

## WSPÓLDZIAŁANIE FITOHORMONÓW W REGULACJI WZROSTU I ROZWOJU ŁODYGI, LIŚCI I KORZENIA

PHYTOHORMONE INTERACTIONS IN THE CONTROL OF THE STEM,  
LEAF AND ROOT GROWTH AND DEVELOPMENT

Katarzyna MARCINIAK, Paulina GLAZIŃSKA, Jacek KEŚY, Andrzej TRETYN

Katedra Fizjologii Roślin i Biotechnologii,  
Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Toruń

*Streszczenie:* Proces morfogenezy roślin zależy w znacznej mierze od zrównoważonych interakcji hormonalnych. Oddziaływania poszczególnych grup fitohormonów zachodzące na poziomie regulacji szlaków metabolizmu, przekazywania sygnałów oraz transportu, mogą mieć charakter synergistyczny lub antagonistyczny. Wyniki wieloletnich badań wskazują, że wzrost i rozwój łodygi jest wypadkową współdziałania głównie auksyn, giberelin (GA), cytokinin (CK) oraz etylenu (ET). Integratorem ścieżek sygnałowych GA i CK są białka SPY. Oba fitohormony regulują też wzajemnie swoje szlaki biosyntezy i inaktywacji ustalając tym samym odpowiedni stan równowagi. W przypadku interakcji auksyny-GA, szlak auksynowy podnosząc aktywność transkrypcyjną genów *GA20ox* i *GA3ox* zwiększa ilość aktywnych GA, natomiast destabilizując białka DELLA wzmacnia odpowiedź giberelinową. Zależnie od fazy rozwojowej rośliny, organu, gatunku, stężenia oraz warunków środowiskowych zarówno zwiększenie, jak i zmniejszenie ilości auksyn i GA regulowane jest dodatkowo przez ET. Przykładem współdziałania wymienionych fitohormonów w regulacji procesów fizjologicznych jest powstawanie haczykowatego zagięcia wierzchołka wzrostu pędu. W kształtowanie tej struktury zaangażowana jest również N-acetylotransferaza HLS1. Z kolei zjawisko dominacji wierzchołkowej kontrolowane jest przez antagonistycznie funkcjonujące auksyny i CK. Transportowane bazytelalne auksyny hamują wzrost pąków pachwinowych głównie dzięki negatywnej regulacji aktywności transkrypcyjnej genu *IPT*, uczestniczącego w biosyntezie CK, a pozytywnym wpływie na ekspresję genu *CKX* zaangażowanego w inaktywację fitohormonu. W procesie rozkrzewiania pędu istotną rolę odgrywają także strigolaktyny (SL), ale pełne poznanie mechanizmów ich działania wymaga dodatkowych badań. W celu inicjacji rozwoju zawiązków liściowych niezbędny jest wysoki poziom auksyn, który zwiększa jednocześnie zawartość czynnika transkrypcyjnego FUS3 mającego przeciwny wpływ na GA i ABA. Auksyny pełnią również podstawową funkcję w prawidłowym kształtowaniu korzenia. Umiarkowane ich stężenie pozwala utrzymać właściwą pulę komórek macierzystych w RAM, natomiast wysoki poziom w strefie przejściowej, elongacyjnej czy różnicowania prowadzi do gwałtownego zahamowania wzrostu korze-

nia. Fitohormonem, który wpływa na ten proces synergistycznie z auksynami jest ET. Wzrost korzenia młodych siewek promowany jest z kolei przez GA. Niemniej jednak w określonych warunkach, GA aktywują też biosyntezę ET, co przeciwdziała nadmiernej elongacji korzenia. W przypadku auksyn i CK, wzajemne oddziaływania polegają głównie na przeciwstawnej regulacji zawartości białek SHY2/IAA3. Rozwój korzeni bocznych zostaje zapoczątkowany w perycyklu strefy różnicowania korzenia macierzystego na skutek rosnącego stężenia auksyn w komórkach założycielskich. CK, zarówno w procesie inicjacji, jak i dalszym rozwoju zawiązków korzeni bocznych, działają antagonistycznie do auksyn. BR i GA stymulują formowanie korzeni bocznych, natomiast wpływ ABA i ET jest zróżnicowany. Szlaki sygnałowe poszczególnych fitohormonów zostały już opisane w polskiej literaturze [17, 22, 33, 34, 43, 60], natomiast głównym celem niniejszej pracy jest przedstawienie ich wzajemnych oddziaływań w kontroli wzrostu i rozwoju łodygi, liści i korzenia.

*Słowa kluczowe:* współdziałanie fitohormonów, łodyga, liście, korzeń

*Summary:* Plant morphogenesis depends to a large extent on balanced hormonal interactions. The impacts of particular phytohormones, which occur at the level of metabolic pathways, signalling and transport, may be either synergistic or antagonistic. The results of many years of research indicate that stem growth and development are the result of cooperation between auxins, gibberellins (GA), cytokinins (CK) and ethylene (ET). The integrator of GA and CK signalling pathways are SPY proteins. Both phytohormones also regulate each other's biosynthesis and inactivation pathways thus setting an appropriate balance. In the case of auxin-GA interactions, the auxin pathway, by increasing the transcriptional activity of *GA20ox* and *GA3ox* genes, increases the number of active GA, while destabilizing DELLA proteins it enhances the gibberellin response. Depending on the plant development phase, organ, species, concentration and environmental conditions, the increase or reduction in the amount of auxins and GA is additionally regulated by the ET. An example of the cooperation of these phytohormones in the regulation of physiological processes is apical hook formation. In the development of this structure HLS1 N-acetyltransferase is also involved. In turn, apical dominance is controlled by the antagonistically functioning auxins and CK. Basipetally transported auxins inhibit bud growth, mainly due to the negative regulation of the transcription activity of the *IPT* gene, which is involved in CK biosynthesis, and to the positive effect on the expression of the *CKX* gene, which is involved in the inactivation of the phytohormone. In apical dominance, an important role is also played by strigolaktone (SL), but to fully understand the mechanisms of their functioning requires additional research. In order to initiate the development of leaf primordia, a high level of auxins is required. This also increases the content of the FUS3 transcription factor, which has the opposite effect on GA and ABA. Auxins are also crucial to the proper development of root. Moderate concentrations of IAA help maintain a proper pool of stem cells in the RAM, while a high level in the transition, elongation or differentiation zone leads to a rapid inhibition of root growth. The phytohormone which affects this process synergistically with auxins is ET. Root growth of young seedlings is promoted by GA. Nevertheless, under certain conditions, GA also activate ET biosynthesis, which prevents the excessive elongation of the root. In the case of auxins and CK, interactions consist mainly of the opposite regulation of SHY2/IAA3 protein content. Lateral root development is initiated in the primary root differentiation zone by increasing auxin concentration in founder cells. In both the initiation and the further development of lateral root primordia, CK act antagonistically to auxins. BR and GA stimulate the formation of lateral roots, whereas the effect of ABA and ET is varied. Phytohormone signalling pathways have been described in Polish literature [17, 22, 33, 34, 43, 60], while the main objective of this paper is to present the interactions in the control of stem, leaf and root growth and development.

*Key words:* phytohormone interactions, stem, leaves, root

## WSTĘP

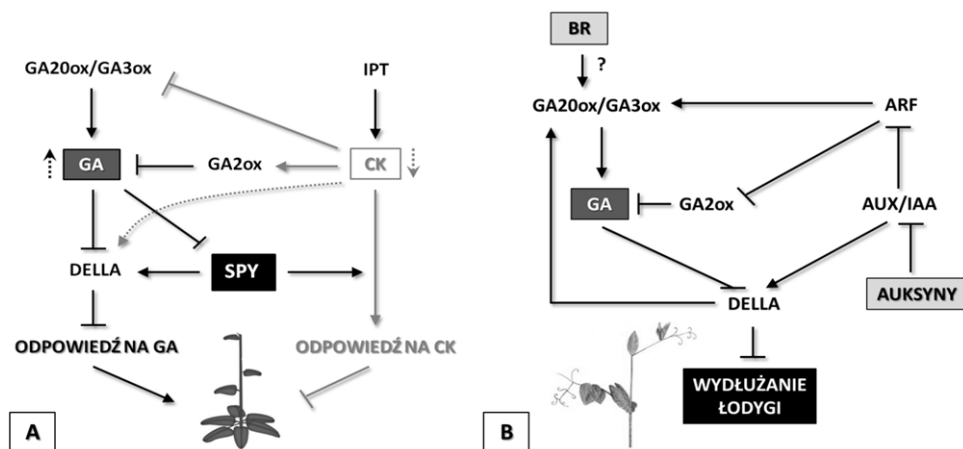
Wzrost i rozwój rośliny prowadzi do powstania organizmu o skomplikowanej budowie, złożonego z organów doskonale przystosowanych do pełnionych funkcji i życia w środowisku, w jakim się znajdują. W czasie ontogenezy wszystkie procesy fizjologiczne są ściśle kontrolowane i skoordynowane, co jest efektem współdziałania genomu z czynnikami wewnętrznymi i pochodzącymi ze środowiska zewnętrznego. Podstawowymi regulatorami endogennymi są hormony roślinne, wśród których wyróżniamy 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). Głównym celem niniejszej pracy jest przedstawienie wzajemnych interakcji pomiędzy poszczególnymi fitohormonami, a także pomiędzy hormonami i innymi regulatorami wzrostu i rozwoju, np. strigolaktonami (ang. *Strigolactones*, SL) w tworzeniu struktur wegetatywnych, takich jak łodyga, liście i korzeń. Prawidłowy pokrój nadziemnej części rośliny jest niezwykle istotny, wpływa bowiem na wydajność procesów fotosyntezy i transpiracji, a w późniejszym czasie na ilość wytworzonych kwiatów i owoców. Odpowiednia architektura korzenia umożliwia natomiast sprawne pobieranie wody i soli mineralnych z gleby. Pozwala to roślinie przetrwać w często niesprzyjających warunkach otoczenia.

