekspresję  $\alpha$ -Amy. Sugeruje to, że ABA wpływa na proces kiełkowania nasion również poprzez dodatkowy szlak niezależny od PKABA1 [55]. U ryżu (*Oryza sativa*) alternatywny szlak prowadzący do supresji odpowiedzi giberelinowej przez ABA jest tworzony przez dwa czynniki transkrypcyjne z rodziny WRKY [53]. Nie ma wątpliwości, że białka te hamują aktywność transkrypcyjną genów *GAMyb* blokując w konsekwencji proces kiełkowania nasion, jednak potencjalne interakcje z polipeptydami PKABA1 nie są jeszcze dokładnie poznane [49]. Wiadomo natomiast, że ABA wpływa również bezpośrednio na wzrost ekspresji genów *DELLA* będących represorami szlaku GA [1]. W celu kompleksowego przedstawienia interakcji pomiędzy GA i ABA należy również wspomnieć o pozytywnym wpływie obu fitohormonów na akumulację jednego z mikro RNA, a mianowicie miR159, który jest komplementarny do transkryptu genu *MYB33* i pośredniczy w jego degradacji. Obok zaangażowania MYB33 w regulację procesu kwitnienia, białko to uczestniczy również w kontroli spoczynku nasion promowanym przez ABA [41].

Nasiona wielu gatunków roślin wykazują fotoblastię dodatnią lub ujemną, czyli ich kiełkowanie zależy od obecności lub braku światła. U takich roślin dwuliściennych jak np. sałata (*Lactuca sativa*), pomidor (*Lycopersicon esculentum*) czy *A. thaliana*, kiełkowanie jest pod kontrolą fitochromów (ang. *Phytochrome*, PHY). Kluczowymi represorami tego procesu są białka PIF1/PIL5 (ang. *Phytochrome Interacting Factor 1 / PIF3-Like 5*), które pośrednio regulują ekspresję genów kodujących enzymy metabolizmu GA i ABA [37] (ryc. 2). Przy braku światła, co ściśle wiąże się z brakiem aktywnej biologicznie formy PHY A/B – P<sub>fr</sub>, białka PIL5 aktywują ekspresję genów *SOM* (ang. *Somnus*) i *DAG1* (ang. *Dof Affecting Germination 1*). Wysokie stężenie białek SOM hamuje aktywność genów kodujących enzymy biosyntezy GA – *GA3ox1* i *GA3ox2* oraz genu kodującego enzym katabolizmu ABA – *CYP707A2*, natomiast zwiększa ekspresję genów kodujących enzymy katabolizmu GA – *GA2ox2* (ang. *GA2-oxidase 2*) i biosyntezy ABA – *ABA1*, *NCED6*, *NCED9* (ang. *9-Cis-Epoxycarotenoid Dioxygenase*). Prowadzi to do obniżenia stężenia GA oraz podwyższenia koncentracji ABA, co w rezultacie hamuje kiełkowanie nasion. Białka DAG1 wywołują taki sam efekt, jednak w odróżnieniu od SOM, zmniejszają jedynie ilość mRNA genu *GA3ox1* [28]. U *A. thaliana* białka PIL5 wpływają także



bezpośrednio na ekspresję genów *DELLA* – *GAI* (ang. *GA Insensitive*) i *RGA* (ang. *Repressor of GA 1-3*), co prowadzi do hamowania kiełkowania nasion. Obniżenie pozytywnego wpływu GA na proces kiełkowania wiąże się także ze zdolnością białek DELLA do indukcji genów kodujących białka biosyntezy ABA [36]. Z kolei w obecności światła PHY A/B w formie  $P_{fr}$  fizycznie oddziałując z PIL5 powoduje jego degradację w proteasomach 26S, co zmienia ekspresję genów kodujących białka związane z metabolizmem i szlakiem transdukcji GA i ABA. W konsekwencji dochodzi do zwiększenia akumulacji GA i zmniejszenia ABA, czego następstwem jest kiełkowanie nasion [28, 36, 37].

W regulacji procesu kiełkowania nasion istotne wydają się także interakcje pomiędzy ABA i CK (ryc. 2). W celu przybliżenia mechanizmu tych oddziaływań wykonano szereg badań mutantów *A. thaliana* niewrażliwych na ABA [46]. Jeden z takich mutantów *gim1* (ang. *Germination Insensitive to ABA Mutant 1*) wykazuje podwyższony poziom CK, co wiąże się prawdopodobnie ze wzmożoną ekspresją genu *IPT8* (ang. *Isopentenyltransferase 8*). U roślin typu dzikiego (ang. *Wild Type*, WT), ABA ograniczając ekspresję podstawowego genu biosyntezy CK, pośrednio hamuje również szlak przekazywania sygnału tego fitohormonu. W związku z tym zmniejszeniu ulega ilość czynników transkrypcyjnych ARR typu A (ARR4-6),



**RYCINA 2.** Proponowany model interakcji pomiędzy GA, ABA, CK i światłem w procesie kiełkowania/spozycyunku nasion. Szczegóły w tekście. Na podstawie [28, 46, 49], zmodyfikowane

**FIGURE 2.** The proposed model of the interaction between GA, ABA, CK and light in germination/dormancy. Details in the text. According to [28, 46, 49], modified

będących głównymi elementami sygnalizacji CK. Dalsze analizy transkryptomu mutantu *gim1* wykazały, że zawartość mRNA genu *ABI5*, którego białko syntetyzowane jest w odpowiedzi na wysokie stężenie ABA, jest wyraźnie zmniejszona. Poziom transkryptów nie zwiększa się również po aplikacji ABA. U mutantu *gim1* nie obserwowano także zależnej od ABA kontroli czynników transkrypcyjnych ARR-A, które jak się okazało negatywnie regulują ekspresję *ABI5*. Dodatkowo białka ARR-A wykazują zdolność do fizycznych interakcji z *ABI5*. Podsumowując, CK zapobiegają hamowaniu kiełkowania nasion *A. thaliana* przez ABA w wyniku negatywnej regulacji ekspresji genu *ABI5*, a być może także innych czynników z rodziny ABF. Brak białek *ABI5* prowadzi do przerywania szlaku transdukcji sygnału ABA i w konsekwencji do kiełkowania nasion [46].

W badaniach nad przejściem nasion buka (*Fagus sylvatica*) ze stanu spoczynku do kiełkowania wykazano, że ET i GA regulują ekspresję kluczowych genów kodujących białka biorące udział w ich biosyntezie – *FsACOI* (ang. *Aminocyclopropane-carboxylate Oxidase 1*) i *FsGA20ox1* [3, 4]. Traktowanie nasion buka inhibitorami biosyntezy GA – PAC (ang. *Paclobutrazol*) i etylenu – AOA (ang. *Aminoxyacetic Acid*) prowadzi do wzrostu poziomu ekspresji *FsGA20ox1* [4]. Jednocześnie zaobserwowano, że  $GA_3$  odwraca efekt AOA, a podanie etefonu (źródła etylenu) – efekt PAC. Wynika stąd, że zarówno GA, jak i ET hamują ekspresję genu *FsGA20ox1*, przez co przyczyniają się do obniżenia zawartości GA i pozostania nasion w stanie spoczynku. Odwrotny efekt obserwowano w przypadku wpływu obu fitohormonów na ekspresję *FsACOI*, którego produkt katalizuje ostatni etap biosyntezy ET. Oba omawiane fitohormony znacząco zwiększają aktywność transkrypcyjną *FsACOI*, co koreluje ze wzrostem produkcji ET [3].

W procesie inicjacji kiełkowania nasion parazytofitów przez inne rośliny istotne, ale wciąż mało poznane, wydają się interakcje pomiędzy ABA i SL. Polegają one na tym, że biosynteza SL jest najprawdopodobniej kontrolowana przez szlak sygnałowy ABA [31]. Istotnych dowodów dostarczyły wyniki badań mutantów z deficytem ABA – *vp14* (ang. *Viviparous 14*) u kukurydzy (*Zea mays*) oraz *notabilis* u pomidora, u których mutacje znoszą funkcję genu kodującego białko NCED odpowiedzialne za cięcie 9-*cis*-epoksykarotenoidu. Mutanty *vp14* i *notabilis* wykazywały zmniejszoną zdolność do zależnej od SL inicjacji kiełkowania nasion takich roślin pasożytniczych jak *Striga hermonthica* i *Phelipanche ramosa*. Wyniki tych badań nie dały jednoznacznej odpowiedzi na pytanie czy obniżenie produkcji SL wywołane było mutacją genu *NCED* czy też zmniejszonym stężeniem ABA. Z tego powodu zbadano dwa inne mutanty pomidora *sitiens* i *flacca*, u których biosynteza fitohormonu zatrzymana jest na jednym z ostatnich etapów, gdy enzym oksydazy aldehydowej przekształca aldehyd abscysynowy do ABA. W wydzielinie korzeni tych mutantów, charakteryzujących się znacznie obniżoną zawartością ABA, wykazano dwukrotnie niższe stężenie SL i związany z tym spadek zdolności roślin do zapoczątkowania kiełkowania nasion parazytofitów. Traktowanie mutantu *sitiens*

roztworami ABA o różnym stężeniu nie wpływało na zwiększenie biosyntezy SL. Niemniej jednak zaobserwowano wzrost ekspresji genów zależnych od ABA, co potwierdza, że fitohormon ten był pobierany przez traktowane rośliny. Wyniki przedstawionych badań wyraźnie wskazują na zależność pomiędzy obniżeniem stężenia ABA, a spadkiem biosyntezy SL. Nie wykazano jednak, aby obniżenie stężenia SL wpływało na biosyntezę ABA [31].

Obok klasycznych fitohormonów i cząsteczek sygnałowych tj. ROS (ang. *Reactive Oxygen Species*) i NO (ang. *Nitric Oxide*), w kontroli spoczynku, kiełkowania i starzenia nasion uczestniczą również poliaminy (ang. *Polyamines*, PA) zaliczane do grupy regulatorów wzrostu i rozwoju [25]. Podczas ustępowania spoczynku i kiełkowania nasion obserwowane są charakterystyczne dla tych procesów zmiany stężenia PA, mimo że rola poszczególnych PA jest odmienna. U większości nasion, główna poliamina, określana jako spermina uznawana jest za inhibitor kiełkowania, podobnie jak ABA. Z kolei putrescyna i spermidyna zapewniają prawidłowy przebieg katabolicznej i anabolicznej fazy kiełkowania. Przegląd wyników najnowszych badań dotyczących funkcji PA w biologii nasion opisano w pracy autorstwa Krasuska i wsp., 2012 [25].

## MERYSTEM WIERZCHOŁKOWY PĘDU (SAM)

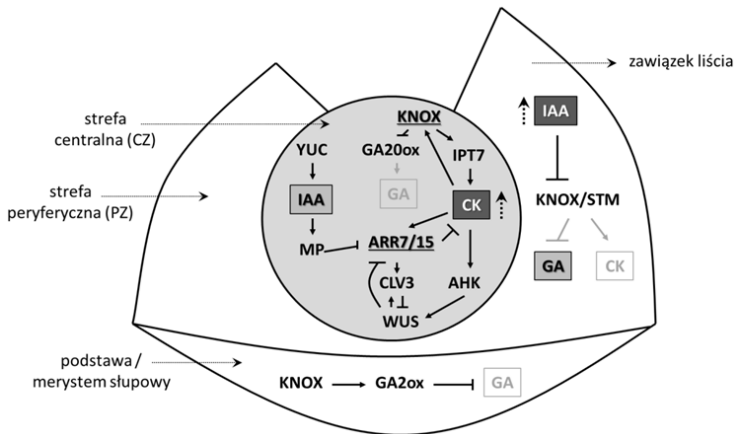
Organy zarodka roślinnego, tj. oś i liścienie, uczestniczą głównie w kiełkowaniu nasiona. Dojrzałe organy formują się natomiast postembrionalnie i pochodzą od dwóch populacji samoodnawiających się komórek założonych w zarodku, nazywanych merystemami pędu (ang. *Shoot Apical Meristem*, SAM) i korzenia (ang. *Root Apical Meristem*, RAM). SAM daje początek wszystkim nadziemnym częściom rośliny, natomiast RAM zapoczątkowuje system korzeniowy.