## WZROST I ROZWÓJ ŁODYGI

Merystatyczny rejon wzrostu komórek na długość stopniowo przechodzi w strefę różnicowania, w której wykształcają się wszystkie tkanki stałe pierwotnej budowy łodygi. Podczas gdy do prawidłowego funkcjonowania wierzchołka wzrostu pędu SAM (ang. *Shoot Apical Meristem*) niezbędne jest wysokie stężenie CK, a niskie GA, rozwój pozostałych komórek i tkanek łodygi zależy przeważnie od warunków przeciwnych, czyli niższego stężenia CK, a wyższego GA. U modelowej rośliny *Arabidopsis thaliana* (rzodkiewnik pospolity) integratorem ścieżek sygnałowych obu fitohormonów są czynniki SPY (ang. *Spindly*) (ryc. 1A). Pod względem budowy wykazują one podobieństwo do ssaczych białek OGT (ang. *O-linked N-acetylglucosamine Transferases*), w związku z czym ich funkcja polega na dodawaniu do reszt serynowych lub treoninowych N-acetyloglukozaminy (O-GlcNAc). Białka SPY modyfikując represory sygnalizacji giberelinowej DELLA wpływają pozytywnie na ich stabilność, co w konsekwencji hamuje odpowiedź hormonalną [52]. W przypadku szlaku CK białka docelowe dla SPY nie zostały poznane, ale wydaje się, że mogą to być czynniki transkrypcyjne ARR typu A (ang. *Arabidopsis Response Regulator type A*; ARR-A), będące negatywnymi

regulatorami odpowiedzi cytokininowej [21]. W celu zachowania prawidłowego pokroju łodygi, elementy sygnalizacji GA oddziałują zwrotnie za pośrednictwem nieznanego czynnika z białkiem SPY zmniejszając jego zawartość [52]. Prowadzi to pośrednio do zwiększenia poziomu represorów ARR-A, co uniemożliwia reakcje komórek na CK [61]. Z modelu zaproponowanego przez Brenner'a i wsp. wynika, że CK mogą także hamować ekspresję genów związanych z biosyntezą GA – *GA3ox*, *GA20ox* (ang. *Gibberellin 3/20-oxidase*) oraz stabilizować białka DELLA [8]. Zmniejszenie ilości GA przez CK odbywa się dodatkowo przez pozytywny wpływ na geny *GA2ox* (ang. *Gibberellin 2-oxidase*), których białkowe produkty katabolizują GA [26].

Innym przykładem hormonalnej regulacji procesu wydłużania łodygi u wielu gatunków roślin okrytonasiennych jest współdziałanie auksyn z GA (ryc. 1B). U grochu (*Pisum sativum*) główna naturalna auksyna IAA (ang. *Indole-3-Acetic Acid*) niezbędna jest do utrzymania odpowiedniego stężenia gibereliny A<sub>1</sub> (GA<sub>1</sub>) w wydłużających się międzywęzłach. Usunięcie wierzchołka wzrostu pędu, głównego miejsca biosyntezy IAA, dramatycznie redukuje ilość GA, natomiast aplikacja IAA na zdekapitowany wierzchołek całkowicie odwraca ten proces [45]. Mechanizm tego zjawiska polega na stymulującym wpływie auksyn na aktywność transkrypcyjną genu *LE/PsGA3ox1* kodującego enzym zaangażowany w biosyntezę GA, oraz

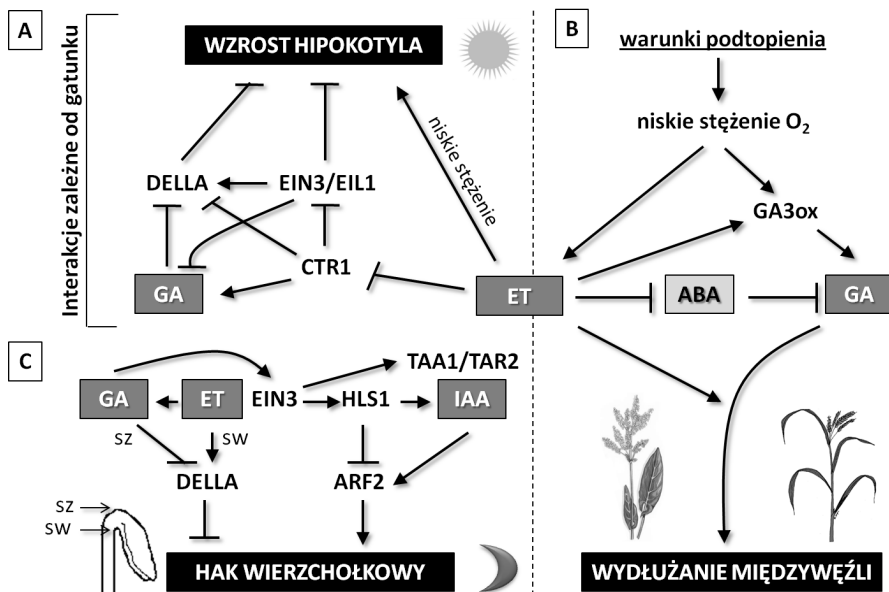


**RYCINA 1.** Współdziałanie fitohormonów we wzroście i rozwoju łodygi u różnych gatunków roślin. **A)** Białka SPY jako integratory szlaków GA i CK w procesie wzrostu i wydłużania łodygi *A. thaliana*; **B)** Model stymulującego wpływu auksyn i GA na wydłużanie łodygi grochu, *A. thaliana* i wielu innych roślin okrytonasiennych. Szczegóły w tekście. Na podstawie [21, 47, 52, 61], zmodyfikowane **FIGURE 1.** Phytohormone interactions in the growth and development of the stem in different plant species. **A)** SPY proteins as GA and CK pathway integrators in the growth and elongation of *A. thaliana* stem; **B)** Model of the positive impact of auxin and GA on stem elongation in pea, *A. thaliana* and many other angiosperms. Details in the text. According to [21, 47, 52, 61], modified

zahamowaniu ekspresji genu *SLN/PsGA2ox1* kodującego enzym inaktywujący fitohormon [40]. Podobne interakcje IAA-GA mają miejsce podczas wzrostu łodygi tytoniu (*Nicotiana tabacum*), jęczmienia (*Hordeum vulgare*) i *A. thaliana*, co sugeruje, że tego typu regulacja jest powszechna w świecie roślin. U większości gatunków auksyny zwiększają również ilość mRNA drugiego kluczowego genu związanego z biosyntezą GA – *GA20ox* [32]. Czynnikiem transkrypcyjnym wykazującym zdolność do bezpośredniego wiązania się do sekwencji promotorowych genów metabolizmu GA jest białko ARF7 (ang. *Auxin Response Factor 7*) [59]. W przypadku wysokiego stężenia auksyn, główne represory szlaku, czyli AUX/IAA (ang. *Auxin/Indole-3-Acetic Acid*) ulegają degradacji w proteasomach 26S uwalniając tym samym białka ARF7, które w takiej postaci mogą spełniać swoje funkcje regulatorowe. U mutantów *A. thaliana* z defektem receptora auksynowego TIR1 (ang. *Transport Inhibitor Response 1*), będącego częścią ligazy ubikwitynowo-białkowej E3 typu SCF kierującej białka AUX/IAA do degradacji i promującej aktywność ARF, nie stwierdzono pozytywnych interakcji IAA-GA [18]. Według modelu zaproponowanego przez Fu i Harberd, auksyny modulują także szlak transdukcji sygnału GA poprzez wpływ na stabilność białek DELLA [19]. Inne wyniki badań prowadzonych na grochu wskazują jednak, że szlak sygnałowy GA jest niezależny od aktywności auksyn [47]. Międzywęzła karłowatego grochu, pozbawionego wierzchołka wzrostu pędu, ulegają bowiem silnemu wydłużeniu po aplikacji GA, a co istotne wzrost ten nie jest bardziej intensywny po dodatkowym podaniu auksyn. Niezgodność ta może wynikać z zastosowania innej metody aplikacji GA. Sytuacja odwrotna, w której GA wpływają na poziom auksyn nie jest oczywista. Co prawda wykazano, że GA podnoszą stężenie auksyn [46], ale jest ono niewystarczające, aby tłumaczyć tym szybki wzrost wydłużeniowy pędu [47].

Interakcje auksyn i GA mają przeważnie charakter pozytywny, natomiast ET może oddziaływać z GA w sposób pozytywny lub negatywny, zarówno na etapie biosyntezy, jak i transdukcji sygnału. Rodzaj oddziaływań zależy od fazy rozwojowej rośliny, organu, gatunku, stężenia fitohormonu oraz warunków środowiskowych. U większości roślin ET hamuje wzrost hipokotyła/łodygi głównie w wyniku podniesienia poziomu białek DELLA – GAI (ang. *GA Insensitive*) i RGA (ang. *Repressor of GA 1-3*), w co zaangażowany jest represor sygnalizacji etylenowej CTR1 (ang. *Constitutive Triple Response 1*) i element pozytywny EIN3/EIL1 (ang. *Ethylene Insensitive 3/EIN3-Like 1*) (ryc. 2A) [2]. Istotnym dowodem potwierdzającym uczestnictwo polipeptydów DELLA w tym procesie jest to, że u podwójnego mutantu *gai rga*, GA stymulują proces wydłużania pędu nawet w obecności bardzo wysokiego stężenia ET [23]. Z kolei u mutantu *ctr1* czy po aplikacji ACC (ang. *1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic acid*), będącego bezpośrednim prekursorem ET, ilość aktywnych GA jest niska, natomiast wysoka u niewrażliwego na ET mutantu *etr1-2* (ang. *Ethylene Response 1-2*). Interesujący jest fakt, że stabilizacja białek DELLA u mutantu *ctr1* zwiększa aktywność transkrypcyjną genów docelowych

dla DELLA, wśród których znajdują się także geny kodujące enzymy biosyntezy GA – *GA20ox* i *GA3ox*. W takiej sytuacji stężenie GA powinno wzrastać, jednak tak jak wcześniej wspomniano u mutantu *ctr1* poziom GA jest nadal niski, ponieważ skutecznie obniża go wysokie stężenie aktywnych polipeptydów EIN3/EIL1 [63]. W niskich dawkach ET może jednak działać stymulująco na wzrost hipokotyla, co prawdopodobnie związane jest z jego pozytywnym wpływem na geny kodujące enzymy biosyntezy auksyn. U *A. thaliana* stwierdzono także synergistyczny wpływ GA i ET we wczesnych fazach wzrostu i rozwoju hipokotyla na świetle, co oznacza, że oba fitohormony wzmacniają swoje pozytywne działanie [14]. Ciekawą sytuację opisano u ryżu (*Oryza sativa*) i szczawiu (*Rumex palustris*) (ryc. 2B).



**RYCINA 2.** Przykłady interakcji fitohormonalnych w procesie wzrostu i wydłużania hipokotyli/łodygi. **A)** Różne typy oddziaływań GA z ET we wzroście hipokotyli na świetle. Oddziaływania te zależą m.in. od gatunku czy stężenia fitohormonów; **B)** Synergistyczne współdziałanie szlaków metabolizmu i przekazywania sygnałów GA z ET w procesie wydłużania łodygi ryżu i szczawiu w warunkach podtopienia; **C)** Proces kształtowania haka wierzchołkowego, w który zaangażowane są auksyny, GA i ET. SZ – strona zewnętrzna, SW – strona wewnętrzna. Szczegóły w tekście. Na podstawie [61, 63], zmodyfikowane

**FIGURE 2.** Examples of phytohormone interactions in hypocotyl/stem growth and elongation. **A)** Different types of GA and ET interactions in the growth of hypocotyls in light. These interactions depend on the species and phytohormone concentration; **B)** Synergistic interaction of ET and GA metabolism and signal transduction pathways in rice and sorrel stem elongation under flooding; **C)** The apical hook formation, in which are involved auxins, GA and ET. SZ – outer side, SW – inner side. Details in the text. According to [61, 63], modified

Podtopienie siewek wywołuje reakcję stresową głównie w wyniku drastycznej redukcji ilości tlenu. Takie warunki zwiększają produkcję ET, który w konsekwencji hamuje syntezę ABA. Zmienia to stan równowagi pomiędzy zawartością aktywnych cząsteczek GA i ABA na korzyść GA, w związku z czym następuje gwałtowne wydłużenie międzywęzła u ryżu [61]. Z kolei u szczawiu rosnącego w warunkach bez-tlenowych stwierdzono indukcję ekspresji genu *GA3ox*, co sugeruje, że ET może wpływać także bezpośrednio na biosyntezę GA [4]. Wszystkie wyżej wymienione przykłady świadczą o niezwykle skomplikowanej sieci wzajemnych oddziaływań pomiędzy GA i ET. Nasuwa się wniosek, że nie można stworzyć jednego uniwersalnego modelu oddziaływań pomiędzy tymi fitohormonami, ponieważ zależą one od różnych czynników wewnętrznych, zewnętrznych oraz gatunku rośliny.

ET wpływa na wzrost wydłużeniowy łodygi także poprzez współdziałanie z auksynami. W doświadczeniu, w którym siewki grochu potraktowano różnymi stężeniami etefonu (prekursor ET), obserwowano 40% redukcję zawartości auksyn, co przekładało się na zahamowanie wzrostu pędu o 44%. Im większa była dawka ET tym obserwowany efekt był silniejszy [47]. Molekularne podstawy tych oddziaływań nie zostały wyjaśnione, można jednak przypuszczać, że wysokie stężenie ET zaburza polarny transport auksyn uniemożliwiając ich poprawne funkcjonowanie u tego gatunku. Z drugiej strony, jak wspomniano już wcześniej, niskie lub umiarkowane stężenie ET u *A. thaliana* wpływa pozytywnie na geny kodujące enzymy biosyntezy auksyn, co przekłada się na stymulację wzrostu łodygi [14].

W prawidłowym rozwoju pędu istotne, ale wciąż mało poznane na poziomie molekularnym, są interakcje GA-ABA. Wiadomo na przykład, że ABA hamuje wydłużanie łodygi grochu niezależnie od białek DELLA [47], natomiast nie jest znany czynnik integrujący funkcjonowanie szlaków obydwu fitohormonów. Wiele niespójnych wyników otrzymano badając oddziaływania pomiędzy GA i BR u różnych gatunków roślin. Rezultaty Bouquin i wsp. wskazują na pozytywny wpływ BR na ekspresję genu *GA20ox* w procesie wydłużania łodygi *A. thaliana* [7]. Z kolei u grochu porównanie zawartości GA u mutantów biosyntezy BR (*lk*, *lkb*), szlaku transdukcji sygnału (*lka*) oraz roślin typu dzikiego WT (ang. *Wild Type*) nie wykazało istotnych różnic [25]. Zespół kierowany przez Ross wyciągnął więc przeciwstawny wniosek, że aktywność genów biosyntezy GA jest nawet hamowana przez BR [47]. Zbadano również sytuację odwrotną, a mianowicie wpływ GA na stężenie BR. Nie zaobserwowano jednak różnic w ilości BR u mutantów szlaku biosyntezy GA w porównaniu do roślin WT, stąd w kontroli procesu wydłużania pędu grochu wymienione fitohormony działają prawdopodobnie w sposób niezależny [47]. Bardziej klarowne wydają się interakcje pomiędzy BR i auksynami, choć równie często różnią się w zależności od gatunku rośliny, a nawet analizowanej tkanki. Szlaki transdukcji sygnałów obu fitohormonów łączą się na poziomie czynników transkrypcyjnych regulujących ekspresję wspólnych genów wywołując

synergistyczny efekt. BR regulują dodatkowo ekspresję niektórych genów związanych z biosyntezą auksyn, m.in. *NIT* (ang. *Nitrilase*), jak również stymulują ekspresję genów *PIN* (ang. *Pin-formed*). Prawidłowa dystrybucja białek PIN wymaga odpowiedniego funkcjonowania enzymu katalizującego syntezę steroli (będących prekursorami BR), co może potwierdzać istotną rolę BR w transporcie auksyn. Współzależność szlaków obu fitohormonów obrazuje również fakt, że mutant *bri A. thaliana*, niewrażliwy na działanie BR, wykazuje znacznie obniżoną wrażliwość na auksyny, co wskazuje, że dla sygnalizacji auksynowej niezbędne jest prawidłowe funkcjonowanie szlaku transdukcji sygnału BR [22].