W budowie SAM wyróżniamy strefę centralną CZ (ang. *Central Zone*) i strefy peryferyczne PZ (ang. *Peripheral Zones*). CZ zawiera duże, silnie zwakuolizowane komórki macierzyste, których tempo dzielenia się jest wolne. PZ składają się natomiast z szybko dzielących się inicjalnych komórek apikalnych, które są małe i mają gęstą cytoplazmę. Merystem otacza strefa morfogenetyczna, w której zachodzi różnicowanie. Strefa ta zawiera zawiązki organów bocznych, natomiast poniżej szczytowej kopuły znajduje się merystem słupowy, w którym w miarę wzrostu pędu odkładają się rzędy komórek rosnącej łodygi [45]. Zachowanie równowagi pomiędzy podziałami komórek, a ich różnicowaniem jest konieczne do zachowania prawidłowego rozmiaru i struktury SAM. U *A. thaliana* wielkość SAM regulowana jest pętlą ujemnego sprzężenia zwrotnego pomiędzy aktywnością genów *WUS* i *CLV* (ang. *Clavata*). U mutantów *clv* następuje nagromadzenie proliferujących komórek, w rezultacie czego powstaje merystem większy niż u roślin WT. Formowanie się organów na zewnątrz takiego powiększonego merystemu jest jednak regularne,

co wskazuje na niezaburzony proces organogenezy i sugeruje, że funkcją białek CLV jest ograniczanie proliferacji komórek. Wielkość merystemu kontrolują także konkurujące z CLV homeodomenowe czynniki transkrypcyjne STM (ang. *Shoot Meristemless*) należące do rodziny KNOX (ang. *Knotted 1-like homeobox*). Aktywność obu typów białek określa strefę proliferacji i morfogenezy w kopule apikalnej wierzchołka wzrostu. Tak jak w przypadku CLV, celem dla STM jest gen *WUS*, którego aktywność jest niezbędna do namnażania komórek w obrębie merystemu. U mutantów *wus* dzielące się komórki przeznaczone są do różnicowania zbyt szybko, tak, że merystem kurczy się i wzrost rośliny ustaje po wytworzeniu kilku liści. Obok genetycznej kontroli prawidłowego rozwoju SAM, istotną rolę odgrywają trzy grupy fitohormonów: CK, GA i auksyny. Szlaki sygnałowe CK i GA powiązane są przez wspomniane białka KNOX odgrywające kluczową rolę zarówno w określaniu tożsamości SAM, jak i morfologii liści (ryc. 3). U wielu gatunków roślin, nadekspresja genów *KNOX* powoduje silnie karłowaty fenotyp, co wynika z obniżenia zawartości GA. Rezultaty badań genetycznych prowadzonych na tytoniu (*Nicotiana tabacum*) ujawniły, że białkowy produkt genu *NtKNOX/NtH15* (ang. *Nt Homeobox 15*) hamuje biosyntezę GA w korpusie SAM poprzez obniżenie ekspresji genu *NtGA20ox*, natomiast brak ekspresji genów *NtKNOX* w rejonach otaczających korpus nie blokuje aktywności genów związanych z biosyntezą tego fitohormonu [5, 20, 43]. U *A. thaliana*, białka AtKNOX/STM wpływają także na poziom transkryptów genów *AtGA2ox4/AtGA2ox6* i ma to miejsce przy podstawie merystemu, podobnie zresztą jak u ryżu, gdzie gen *OsGA2ox1* ulega ekspresji wokół wegetatywnego wierzchołka wzrostu [43]. Białka KNOX wywierają także wpływ na metabolizm CK, inaczej jednak niż w przypadku GA zaobserwowano pozytywny wpływ na ekspresję genu *IPT* zaangażowanego w biosyntezę aktywnych cząsteczek fitohormonu. Podwyższone stężenie CK stymuluje zwrótnie aktywność transkrypcyjną genów *KNOX* [52] oraz dodatkowo zwiększa zawartość mRNA genu *GA2ox*, przyczyniając się tym samym do inaktywacji GA [23, 54]. O kluczowej roli CK w utrzymywaniu aktywności i odpowiedniego rozmiaru merystemu świadczy fakt, że oba procesy są całkowicie zaburzone w przypadku braku bioaktywnych cząsteczek fitohormonu na skutek mutacji w genach kodujących białka odpowiedzialne za ich biosyntezę [50].

Białkami, które integrują funkcjonowanie wielu szlaków w obrębie CZ merystemu są czynniki transkrypcyjne ARR typu A, będące negatywnymi elementami sygnalizacji CK. Stymulują one bezpośrednio aktywność genu *CLV3*, którego białkowy produkt, tak jak wcześniej wspomniano, limituje ekspresję genu *WUS* [57]. Białko WUS hamuje natomiast zwrótnie aktywność *ARR5*, *ARR7* i *ARR15* [27]. CK mogą więc regulować swój poziom wpływając pośrednio na aktywność

*WUS* w szlaku zależnym od *CLV*. Ponieważ u mutantów *clv* stwierdzono wysoki poziom transkryptów *WUS* po podaniu CK, wywnioskowano, że musi istnieć dodatkowy mechanizm regulujący ekspresję tego genu. Alternatywny szlak prowadzi przez dwie spośród trzech hybrydowych kinaz histydynowych AHK2 i AHK4/CRE1/WOL (ang. *A. thaliana* *Histidine Kinase 4/Cytokinin Resistant 1/Wooden Leg*) będących receptorami CK [17]. W ten sposób pożądanym, wysokim poziomem CK w CZ merystemu, utrzymywany jest dodatkowo w sposób niezależny od *CLV* w wyniku represji negatywnych regulatorów sygnalizacji tego fitohormonu (ARR-A), w którym pośredniczą białka *WUS* [10]. Białka *ARR7* i *ARR15* działają również jako czynniki integrujące sygnalizację auksyn i CK. Auksyny syntetyzowane dzięki wzmożonej transkrypcji genów *YUC* (ang. *Yucca*) akumulują się w CZ na umiarkowanym poziomie stymulując pierwotne geny odpowiedzi, w szlaku, w którym pośredniczą białka *AUX/IAA* i *ARF* [56]. U mutantów *yuc*, *pin1* oraz *pid* (ang. *Pinoid*; serynowo-treoninowa kinaza białkowa *PID* wpływa na rozmieszczenie białek *PIN* w błonie) zaobserwowano, gwałtowny wzrost mRNA *ARR7* i *ARR15* w obrębie CZ, a więc aktywność tych genów jest indukowana w sytuacji lokalnego zmniejszenia zawartości auksyn. Z kolei przy wyższym stężeniu, auksyny pośrednio zwiększają ilość CK w CZ poprzez hamowanie ekspresji *ARR7/ARR15* w szlaku zależnym od białek *MP/ARF5* [57].



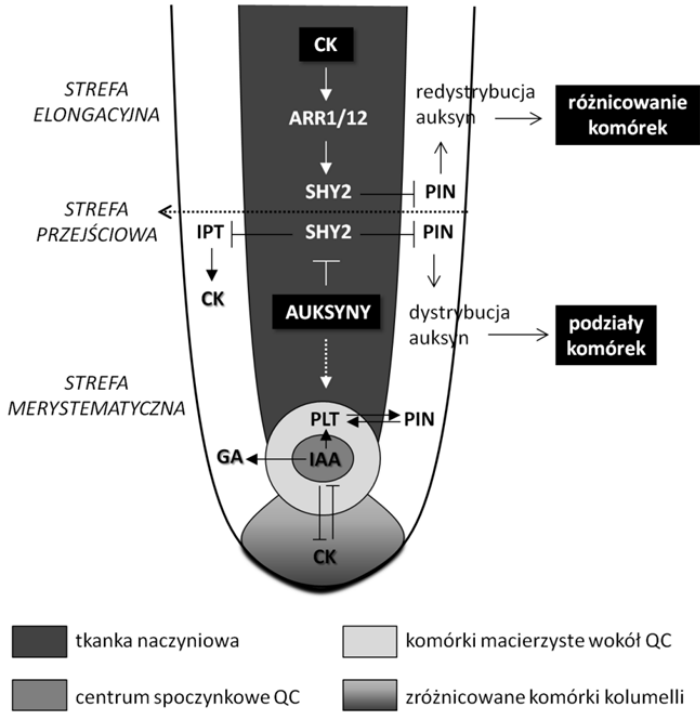
**RYCINA 3.** Molekularny mechanizm interakcji pomiędzy auksynami, CK i GA w rozwoju poszczególnych stref wierzchołka wzrostu pędu (SAM). Szczegóły w tekście. Na podstawie [28, 45, 49], zmodyfikowane

**FIGURE 3.** Molecular mechanism of the interaction between auxins, CK and GA in the development of the shoot apical meristem (SAM). Details in the text. According to [28, 45, 49], modified

## MERYSTEM WIERZCHOŁKOWY KORZENIA (RAM)

U *A. thaliana* pierwotny merystem korzeniowy RAM składa się z dwóch warstw komórek otaczających strefę spoczynkową QC. Zarówno QC, jak i komórki inicjalne czapeczki wywodzą się z hypofizy. Górna warstwa proksymalnych komórek inicjalnych, która daje początek wszystkim tkankom korzenia, jest pochodzenia apikalnego. We wzorze poprzecznej organizacji korzenia można wyróżnić epidermę, korę pierwotną, endodermę, perycykl oraz tkanki przewodzące. Pierwsza płaszczyzna podziałowa, wyróżniająca domeny w zarodku przecina merystem korzeniowy na część apikalną i hypofizalną. Na podstawie tego podziału można wyróżnić mutanty hypofizalne, u których zaburzony jest rozwój merystemu korzeniowego. Jednym z nich jest mutant *hbt* (ang. *Hobbit*), u którego pierwsze zmiany są widoczne już podczas wczesnych etapów embriogenezy i dotyczą nieprawidłowych podziałów hypofizy, co prowadzi do pozbawienia siewki funkcjonalnego RAM oraz czapeczki. Wszystkie pozostałe elementy siewki rozwijają się normalnie, w tym proksymalne komórki inicjalne merystemu korzeniowego pochodzenia apikalnego. U innych mutantów z zaburzonym rozwojem korzenia, np. *rml* (ang. *Root Meristemless*) czy *stp* (ang. *Stump*) merystem korzeniowy rozwija się w zarodku normalnie i dopiero w siewce zostaje zahamowany jego wzrost. Istnieją zatem różne poziomy regulacji aktywności merystemu korzeniowego w rozwoju embrionalnym i postembrionalnym [18].