### HACZYKOWATE ZAGIĘCIE PĘDU

Haczykowane zagięcie pędu zabezpiecza wierzchołek wzrostu przed uszkodzeniem w czasie kielkowania. W jego rozwoju wyróżnia się trzy fazy: formowanie, utrzymanie i otwarcie, w które zaangażowane są auksyny, ET, GA oraz światło (ryc. 2C). Wyniki badań mutantów lub roślin z nadekspresją genów szlaku biosyntezy, transdukcji sygnału oraz transportu auksyn wykazały, że odgrywają one istotną rolę w prawidłowym kształtowaniu tej struktury [36]. U *A. thaliana* w regulacji stężenia ARF2, będącego regulatorem odpowiedzi auksynowych, bierze także udział N-acetylotransferaza HLS1 (ang. *Hookless 1*). ET stymuluje ekspresję genu *HLS1*, przez co wpływa na poziom ARF2. Białko ARF2 odpowiada za asymetryczną dystrybucję auksyn prowadząc do nierównomiernego wydłużania komórek i wytworzenia zagięcia [17]. Dodatkowo wykazano, że białko HLS1 zwiększa prawdopodobnie ilość auksyn wzmacniając ich działanie, podobnie jak ET, który stymuluje geny związane z biosyntezą IAA – *TAA1* (ang. *Tryptophan Aminotransferase of Arabidopsis 1*) i *TAR2* (ang. *Tryptophan Aminotransferase Related 2*) [63]. Homologiczne do *HLS1* geny zidentyfikowano m.in. u grochu i pomidora. Ich ekspresja jest także aktywowana przez ET [17]. Ważną rolę w tworzeniu haka wierzchołkowego odgrywają ponadto interakcje GA-ET. Dowiedziono, że struktura ta nie powstaje u mutantów giberelinowych *gal-3* traktowanych ET, natomiast proces ten można odwrócić aplikując GA lub wyciszając wszystkie geny *DELLA* [2]. Mechanizm funkcjonowania obu fitohormonów polega na tym, że po zewnętrznej stronie haka wierzchołkowego ET zwiększa ilość GA przyczyniając się do szybkiej degradacji białek DELLA, a tym samym promocji podziałów komórek oraz ich elongacji. Z kolei po wewnętrznej stronie haka ET stabilizuje białka DELLA i w konsekwencji uniemożliwia podziały i wydłużanie komórek [63]. Dodatkowo GA wzmacniają działanie ET, poprzez pozytywny wpływ na aktywność genu *HLS1* w szlaku zależnym od EIN3/EIL1 [3].

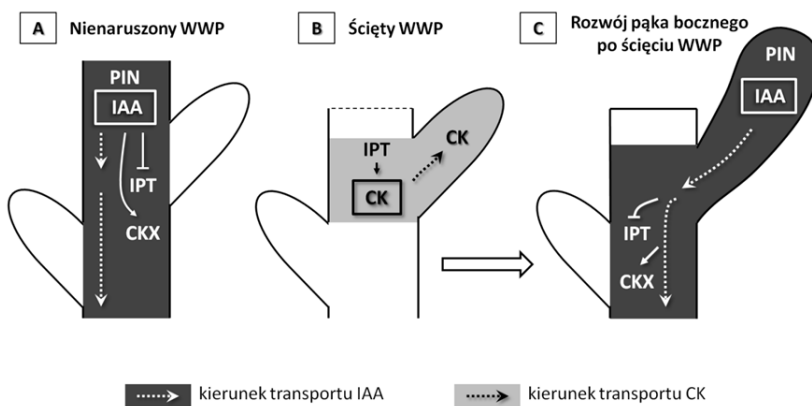


## REGULACJA SPOCZYNKU PĄKÓW BOCZNYCH

Większość roślin tworzy pędy rozgałęzione, jednak znaczna część pąków bocznych pozostaje w stanie uśpienia. Związane jest to ze zjawiskiem dominacji wierzchołkowej polegającym na hamującym wpływie aktywnego pąka szczytowego na rozwój pąków bocznych. W przypadku mechanicznego usunięcia lub uszkodzenia wierzchołka następuje aktywacja rozwoju jednego lub większej liczby pąków bocznych, a z czasem odtworzenie nowej osi głównej na przedłużeniu osi dawnej. W opisany proces zaangażowane są przede wszystkim dwie grupy antagonistycznie funkcjonujących fitohormonów, a mianowicie auksyny i CK (ryc. 3) [51]. Auksyny, syntetyzowane głównie w wierzchołku wzrostu pędu, transportowane są bazypetalnie w parenchymie dzięki białkom PIN [10, 15]. Wzmoczoną ekspresję genów, które je kodują (*PsPIN1*) stwierdzono w węzłach łodygi grochu, a obniżenie stężenia auksyn po odcięciu wierzchołka korelowało ze spadkiem aktywności tego genu w badanym obszarze [58]. CK powstają natomiast w korzeniu i transportowane są akropetalnie do części nadziemnych poprzez ksylem [24]. U grochu, przemieszczająca się auksyna hamuje wzrost pąków pachwinowych głównie dzięki negatywnej regulacji aktywności genu *PsIPT2* (ang. *Isopentenyltransferase 2*), którego produkt uczestniczy w biosyntezie CK (Ryc. 3A). W uszkodzonych roślinach z zakłóconym głównym strumieniem auksyn, transkrypcja *PsIPT2* uruchamiana jest przejściowo w węzłach łodygi już po 1h od dekapitacji wierzchołka, a maksimum osiąga po ok. 3h (ryc. 3B). Po 9h poziom ekspresji tego genu obniża się, natomiast po 24h jest już prawie niewykrywalny [58]. Zgodnie z oczekiwaniami, z ilością transkryptów skorelowany jest poziom CK, który wzrasta 7-krotnie w ciągu pierwszych 6h, a po upływie kolejnych 18h, aż 25-krotnie. W tym czasie aktywne cząsteczki CK transportowane są do pąków pachwinowych, co pozwala im wyjść ze stanu głębokiego spoczynku [51]. Tanaka i wsp. udowodnili, że CK biorące udział we wzroście pąków bocznych po dekapitacji wierzchołka syntetyzowane są *de novo* lokalnie w węzłach łodygi [58], a nie tak jak wcześniej twierdzono, że są transportowane z innych części roślin, głównie z korzenia [24]. Innym sposobem regulacji zawartości CK przez auksyny jest ich wpływ na ekspresję genu *PsCKX2* (ang. *Cytokinin oxidase/dehydrogenase 2*) kodującego enzym zaangażowany w nieodwracalną inaktywację CK. W łodygach grochu zawartość mRNA tego genu jest niska. Od 3 do 9h po usunięciu wierzchołka ilość transkryptów jest tak mała, że praktycznie niewykrywalna, natomiast po 9h gwałtownie rośnie. Przedstawiony wzór ekspresji *PsCKX2* jest przeciwstawny do obserwowanego poziomu endogennych CK, zarówno przed, jak i po dekapitacji, co świadczy, że zsyntetyzowany aktywny enzym zmniejsza ilość CK w łodydze, a wpływ auksyn na jego zawartość pozwala na precyzyjną regulację rozwoju pąków bocznych. Geny *CKX* zostały również sklonowane u *A. thaliana*,

ryżu i jęczmienia. Zmniejszenie ilości CK w łodydze po 12h od dekapitacji spowodowane jest zahamowaniem ekspresji genu *PsIPT2* i indukcją *PsCKX2* przez zwiększającą się ilość auksyn syntetyzowanych *de novo* w wierzchołku nowopowstałego i rozwijającego się odgałęzienia (ryc. 3C). W nowym pędzie polarny transport auksyn zostaje szybko przywrócony w wyniku wzmożonej ekspresji genu *PsPIN1* [51].

Wśród wszystkich regulatorów wzrostu CK są najprawdopodobniej jedynymi substancjami, które pozwalają wyjść pąkom pachwinowym ze stanu głębokiego spoczynku. W obrębie zawiązków bocznych po usunięciu wierzchołka obserwuje się lokalne zmiany ich stężenia, przy braku zwiększenia transportu długodystansowego. Stąd niektórzy postulują obecność dodatkowego czynnika biorącego udział w kontroli rozwoju zawiązków bocznych, który posiada zdolność przemieszczania się na duże odległości [6]. Zidentyfikowanie szeregu mutantów u petunii, grochu, *A. thaliana* czy ryżu, wykazujących nadmierne rozkrzewienie pędu w stosunku do roślin WT, pozwoliło na przypisanie tej funkcji strigolaktonom (SL). Poznane mutanty charakteryzowały się obniżoną wydajnością syntezy SL, a przez to niższą ich zawartością w tkankach rośliny i wydzielinie korzenia. Podanie naturalnych lub syntetycznych SL skutkowało zmniejszeniem rozkrzewiania pędu.