Postembionalny RAM obejmuje trzy strefy – merystematyczną, przejściową i elongacyjną (merystematyczna strefa różnicowania) [8]. W centrum strefy merystematycznej występuje QC, w którym zlokalizowane są komórki macierzyste korzenia. Pomimo, że komórki te wolno się dzielą, każda z nich przechodzi podział asymetryczny dając początek przyległym komórkom, które również stanowią populację komórek macierzystych. Wytwarzają one w konsekwencji szybko dzielące się komórki potomne, które różnicując się dają początek wszystkim typom tkanek. Zachowanie równowagi pomiędzy proliferacją komórek, a ich dyferencjacją jest więc kluczowe dla utrzymania prawidłowego wzorca rozwoju i funkcjonowania RAM. Podobnie jak ekspresja genu *WUS* w SAM, wzmożona aktywność *WOX5* (ang. *Wuschel-related homeobox 5*) w obrębie QC jest niezbędna do utrzymania odpowiedniej ilości komórek macierzystych [2]. Rozwój RAM kontrolowany jest głównie w wyniku specyficznych oddziaływań auksyn z CK (ryc. 4). Hormony te, regulując w antagonistyczny sposób swój metabolizm oraz szlaki przekazywania sygnału, kontrolują ilość podziałów komórek i stopień ich różnicowania w poszczególnych strefach RAM. Czynnikiem integrującym funkcjonowanie obu fitohormonów są białka *SHY2/IAA3* (ang. *Short Hypocotyl 2*) należące do rodziny *AUX/IAA* [9, 42]. Ilość transkryptów genu *SHY2* w tkance naczyniowej merystemu korzenia w obrębie strefy przejściowej ulega gwałtownemu podwyższeniu po aplikacji CK.



**RYCINA 4.** Współdziałanie fitohormonów w rozwoju RAM. Szczegóły w tekście. Na podstawie [2, 10, 13, 14, 45], zmodyfikowane

**FIGURE 4.** Phytohormone interactions in the development of the root apical meristem (RAM). Details in the text. According to [2, 10, 13, 14, 45], modified

Molekularny mechanizm tego procesu polega na bezpośrednim wiązaniu białek ARR typu B (ARR1, ARR12), będących pozytywnymi elementami szlaku sygnałowego CK, do sekwencji promotorowej genu *SHY2*. Wyniki badań prowadzonych na mutantach *arr1* i *arr12* z dodatkową aplikacją fitohormonu, wskazują, że jest to jedyny możliwy sposób wyżej opisanych oddziaływań. Z kolei rośliny transgeniczne z wyłączonym genem *SHY2* lub jego nadekspresją wykazują odpowiednio powiększony lub pomniejszony RAM, co wskazuje, że CK ograżają istotną rolę w kontroli jego wielkości [9]. W konsekwencji podwyższonego stężenia CK, w obrębie strefy przejściowej i elongacyjnej dochodzi także do zahamowania aktywności genów *PIN1*, *PIN3* i *PIN7* przez czynniki SHY2, co prowadzi do redystrybucji auksyn i dyferencjacji komórek w tym obszarze [33]. Przeciwnie auksyny zaangażowane są w degradację białek SHY2, która skutkuje wznowieniem ekspresji genów *PIN1/3/7* i modulacją dystrybucji cząsteczek fitohormonu. Dodatkowo białka

SHY2 hamują zwrotnie biosyntezę CK w szlaku zależnym od auksyn, co zamyka pętlę ich wzajemnych oddziaływań [9, 45]. Białka PIN uczestniczące w transporcie auksyn w tkance naczyniowej przyczyniają się do ich wysokiej akumulacji w QC [39]. Za specyfikację komórek w obrębie merystemu proksymalnego odpowiadają czynniki transkrypcyjne SCR/SHR (ang. *Scarecrow / Short Root*) i PLT (ang. *Plethora*) [14]. Wysoki stopień koncentracji auksyn wpływa pozytywnie na ekspresję genu *PLT*, która ma miejsce w komórkach otaczających QC. Głównym zadaniem białek PLT jest utrzymywanie statusu strefy spoczynkowej i właściwej aktywności komórek macierzystych w tym obszarze. Dodatkowo, obecność białek PLT potrzebna jest do zwiększenia ilości transkryptów genów *PIN*, co warunkuje prawidłowy kierunek transportu auksyn.

Pomimo braku wpływu CK na komórki macierzyste w wegetatywnym wierzchołku wzrostu korzenia, fitohormony te odgrywają kluczową rolę w tym procesie na etapie wczesnej embriogenezy. Wykazują one aktywność w obszarze hypofizy w stadium globularnym zarodka, a później w komórkach prekursorowych QC. Mimo że do chwili obecnej nie poznano mechanizmu wpływu CK na specyfikację komórek macierzystych, udowodniono, że po podziale hypofizy musi nastąpić znaczna redukcja ilości CK w komórce bazalnej. Jest to konieczne do prawidłowej organizacji korzenia zarodkowego i uruchomienia ekspresji genów *SCR*, *PLT1* i *WOX5* odpowiedzialnych za inicjację i utrzymanie komórek macierzystych. Zmniejszenie stężenia CK następuje wskutek bezpośredniej aktywacji przez auksyny genów *ARR7* i *ARR15* będących negatywnymi elementami sygnalizacji CK. Komórki stają się najprawdopodobniej niewrażliwe na CK po ustaleniu tożsamości RAM [34]. Warto również znaleźć odpowiedź na pytanie czy odmienny wpływ auksyn i CK na różnych etapach rozwoju korzenia jest spowodowany specyfikacją RAM *de novo* w późniejszym okresie rozwoju wegetatywnego czy też jest charakterystyczny dla rozwoju embrionalnego tego organu.