**RYCINA 3.** Interakcje pomiędzy auksynami i CK w procesie rozgałęziania pędu grochu. **A)** Sytuacja w nienaruszonej roślinie, w której dominuje bazypetalny transport auksyn mający kluczowy wpływ na pokrój pędu; **B)** Sytuacja po mechanicznym usunięciu wierzchołka wzrostu pędu (WWP) – głównego miejsca biosyntezy auksyn. Syntetyzowane lokalnie CK pozwalają wyjść pąkom pachwinowym ze stanu głębokiego spoczynku; **C)** Rozwój pąka boczego po dekapitacji wierzchołka, który wkrótce będzie stanowił główną oś rośliny. Szczegóły w tekście. Na podstawie [51], zmodyfikowane

**FIGURE 3.** Interactions between auxins and CK in the shoot branching of pea. **A)** The situation in the intact plant, in which basipetal auxin transport dominates with a key influence on shoot conformation; **B)** The situation after mechanical removal of the shoot apex (WWP) – the main place of auxin biosynthesis. Locally synthesized CK promote axillary bud outgrowth; **C)** Axillary buds grow out after decapitation of the shoot apex, which will soon be the main axis of the plant. Details in the text. According to [51], modified

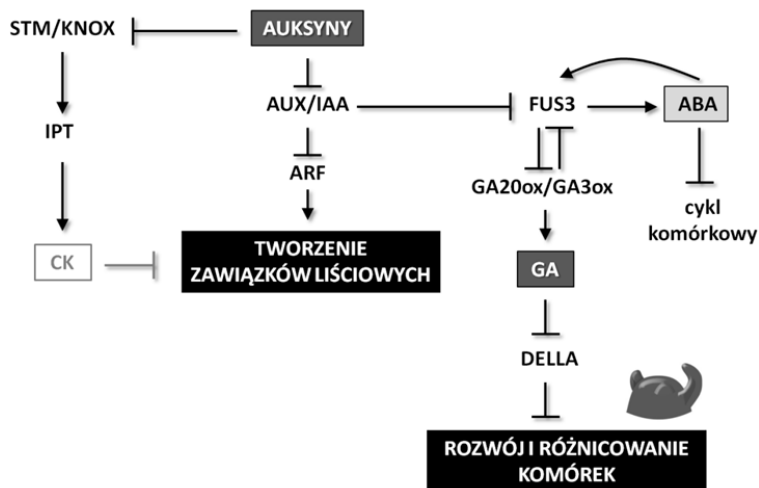
Auksyna i SL wspólnie hamują więc wzrost zawiązków bocznych, a niższe stężenie auksyny pociąga za sobą spadek zawartości SL, wskutek zahamowania ekspresji genów kodujących białka odpowiedzialne za ich syntezę. Dotychczas nie poznano dokładnie sposobu działania SL, niemniej jednak ich wpływ na lokalne zmiany w polarnym transporcie auksyn może być jednym z mechanizmów działania tej grupy regulatorów wzrostu. Przyjmuje się bowiem, że SL hamują aktywację pąków spoczynkowych poprzez obniżenie w komórkach parenchymatycznych towarzyszących ksylemowi poziomowi bazalnie zorientowanych białek PIN1 [35].

## WZROST I ROZWÓJ LIŚCI

Liście są organami bocznymi pędu powstającymi w jego merystemie wierzchołkowym. Rozwój zawiązka zapoczątkowują podziały komórek w zewnętrznych warstwach strefy organogenetycznej merystemu, w wyniku czego powstaje brodawkowate uwypuklenie stanowiące najmłodsze stadium zawiązka liścia. Rosnący dalej związek osiąga spłaszczony kształt wykazując budowę grzbieto-brzuszną. Jedną z jego stron rośnie początkowo szybciej, co powoduje, że związek zagina się ku osi i tworzy osłoneż stożka wzrostu. Równocześnie z zawiązkami liści rozwijają się w ich pachwinach zawiązki pąków bocznych, które razem stanowią pąk liściowy. W dalszym rozwoju, w pąku wydłużają się międzywęzła, liść rozwija się z pąka, a następnie ustawia pod odpowiednim kątem do łodygi [31]. Kąt  $137^\circ$ , zawarty pomiędzy kolejnymi zawiązkami liści *A. thaliana*, wyznaczany jest przez sekwencyjne maksima stężenia auksyn, które powstają w komórkach warstwy epidermalnej dzięki białkom PIN1. Auksyna, której stężenie w zawiązkach liści jest wysokie, odprowadzana jest do komórek warstw subepidermalnych, dzięki bazalnie zlokalizowanym białkom PIN1. Umożliwia to powstanie kolejnego „ogniska auksynowego” w odpowiedniej odległości od zawiązka już istniejącego. Polarny transport auksyn reguluje także różnicowanie komórek prokambium zapewniające ciągłość powstającego wzorca wiązek przewodzących. W komórkach budujących przyszłe wiązki przewodzące liścia, białko PIN1 jest jedynym eksporterem wyznaczającym kierunek strumienia transportowanych auksyn. W trakcie różnicowania wiązek naczyniowych, w komórkach epidermy białka PIN1 kierują strumień auksyny do punktów konwergencyjnych (miejsca zbiegania się auksyny). Fala auksynowa przemieszcza się w kierunku wiązki środkowej liścia wyznaczając pozycję wszystkich przyszłych wiązek przewodzących [49, 53]. W chwili obecnej wiadomo, że auksyny pośrednio podnoszą poziom CK w strefie centralnej CZ (ang. *Central Zone*) SAM, co warunkuje prawidłowy jego rozwój u *A. thaliana* czy tytoniu. Z kolei w czasie formowania zawiązków organów bocznych jest inaczej, ponieważ wysoki poziom auksyn transportowanych głównie z CZ, zmniejsza ilość CK poprzez negatywny wpływ na szlak zależny od białek STM/KNOX (ang. *Shoot Meristemless/ Knotted 1-like homeobox*) będących homeodomenowymi czynnikami transkrypcyjnymi

mi. W konsekwencji wiąże się to ze znacznym zmniejszeniem ilości transkryptów genu *IPT*, którego produkt odpowiada za biosyntezę CK. Jednocześnie aktywowany zostaje gen *CKX* zaangażowany w nieodwracalną inaktywację fitohormonu [50]. Wyłączenie ekspresji genu *STM* w obrębie zawiązków liściowych ma istotne znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania wierzchołka, ponieważ pozwala rozpocząć proces różnicowania poszczególnych komórek. Dodatkowo szlak auksynowy hamując ekspresję *STM*, pośrednio zwiększa zawartość aktywnych GA [57].

Ciekawy model wzajemnych oddziaływań hormonalnych w ustalaniu tożsamości zawiązków liściowych przedstawił Lumba i McCourt [31] (ryc. 4). Wynika z niego, że odpowiednie stężenie auksyny decyduje o losach zawiązka liściowego. Przy wysokim stężeniu cząsteczki fitohormonu wiążą się z receptorem TIR1 należącym do rodziny białek F-box, co inicjuje proteasomalną degradację represorów AUX/IAA z udziałem ligaz ubikwitynowych E3 typu SCF. W takiej sytuacji zachodzi inicjacja primordiów liściowych. Z drugiej strony brak białek AUX/IAA zwiększa zawartość czynników transkrypcyjnych FUS3 (ang. *Fusca 3*) mających przeciwstawną wpływ na zawartość GA i ABA. Duża ilość białka FUS3 wpływa pozytywnie na aktywność genów biosyntezy ABA powodując podniesienie stężenia hormonu w komórkach i zaburzenie cyklu komórkowego. Dodatkowo ABA poprzez pętlę sprzężenia zwrotnego stabilizuje białka FUS3. Odwrotnie, białka FUS3 powodują znaczne obniżenie ilości transkryptów genów kodujących enzymy biosyntezy GA, co skutkuje zmniejszeniem poziomu tego fitohormonu.



**RYCINA 4.** Hipotetyczny model wpływu fitohormonów na określenie tożsamości zawiązków liściowych. Szczegóły w tekście. Na podstawie [5, 31], zmodyfikowane

**FIGURE 4.** Hypothetical model of phytohormone influence on the identity of leaf primordia. Details in the text. According to [5, 31], modified

Duża zawartość białek DELLA hamuje w konsekwencji rozwój i różnicowanie komórek. Z przedstawionych danych wynika, że stosunek ilości GA do ABA, który jest regulowany przez FUS3, determinuje tożsamość zawiązków liściowych. Istotny wpływ na zawartość aktywnych cząsteczek tych dwóch fitohormonów mają także takie czynniki wewnętrzne jak cukry, czy czynniki zewnętrzne, np. światło i temperatura [31].

## WZROST I ROZWÓJ KORZENIA

Korzenie dzielimy na korzenie zarodkowe (*radicula*) stanowiące część nasiona, korzenie główne i wyrastające z nich korzenie boczne oraz korzenie przybyszowe. W zależności od przynależności systematycznej poszczególnych grup roślin, wzrost i rozwój korzenia jest zróżnicowany. Niemniej jednak wzdłuż osi korzenia można wyróżnić kilka wspólnych stref morfologicznych tj. czapeczka korzeniowa, strefa proliferacji komórek czyli merystem wierzchołkowy RAM (ang. *Root Apical Meristem*), strefa wzrostu wydłużeniowego (elongacji) oraz strefa różnicowania komórek na tkanki [57].