W procesie rozwoju RAM uczestniczą również GA, ET i BR. Poszczególne elementy sygnalizacji GA stymulują wydłużanie komórek poprzez destabilizację represorów wzrostu – białek DELLA. W proteasomalną degradację tych białek zaangażowane są także auksyny. GA kontrolują głównie rozmiar RAM poprzez wpływ na podziały komórkowe, jednak nie wywierają wpływu na aktywność komórek macierzystych. Co ciekawe, wysokie stężenie GA w endodermie jest wystarczające do regulacji proliferacji komórek w całym merystemie [22]. Białkiem pozytywnie wpływającym na biosyntezę i szlak transdukcji GA jest SCR. Wydaje się, że może ono również integrować inne szlaki hormonalne, co wymaga jednak dodatkowych badań. ET reguluje rozwój RAM często we współpracy z auksynami, które pozytywnie wpływają na poszczególne elementy szlaku jego biosyntezy. ET zwrotnie stymuluje również biosyntezę i dystrybucję auksyn [13]. Chociaż



zwiększenie poziomu ET hamuje elongację komórek opuszczających merystem pozostając bez wpływu na ich podziały, wyniki szczegółowych badań donoszą, że cząsteczki fitohormonu mogą stymulować proliferację komórek macierzystych. Bez udziału auksyn, ET indukuje podziały komórek znajdujących się w QC, jednak nie wywiera wpływu na ich końcowe przeznaczenie [38]. Szlak auksynowy pozytywnie wpływa również na biosyntezę BR, jednak aktywne cząsteczki BR nie wpływają na ekspresję genów *PIN*. Dodatkowo mutanty BR nie wykazują takiego samego fenotypu wierzchołka wzrostu korzenia, jak mutanty auksynowe, stąd BR prawdopodobnie działają niezależnie od auksyn [10].

## PODSUMOWANIE

Hormony roślinne koordynują wiele zróżnicowanych procesów fizjologicznych, począwszy od rozwoju zarodka, a na starzeniu dojrzałej rośliny skończywszy. Celem niniejszej pracy było podkreślenie ich istotnej roli w początkowych fazach ontogenezy, czyli embriogenezie i kiełkowaniu nasion. W dalszych etapach rozwoju rośliny, wszystkie organy wegetatywne formują się postembrionalnie i pochodzą od dwóch populacji intensywnie proliferujących komórek, stąd omówienie interakcji fitohormonalnych determinujących prawidłowy rozwój merystemów wierzchołkowych pędu i korzenia wydaje się całkowicie zasadne. Na ogół każdy z fitohormonów wpływa na więcej niż jeden typ procesu rozwojowego, natomiast obserwowany efekt biologiczny stanowi najczęściej wypadkową współdziałania różnych substancji wzrostowych. W chwili obecnej wiemy, że u podstaw hormonalnej kontroli procesów fizjologicznych leżą różne mechanizmy charakterystyczne dla poszczególnych grup fitohormonów (proteasomalna degradacja białek represorowych z udziałem ligaz ubikwitynowych czy zaangażowanie w szlaki przekazywania sygnałów kinaz białkowych). W najbliższym czasie uwaga wielu badaczy będzie się jednak koncentrować wokół interakcji fitohormonalnych, ponieważ dopiero rozległa i skomplikowana sieć ich wzajemnych powiązań umożliwi roślinie prawidłowy wzrost i rozwój. Przedstawione w pracy mechanizmy są zapewne dalekie od pełnego zrozumienia, jednak ich ważność nie podlega żadnym wątpliwościom.

## PODZIĘKOWANIA

Praca została sfinansowana z grantu MRiRW nr 149/2011 oraz grantu UMK nr 1530-B

## LITERATURA

- [1] ACHARD P, CHENG H, DE GRAUWE L, DECAT J, SCHOUTTETEN H, MORITZ T, VAN DER STRAETEN D, PENG J, HARBERD NP. Integration of plant responses to environmentally activated phytohormonal signals. *Science* 2006; **311**: 91-93.
- [2] BENKOVA E, HEJATKO J. Hormone interactions at the root apical meristem. *Plant Mol Biol* 2009; **69**: 383-396.
- [3] CALVO AP, NICOLAS C, LORENZO O, NICOLAS G, RODRIGUEZ D. Evidence for positive regulation by gibberellins and ethylene of ACC oxidase expression and activity during transition from dormancy to germination in *Fagus sylvatica* L. seeds. *J Plant Growth Regul* 2004b; **23**: 44-53.
- [4] CALVO AP, NICOLAS C, NICOLAS G, RODRIGUEZ D. Evidence of a cross-talk regulation of a GA 20-oxidase (*FsGA20ox1*) by gibberellins and ethylene during the breaking of dormancy in *Fagus sylvatica* seeds. *Physiol Plant* 2004a; **120**: 623-630.
- [5] CHEN H, BANERJEE AK, HANNAPEL DJ. The tandem complex of BEL and KNOX partners is required for transcriptional repression of GA20ox1. *Plant J* 2004; **38**: 276-284.
- [6] CURABA J, MORITZ T, BLERVAQUE R, PARCY F, RAZ V, HERZOG M, VACHON G. *AtGA3ox2*, a key gene responsible for bioactive gibberellin biosynthesis, is regulated during embryogenesis by Leafy Cotyledon 2 and Fusca 3 in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2004; **136**: 3660-3669.
- [7] DAVIES PJ. Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action! Dordrecht Kluwer Academic Publishers 2004, the Netherlands, 63-94.
- [8] DELLO IOIO R, LINHARES FS, SCACCHI E, CASAMITJANA-MARTINEZ E, HEIDSTRA R, COSTANTINO P, SABATINI S. Cytokinins determine *Arabidopsis* root meristem size by controlling cell differentiation. *Curr Biol* 2007; **17**: 678-682.
- [9] DELLO IOIO R, NAKAMURA K, MOUBAYIDIN L, PERILLI S, TANIGUCHI M, MORITA MT, AOYAMA T, COSTANTINO P, SABATINI S. A genetic framework for the control of cell division and differentiation in the root meristem. *Science* 2008; **322**: 1380-1384.
- [10] DURBAK A, YAO H, MCSTEEN P. Hormone signaling in plant development. *Curr Opin Plant Biol* 2012; **15**: 92-96.
- [11] FRANKOWSKI K, KĘSY J, KOTARBA W, KOPCEWICZ J. Szlaki przekazywania sygnałów indukowane przez etylen. *Post Biochem* 2008; **54**: 99-106.
- [12] FRIML J, VIETEN A, SAUER M, WEIJERS D, SCHWARZ H, HAMANN T, OFFRINGA R, JURGENS G. Efflux-dependent auxin gradients establish the apical-basal axis of *Arabidopsis*. *Nature* 2003; **426**: 147-153.
- [13] GALINHA C, BILSBOROUGH G, TSIANTIS M. Hormonal input in plant meristems: a balancing act. *Sem Cell Dev Biol* 2009; **20**: 1149-1156.
- [14] GALINHA C, HOFHUIS H, LUIJTEN M, WILLEMSSEN V, BLILOU I, HEIDSTRA R, SCHERES B. PLETHORA proteins as dose-dependent master regulators of *Arabidopsis* root development. *Nature* 2007; **449**: 1053-1057.
- [15] GAZZARRINI S, TSUCHIYA Y, LUMBA S, OKAMOTO M, MCCOURT P. The transcription factor FUSCA 3 controls developmental timing in *Arabidopsis* through the hormones gibberellins and abscisic acid. *Dev Cell* 2004; **7**: 373-385.
- [16] GOMEZ-CADENAS A, ZENTALLA R, WALKER-SIMMONS M, HO THD. Gibberellin / Abscisic acid antagonism in barley aleurone cells: site of action of the protein kinase PKABA1 in relation to gibberellin signaling molecules. *Plant Cell* 2001; **13**: 667-679.
- [17] GORDON SP, CHICKARMANE VS, OHNO C, MEYEROWITZ EM. Multiple feedback loops through cytokinin signaling control stem cell number within the *Arabidopsis* shoot meristem. *PNAS USA* 2009; **106**: 16529-16534.
- [18] GRABOWSKA A, FILIPECKI M, LINKIEWICZ A. Genetyczna regulacja embriogenezy u roślin. *Post Biol Kom* 2001; **28**: 509-527.
- [19] GRUSZKA D, MAŁUSZYŃSKI M. Brasinosteroidy – struktura chemiczna, genetyczne podstawy biosyntezy i transdukcji sygnału oraz funkcje fizjologiczne. *Post Biol Kom* 2010; **37**: 381-407.

- [20] HAY A, KAUR H, PHILLIPS AS, HEDDEN P, HAKE S, TSIANTIS M. The gibberellin pathway mediates knot1-type homeobox function in plants with different body plans. *Curr Biol* 2002; **12**: 1557-1565.
- [21] HOFFMANN M, HENTRICH M, POLLMANN S. Auxin-oxylinin crosstalk: relationship of antagonists. *J Int Plant Biol* 2011; **53**: 429-445.
- [22] JAILLAIS Y, CHORY J. Unraveling the paradoxes of plant hormone signaling integration. *Nat Struct Mol Biol* 2010; **17**: 642-645.
- [23] JASINSKI S, PIAZZA P, CRAFT J, HAY A, WOOLLEY L, RIEU I, PHILLIPS A, HEDDEN P, TSIANTIS M. KNOX action in *Arabidopsis* is mediated by coordinate regulation of cytokinin and gibberellin activities. *Curr Biol* 2005; **15**: 1560-1565.
- [24] JENIK PD, GILLMOR CS, LUKOWITZ W. Embryonic patterning in *Arabidopsis thaliana*. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2007; **23**: 207-236.
- [25] KRASUSKA U, BUDNICKA K, BOGATEK R, GNIAZDOWSKA A. Poliaminy w regulacji spoczynku i kiełkowania nasion. *Post Biol Kom* 2012; **39**: 395-414.
- [26] KUPPUSAMY KT, WALCHER CL, NEMHAUSER JL. Cross-regulatory mechanisms in hormone signaling. *Plant Mol Biol* 2009; **69**: 375-381.
- [27] LEIBFRIED A, TO JPC, BUSCH W, STEHLING S, KEHLE A, DEMAR M, KIEBER JJ, LOHMANN JU. Wuschel controls meristem function by direct regulation of cytokinin-inducible response regulators. *Nature* 2005; **438**: 1172-1175.
- [28] MARCINIAK K, GRZEGORZEWSKA W, KĘSY J, SZMIDI-JAWORSKA A, TRETYN A, KOPCEWICZ J. Regulacja metabolizmu giberelin u roślin. *Kosmos* 2012a; **61**: 213-232.
- [29] MARCINIAK K, ŚWIEŻAWSKA B, KĘSY J, TRETYN A, KOPCEWICZ J. Gibereliny – percepcja i transdukcja sygnału u roślin. *Post Biol Kom* 2012b; **39**: 25-48.
- [30] MARCINIAK K, TUROWSKI T, WILMOWICZ E, FRANKOWSKI K, KĘSY J, KOPCEWICZ J. Ligazy ubikwitynowo-białkowe w szlakach sygnałowych auksyn, jasmonianów i giberelin. *Post Biol Kom* 2010; **37**: 409-432.
- [31] MARZEC M, MUSZYŃSKA A. Strigolaktony – nowi kandydaci na hormony roślinne. *Post Biol Kom* 2012; **39**: 63-86.
- [32] MOLLER B, WEIJERS D. Auxin control of embryo patterning. *Cold Spring Harbor Perspect Biol* 2009; **1**: a001545.
- [33] MOUBAYIDIN L, DI MAMBRO R, SABATINI S. Cytokinin–auxin crosstalk. *Trends Plant Sci* 2009; **14**: 557-562.
- [34] MULLER B, SHEEN J. Cytokinin and auxin interaction in root stem-cell specification during early embryogenesis. *Nature* 2008; **453**: 1094-1097.
- [35] NEMHAUSER JL, HONG F, CHORY J. Different plant hormones regulate similar processes through largely nonoverlapping transcriptional responses. *Cell* 2006; **126**: 467-475.
- [36] OH E, YAMAGUCHI S, HU J, YUSUKE J, JUNG B, PAIK I, LEE HS, SUN TP, KAMIYA Y, CHOI G. PIL5, a phytochrome-interacting bHLH protein, regulates gibberellins responsiveness by binding directly to the GAI and RGA promoters in *Arabidopsis* seeds. *Plant Cell* 2007; **19**: 1192-1208.
- [37] OH E, YAMAGUCHI S, KAMIYA Y, BAE G, CHUNG WI, CHOI G. Light activates the degradation of PIL5 protein to promote seed germination through gibberellins in *Arabidopsis*. *Plant J* 2006; **47**: 124-139.
- [38] ORTEGA-MARTINEZ O, PERNAS M, CAROL RJ, DOLAN L. Ethylene modulates stem cell division in the *Arabidopsis thaliana* root. *Science* 2007; **317**: 507-510.
- [39] PETERSSON SV, JOHANSSON AI, KOWALCZYK M, MAKOVEYCHUK A, WANG JY, MORITZ T, GREBE M, BENEFY PN, SANDBERG G, LJUNG K. An auxin gradient and maximum in the *Arabidopsis* root apex shown by high-resolution cell-specific analysis of IAA distribution and synthesis. *Plant Cell* 2009; **21**: 1659-1668.
- [40] PIOTROWSKA A, CZERPAK R. Molekularne mechanizmy działania cytokinin. *Post Biol Kom* 2004; **31**: 93-115.
- [41] REYES JL, CHUA NH. ABA induction of miR159 controls transcript levels of two MYB factors during *Arabidopsis* seed germination. *Plant J* 2007; **49**: 592-606.