### WZROST KORZENIA GŁÓWNEGO W SYSTEMIE PALOWYM ORAZ KORZENI PRZYBYSZOWYCH

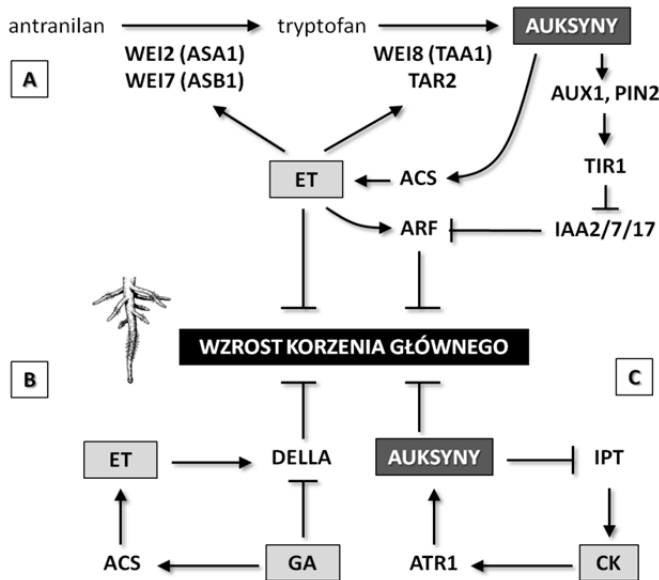
Główną rolę w kontroli wzrostu i rozwoju korzeni odgrywają auksyny. Są one niezbędne do indukcji tworzenia zarówno korzenia głównego w systemie palowym, jak i merystemów korzeni przybyszowych na pędach. Auksyny uaktywniają istniejące już zawiązki korzeni lub zapoczątkowują formowanie nowych stymulując ich podziały mitotyczne i pobudzając je do rozwoju. Umiarkowane stężenie fitohormonu pozwala utrzymać odpowiednią pulę komórek macierzystych w RAM. Przy wysokich stężeniach auksyn w obrębie strefy przejściowej, elongacyjnej i różnicowania, dochodzi jednak do gwałtownego hamowania wzrostu korzenia, co sugeruje, że do prawidłowego formowania tego organu muszą być zachowane odpowiednie maksima stężenia fitohormonu. Gradient ten zapewniany jest w wyniku syntezy auksyn oraz wewnątrzkomórkowej relokacji białek transportujących [41]. Właściwy wzrost postembrionalnego korzenia zapewnia auksyna występująca tylko w tym organie. Mutant *pxl1*, niezdolny do produkcji witaminy B6 potrzebnej do syntezy IAA, charakteryzuje się znacznie zredukowanym RAM. Auksyna pochodząca z łodygi nie przywraca fenotypu rośliny WT, natomiast zostaje on przywrócony dzięki auksynie pochodzącej z korzenia [9].

Fitohormonem, który wpływa na rozwój omawianego organu synergistycznie z auksynami jest ET (ryc. 5A). Po aplikacji ACC następuje zahamowanie wzro-

stu korzenia głównego, a do pełnej inhibicji tego procesu konieczna jest obecność funkcjonalnego szlaku biosyntezy i transdukcji sygnału auksyn, jak i sprawny mechanizm odpowiadający za ich transport [17]. Opisany efekt jest wynikiem indukcji przez ET ekspresji dwóch genów *WEI2/ASA1* (ang. *Weak Ethylene Insensitive 2/Anthranilate Synthase  $\alpha$ 1*) i *WEI7/ASB1* (ang. *Anthranilate Synthase  $\beta$ 1*) kodujących podjednostki  $\alpha$  i  $\beta$  syntazy antranilowej katalizującej syntezę tryptofanu, prekursora auksyn. Akumulacja fitohormonu uniemożliwia wzrost wydłużeniowy komórek znajdujących się w strefie przejściowej i elongacyjnej, a w konsekwencji dochodzi do zahamowania wzrostu korzenia głównego. Mutanty *wei2* i *wei7* są niewrażliwe na ET i nie obserwuje się u nich gromadzenia auksyn w wierzchołku wzrostu korzenia [30, 54]. W komórkach RAM *A. thaliana*, ET stymuluje również ekspresję genów *TAA1/WEI8/TIR2* (ang. *Transport Inhibitor Response 2*) i *TAR2*. Ich białkowe produkty kodują aminotransferazy tryptofanu, które przekształcają tryptofan do kwasu 3-indolilopirogronowego (IPA, ang. *Indole-3-Pyruvic Acid*), z którego następnie powstaje IAA. Tak zsyntetyzowany fitohormon zostaje przetransportowany do odpowiedniej strefy, w której następuje zahamowanie wzrostu komórek na długość. Mutanty *taa1* charakteryzują się prawie całkowitą niewrażliwością korzenia na ACC [55, 62]. ET wpływa również na transportery auksyn – białka PIN2 i AUX1 promując przemieszczanie auksyn do strefy przejściowej i elongacyjnej wzdłuż bocznych części czapeczki korzeniowej oraz kontroluje elementy szlaku transdukcji sygnału. Wśród nich można wyróżnić: receptor TIR1, represory IAA2/7/17 oraz czynniki transkrypcyjne ARF2. Wyniki wielu badań pokazały jednak, że nie wszystkie procesy prowadzące do hamowania wzrostu korzenia głównego przez ET zależą od auksyn [48, 56]. Wzrost stężenia IAA w korzeniu prowadzi w konsekwencji do podniesienia poziomu ET, co stanowi podstawę mechanizmu pozytywnego sprzężenia zwrotnego (ryc. 5A). Auksyny stymulują produkcję ET głównie poprzez aktywację genów syntaz ACC. U *A. thaliana* ekspresja *ACS4* (ang. *ACC Synthase 4*) w odpowiedzi na podanie IAA następuje już po 25 min. i jest niewrażliwa na inhibitory biosyntezy białek, co wskazuje, że jest to odpowiedź pierwotna. W promotorze genu *ACS4* zidentyfikowano 4 motywy charakterystyczne dla grupy czynników odpowiedzi na auksyny ARF. Jedno z takich białek ARF19 wiążąc się z sekwencją promotorową *ACS4* aktywuje jego ekspresję [29].

Szlak GA promuje wzrost korzenia siewek *A. thaliana* (ryc. 5B), a jego funkcjonowanie zależy od proteasomalnej degradacji represorów DELLA. Antagonistyczne interakcje GA-ET polegają przede wszystkim na stabilizacji przez ET niektórych białek DELLA (GAI i RGA), co obniża zdolność GA do wywołania pozytywnej reakcji wzrostowej korzenia. Po aplikacji GA zauważono także wzrost poziomu mRNA kilku syntaz ACC. Możliwe jest więc, że GA aktywując biosyntezę ET przeciwdziałają nadmiernej elongacji korzenia [2, 23]. W młodych, szybko rozwijają-

cych się korzeniach istotne są także oddziaływania pomiędzy auksynami a CK (ryc. 5C). CK podnoszą stężenie auksyn w RAM wpływając pozytywnie na ekspresję genu biosyntezy *ATR1/MYB34* (ang. *Altered Tryptophan Regulation 1/Myb domain protein 34*), którego produkt koreguje kolejne geny *CYP79B2/B3* i *NIT3*. Przeciwnie, auksyny zmniejszają ilość CK poprzez negatywny wpływ na dwa główne geny biosyntezy CK, a mianowicie *IPT3* i *IPT7* [27]. Kształtowanie prawidłowego wzorca wzrostu i rozwoju korzenia jest więc niezwykle złożone i skomplikowane, szczególnie biorąc pod uwagę fakt, że fitohormony te oddziałują również w strefie przejściowej korzenia przy udziale białek *SHY2/IAA3* (ang. *Short Hypocotyl 2*) [8]. Achard i wsp. zaproponowali natomiast model interakcji pomiędzy GA i ABA w regulacji wzrostu korzenia głównego. Wynika z niego, że GA promują, natomiast ABA hamuje elongację komórek, a efekty te zintegrowane są na poziomie białek DELLA. Aplikacja ABA zwiększa stabilność białka RGA i blokuje jednocześnie jego degradację zależną od GA. Dodatkowo poczwórny mutant *gai rga rgl1 rgl2* jest względnie odporny na hamowanie wzrostu przez ABA [1]. Ten typ oddziaływań nie został potwierdzony przez Ross i wsp. [47].

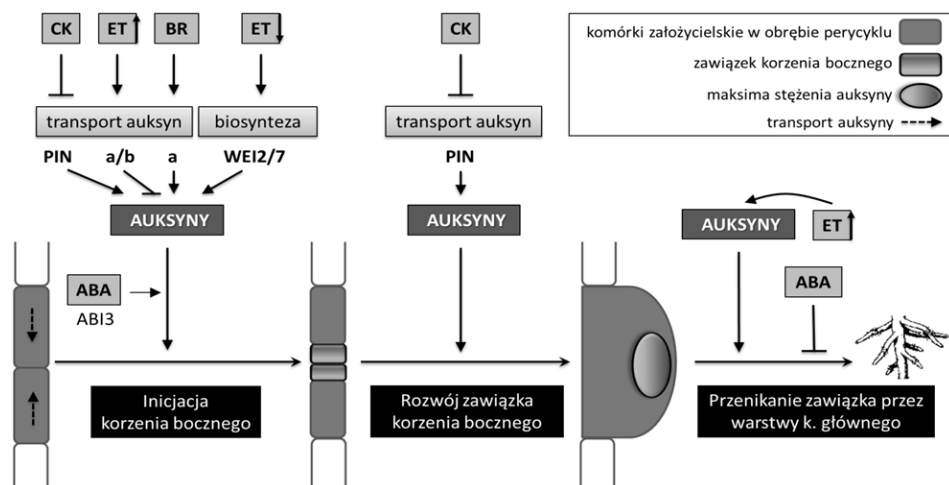


**RYCINA 5.** Współdziałanie fitohormonów w regulacji wzrostu korzenia głównego. **A)** Auksyny-ET; **B)** GA-ET; **C)** auksyny-CK. Szczegóły w tekście. Na podstawie [1, 27, 41, 54, 55, 62], zmodyfikowane

**FIGURE 5.** Phytohormone interactions in the regulation of main root growth. **A)** Auxins-ET; **B)** GA-ET; **C)** auxins-CK. Details in the text. According to [1, 27, 41, 54, 55, 62], modified

## WZROST I ROZWÓJ KORZENI BOCZNYCH

Korzenie boczne zawiązują się najczęściej w okolicy (perycyklus) strefy różnicowania budowy pierwotnej korzenia macierzystego, gdzie zachodzą intensywne podziały i powstaje grupa komórek merystematycznych organizujących się w merystem wierzchołkowy korzenia. Dwie z tych komórek, określane jako założycielskie, dzielą się antyklinalnie dając dwie mniejsze i dwie większe komórki [42]. Za asymetryczne podziały odpowiadają auksyny, których szlak sygnalizacyjny prowadzi do uwolnienia czynników transkrypcyjnych ARF7/ARF19 promujących głównie ekspresję genów *LBD16/ASL18* (ang. *Lateral organ Boundaries Domain 16/Asymmetric Leaves 2-like 18*) i *LBD29/ASL16*. Ich białkowe produkty są niezbędne do prawa idłowej regulacji procesu inicjacji korzeni bocznych [39]. Wysokie stężenie auksyn w mniejszych komórkach jest najprawdopodobniej skutkiem transportu z bazalnego regionu RAM, do którego fitohormon dociera przy udziale importerów AUX1 z części wierzchołkowej merystemu [11]. Wyniki innych badań sugerują, że rosnące stężenie auksyn w komórkach założycielskich powstaje w związku z aktywacją jednego ze szlaków biosyntezy IAA [13]. Maksymalne stężenia auksyn wyznaczają pozycje komórek założycielskich inicjujących zawiązki korzeni bocznych. W fazie inicjacji, białka PIN1 zlokalizowane są polarnie w błonie antyklinalnej, natomiast po zmianie kierunku podziałów komórek założycielskich, białka PIN1 ulegają relokalizacji i wbudowywane są do błony od strony wierzchołka przyszłego korzenia. Białka



**RYCINA 6.** Współdziałanie fitohormonów w formowaniu korzeni bocznych. a – akropetalny transport auksyn, b – bazypetalny transport auksyn. Szczegóły w tekście. Na podstawie [20, 57], zmodyfikowane **FIGURE 6.** Phytohormone interactions in lateral root formation. A – acropetal auxin transport, B – basipetal auxin transport. Details in the text. According to [20, 57], modified



PIN3/4/6 współdziałają w generowaniu strumienia auksyn skierowanego do merystemu wierzchołkowego korzenia bocznego. Odpowiednio umiejscowione białka PIN2 pozwalają natomiast zawrócić strumień auksyn z merystemu wierzchołkowego z powrotem do podstawy korzenia bocznego [53].

CK działają antagonistycznie do auksyn, zarówno w procesie inicjacji, jak i rozwoju zawiązków korzeni bocznych (ryc. 6). Fenotypy mutantów w genach kodujących pozytywne elementy szlaku sygnałowego (m.in. *arr-b*) czy receptorów CK (m.in. *cre1/wol/ahk4*) zawsze charakteryzują się zwiększoną ilością korzeni bocznych. Zgodnie z oczekiwaniami, mutanty w negatywnych elementach sygnalizacji CK (*arr-a*) mają mniejszą liczbę korzeni bocznych niż rośliny WT [44]. Miejscem z którego CK działają bezpośrednio na komórki założycielskie są komórki protoksylemu w bliskim sąsiedztwie perycyklu. Ekspresja genu *IPT* związanego z biosyntezą CK, w obrębie tych komórek skutkuje zwiększeniem stężenia fitohormonu i zahamowaniem inicjacji formowania korzeni bocznych. Natomiast ekspresja genu *CKX1* i zwiększenie ilości enzymu degradującego CK, prowadzi do derepresji tego procesu [28]. Mechanizm działania CK polega na zaburzeniu transportu auksyn, w wyniku hamowania ekspresji genów *PIN*, co w konsekwencji uniemożliwia powstanie właściwego gradientu stężenia tego fitohormonu i asymetrycznego podziału komórek założycielskich [20]. Obok bezpośredniego wpływu CK na inicjację korzeni bocznych, wpływają one także na przestrzenną ekspresję wielu genów *PIN* w nowopowstałych zawiązkach korzeni bocznych hamując tworzenie gradientu auksynowego, który jest niezbędny do prawidłowego ich rozwoju [28]. Aplikacja auksyn gwałtownie hamuje nadmierną biosyntezę CK, co wskazuje, że fitohormony oddziałują również na poziomie szlaków metabolicznych [38]. Nie wiadomo jednak czy oddziaływania te mają miejsce w procesie formowania korzeni bocznych.

Wzrost korzenia bocznego pociąga konieczność przeniknięcia zawiązka przez warstwę endodermy, kory pierwotnej i epidermy korzenia głównego. Negatywnym regulatorem tego procesu jest ABA [12]. Z drugiej strony wiadomo, że szlak sygnałowy ABA, w którym uczestniczą czynniki transkrypcyjne ABI3 (ang. *Abscisic acid Insensitive 3*) i ERA1 (ang. *Enhanced Response to ABA 1*), niezbędny jest na etapie inicjacji korzeni bocznych [20], co wskazuje na złożoność interakcji pomiędzy tymi fitohormonami. Z kolei BR stymulują formowanie korzeni bocznych działając synergistycznie z auksynami. Mutant receptora BR – *bri1* (ang. *BR Insensitive 1*) *A. thaliana* wytwarza mniejszą ilość korzeni niż rośliny WT. Wykazano, że aktywne cząsteczki BR promują akropetalny transport auksyn w korzeniu, co może być podstawą ich pozytywnych interakcji. Taki sam typ oddziaływań opisano u grochu, co wskazuje na pewien stopień uniwersalności, przynajmniej u roślin dwuliściennych [16]. Podobnie jak w przypadku BR, molekularny mechanizm wpływu GA na kształtowanie korzeni bocznych pozostaje nieznan. Istnieją tylko nieliczne dowody wskazujące na stymulację tego procesu przez GA [19]. ET i auksyny synergistycznie hamują wydłużanie korzenia głównego. W przypadku formowania korzeni bocznych interakcje

te są bardziej złożone. U *A. thaliana* bardzo wysokie stężenie ET działa hamująco na inicjację korzeni bocznych najprawdopodobniej w wyniku zmian w akro- i bazypetalnym transporcie auksyn przemieszczających się lokalnie do komórek perycyklu [37]. Wyniki innych badań wskazują, że ET i auksyny mogą wpływać synergistycznie w procesie przenikania istniejących już zawiązków przez poszczególne warstwy korzenia głównego. Dodatkowo przy niskich, umiarkowanych stężeniach ET może dochodzić do promowania inicjacji korzeni bocznych, w wyniku pozytywnego wpływu hormonu na geny *WEI2/7*, których produkty w szlaku zależnym od tryptofanu zwiększają ilość auksyn [54, 56].

## PODSUMOWANIE

Wzrost i różnicowanie komórek i tkanek, a tym samym kształtowanie organów wegetatywnych to jedno z podstawowych zagadnień współczesnej biologii roślin. Oprócz czynników genetycznych i środowiskowych, istotną rolę w integracji zjawisk morfogenetycznych odgrywają fitohormony, stąd też poznanie sposobów ich działania stanowi ważny element pełnego zrozumienia mechanizmów rozwoju rośliny. Pomimo, że każdy fitohormon posiada odrębny receptor i uruchamia charakterystyczny zestaw pierwotnych genów wywołując wysoce specyficzną odpowiedź, to obserwowany końcowy efekt fizjologiczny jest najczęściej wypadkową ich współdziałania. Dawniej uważano, że spośród klasycznych hormonów roślinnych, najistotniejsze są CK odpowiedzialne za proliferację komórek, GA promujące ich wydłużanie oraz często uważane za mózg rośliny auksyny, które regulują oba te procesy. Rośliny z zaburzonym szlakiem metabolizmu lub przekazywania sygnału tych trzech grup fitohormonów są letalne już na etapie wczesnej embriogenezy. Niemniej jednak opisana w pracy skomplikowana sieć wzajemnych pozytywnych i negatywnych interakcji pokazuje, że dopiero obecność wszystkich fitohormonów pozwala roślinie prawidłowo się rozwijać. Stworzenie spójnego modelu obrazującego powiązania między różnymi fitohormonami nastręcza wielu trudności, ponieważ często wyniki uzyskane przez jednych badaczy są podważane i dementowane przez innych, a ponadto badania prowadzone są na różnych gatunkach roślin. Pomimo nagromadzenia obszernej ilości wyników uzyskanych przy zastosowaniu najnowszych technik biologii molekularnej i genetyki, wydaje się, że do kompleksowego zaprezentowania mechanizmów współdziałania hormonów roślinnych potrzeba jeszcze wielu lat badań.