- [42] RUZICKA K, SIMASKOVA M, DUCLERCQ J, PETRASEK J, ZAZIMALOVA E, SIMON S, FRIML J, VAN MONTAGU MC, BENKOVA E. Cytokinin regulates root meristem activity via modulation of the polar auxin transport. *PNAS USA*; 2009; **106**: 4284-4289.
- [43] SAKAMOTO T, KAMIYA N, UEGUCHI-TANAKA M, IWAHORI S, MATSUOKA M. KNOX homeodomain protein directly suppresses the expression of a gibberellin biosynthetic gene in the tobacco shoot apical meristem. *Genes Dev* 2001; **15**: 581-590.
- [44] SANTNER A, CALDERON-VILLALOBOS LIA, ESTELLE M. Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth. *Nat Chem Biol* 2009; **5**: 301-307.
- [45] SU YH, LIU YB, ZHANG XS. Auxin–cytokinin interaction regulates meristem development. *Mol Plant* 2011; **4**: 616-625.
- [46] WANG Y, LI L, YE T, ZHAO S, LIU Z, FENG Y-Q, WU Y. Cytokinin antagonizes ABA suppression to seed germination of *Arabidopsis* by downregulating *ABI5* expression. *Plant J* 2011; **68**: 249-261.
- [47] WASĄG P, KOWALCZYK S. Stresujące pomyłki i spektakularne sukcesy w poszukiwaniach receptorów ABA – roślinnego hormonu stresu. *Post Biol Kom* 2010; **37**: 713-720.
- [48] WEIJERS D, SCHLERETH A, EHRISMANN JS, SCHWANK G, KIENZ M, JURGENS G. Auxin triggers transient local signaling for cell specification in *Arabidopsis* embryogenesis. *Dev Cell* 2006; **10**: 265-270.
- [49] WEISS D, ORI N. Mechanisms of cross talk between gibberellin and other hormones. *Plant Physiol* 2007; **144**: 1240-1246.
- [50] WERNER T, SCHMULING T. Cytokinin action in plant development. *Curr Opin Plant Biol* 2009; **12**: 527-538.
- [51] WHITE CN, PROEBSTING WM, HEDDEN P, RIVIN CJ. Gibberellins and seed development in maize. I. Evidence that gibberellin / abscisic acid balance governs germination versus maturation pathways. *Plant Physiol* 2000; **122**: 1081-1088.
- [52] WOLTERS H, JURGENS G. Survival of the flexible: hormonal growth control and adaptation in plant development. *Nat Rev Genet* 2009; **10**: 305-317.
- [53] XIE Z, ZHANG ZL, ZOU XL, YANG GX, KOMATSU S, SHEN QXJ. Interactions of two abscisic-acid induced WRKY genes in repressing gibberellin signaling in aleurone cells. *Plant J* 2006 **46**: 231-242.
- [54] YANAI O, SHANI E, DOLEZAL K, TARKOWSKI P, SABLowski R, SANDBERG G, SAMACH A, ORI N. *Arabidopsis* KNOXI proteins activate cytokinin biosynthesis. *Curr Biol* 2005; **15**: 1566-1571.
- [55] ZENTELLA R, YAMAUCHI D, HO THD. Molecular dissection of the gibberellin/abscisic acid signaling pathways by transiently expressed RNA interference in barley aleurone cells. *Plant Cell* 2002; **14**: 2289-2301.
- [56] ZHAO YD. The role of local biosynthesis of auxin and cytokinin in plant development. *Curr Opin Plant Biol* 2008; **11**: 16-22.
- [57] ZHAO Z, ANDERSEN SU, LJUNG K, DOLEZAL K, MIOTK A, SCHULTHEISS SJ, LOHMANN JU. Hormonal control of the shoot stem-cell niche. *Nature* 2010; **465**: 1089-1092.

*Redaktor prowadzący – Andrzej Kononowicz*

*Otrzymano: 07.01.2014*

*Przyjęto: 20.02.2014*

*Katarzyna Marciniak*

*Katedra Fizjologii Roślin i Biotechnologii*

*Uniwersytet Mikołaja Kopernika*

*ul. Rakowicza 7B/62, 87-100 Toruń*

*e-mail: kasia\_swiniarska@o2.pl*