## 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] ACHARD P, VRIEZEN WH, VAN DER STRAETEN D, HARBERD NP. Ethylene regulates *Arabidopsis* development via the modulation of DELLA protein growth repressor function. *Plant Cell* 2003; **15**: 2816-2825.
- [3] AN F, ZHANG X, ZHU Z, JI Y, HE W, JIANG Z, LI M, GUO H. Coordinated regulation of apical hook development by gibberellins and ethylene in etiolated *Arabidopsis* seedlings. *Cell Res* 2012; **22**: 915-927.
- [4] BENSCHOP JJ, BOU J, PEETERS AJM, WAGEMAKER N, GUHL K, WARD D, HEDDEN P, MORITZ T, VOESENEK LACJ. Long-term submergence-induced elongation in *Rumex palustris* requires abscisic acid-dependent biosynthesis of gibberellin. *Plant Physiol* 2006; **141**: 1644-1652.
- [5] BERTONI G. Cytokinin and compound leaf development. *Plant Cell* 2010; **22**: 1.
- [6] BEVERIDGE CA. Axillary bud outgrowth: sending a message. *Curr Opin Plant Biol* 2006; **9**: 35-40.
- [7] BOUQUIN T, MEIER C, FOSTER R, NIELSEN ME, MUNDY J. Control of specific gene expression by gibberellin and brassinosteroid. *Plant Physiol* 2001; **127**: 450-458.
- [8] BRENNER WG, ROMANOV GA, KOLLMER I, BURKLE L, SCHMULLING T. Immediate-early and delayed cytokinin response genes of *Arabidopsis thaliana* identified by genome-wide expression profiling reveal novel cytokinin-sensitive processes and suggest cytokinin action through transcriptional cascades. *Plant J* 2005; **44**: 314-333.
- [9] CHEN H, XIONG L. The short-rooted vitamin B6-deficient mutant *pxd1* has impaired local auxin biosynthesis. *Planta* 2009; **229**: 1303-1310.
- [10] DAVIES PJ. Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action! Dordrecht Kluwer Academic Publishers 2004, the Netherlands, 63-94.
- [11] DE SMET I, TETSUMURA T, DE RYBEL B, FREI DIT FREY N, LAPLAZE L, CASIMIRO I, SWARUP R, NAUDTS M, VANNESTE S, AUDENAERT D, INZE D, BENNETT MJ, BEECKMAN T. Auxin-dependent regulation of lateral root positioning in the basal meristem of *Arabidopsis*. *Develop* 2007; **134**: 681-690.
- [12] DE SMET I, ZHANG H, INZE D, BEECKMAN T. A novel role for abscisic acid emerges from underground. *Trends Plant Sci* 2006; **11**: 434-439.
- [13] DUBROVSKY J, SAUER M, NAPSUCIALY-MENDIVIL S, IVANCHENKO MG, FRIML J, SHISHKOVA S, CELENZA J, BENKOVA E. Auxin acts as a local morphogenetic trigger to specify lateral root founder cells. *PNAS USA* 2008; **105**: 8790-8794.
- [14] DUGARDEYN J, VANDENBUSSCHE F, VAN DER STRAETEN D. To grow or not to grow: what can we learn on ethylene-gibberellin cross-talk by in silico gene expression analysis? *J Exp Bot* 2008; **59**: 1-16.
- [15] DURBAK A, YAO H, MCSTEEN P. Hormone signaling in plant development. *Curr Opin Plant Biol* 2012; **15**: 92-96.
- [16] FERGUSON BJ, ROSS JJ, REID JB. Nodulation phenotypes of gibberellin and brassinosteroid mutants of pea. *Plant Physiol* 2005; **138**: 2396-2405.
- [17] FRANKOWSKI K, KĘSY J, KOTARBA W, KOPCEWICZ J. Szlaki przekazywania sygnałów indukowane przez etylen. *Post Biochem* 2008; **54**: 99-106.
- [18] FRIGERIO M, ALABADI D, PEREZ-GOMEZ J, GARCIA-CARCEL L, PHILLIPS AL, HEDDEN P, BLAZQUEZ MA. Transcriptional regulation of gibberellin metabolism genes by auxin signaling in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2006; **142**: 553-563.
- [19] FU X, HARBERD NP. Auxin promotes *Arabidopsis* root growth by modulating gibberellin response. *Nature* 2003; **421**: 740-743.
- [20] FUKAKI H, TASAKA M. Hormone interactions during lateral root formation. *Plant Mol Biol* 2009; **69**: 437-449.
- [21] GREENBOIM-WAINBERG Y, MAYMON I, BOROCHOV R, ALVAREZ J, OLSZEWSKI N, ORI N, ESHED Y, WEISS D. Cross talk between gibberellin and cytokinin: the *Arabidopsis* GA-response inhibitor Spindly plays a positive role in cytokinin signaling. *Plant Cell* 2005; **17**: 92-102.

- [22] GRUSZKA D, MALUSZYŃSKI M. Brasinosteroidy – struktura chemiczna, genetyczne podstawy biosyntezy i transdukcji sygnału oraz funkcje fizjologiczne. *Post Biol Kom* 2010; **37**: 381-407.
- [23] GUO H, ECKER JR. The ethylene signalling pathway: new insights. *Curr Opin Plant Biol* 2004; **7**: 40-49.
- [24] HOPKINS WG, HUNER NPA. Cytokinins are synthesized primarily in the root. [W] Hopkins WG, Huner NP (eds) Introduction to plant physiology. Wiley, New York 2004; 325-326.
- [25] JAGER CE, SYMONS GM, ROSS JJ, SMITH JJ, REID JB. The brassinosteroid growth response in pea is not mediated by changes in gibberellin content. *Planta* 2005; **221**: 141-148.
- [26] 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.
- [27] JONES B, GUNNERAS SA, PETERSSON SV, TARKOWSKI P, GRAHAM N, MAY S, DOLEZAL K, SANDBERG G, LJUNG K. Cytokinin regulation of auxin synthesis in *Arabidopsis* involves a homeostatic feedback loop regulated via auxin and cytokinin signal transduction. *Plant Cell* 2010; **22**: 2956-2969.
- [28] LAPLAZE L, BENKOVA E, CASIMIRO I, MAES L, VANNESTE S, SWARUP R, WEIJERS D, CALVO V, PARIZOT B, HERRERA-RODRIGUEZ MB, OFFRINGA R, GRAHAM N, DOUMAS P, FRIML J, BOGUSZ D, BEECKMAN T, BENNETT M. Cytokinins act directly on lateral root founder cells to inhibit root initiation. *Plant Cell* 2007; **19**: 3889-3900.
- [29] LI J, DAI X, ZHAO Y. A role for Auxin Response Factor 19 in auxin and ethylene signaling in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2006; **140**: 899-908.
- [30] LJUNG K, HULL AK, CELENZA J, YAMADA M, ESTELLE M, NORMANLY J, SANDBERG G. Sites and regulation of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* roots. *Plant Cell* 2005; **17**: 1090-1104.
- [31] LUMBA S, MCCOURT P. Preventing leaf identity theft with hormones. *Curr Opin Plant Biol* 2005; **8**: 501-505.
- [32] MARCINIAK K, GRZEGORZEWSKA W, KĘSY J, SZMIDT-JAWORSKA A, TRETYN A, KOPCEWICZ J. Regulacja metabolizmu giberelin u roślin. *Kosmos* 2012a; **61**: 213-232.
- [33] MARCINIAK K, ŚWIEŻAWSKA B, KĘSY J, TRETYN A, KOPCEWICZ J. Gibereliny – percepcja i transdukcja sygnału u roślin. *Post Biol Kom* 2012b; **39**: 25-48.
- [34] 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.
- [35] MARZEC M, MUSZYŃSKA A. Strigolaktony – nowi kandydaci na hormony roślinne. *Post Biol Kom* 2012; **39**: 63-86.
- [36] MUDAY GK, RAHMAN A, BINDER BM. Auxin and ethylene: collaborators or competitors? *Trends Plant Science* 2012; **17**: 181-195.
- [37] NEGI S, IVANCHENKO MG, MUDAY GK. Ethylene regulates lateral root formation and auxin transport in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J* 2008; **55**: 175-187.
- [38] NORDSTROM A, TARKOWSKI P, TARKOWSKA D, NORBAEK R, ASTOT C, DOLEZAL K, SANDBERG G. Auxin regulation of cytokinin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*: a factor of potential importance for auxin-cytokinin-regulated development. *PNAS USA* 2004; **101**: 8039-8044.
- [39] OKUSHIMA Y, FUKAKI H, ONODA M, THEOLOGIS A, TASAKA M. ARF7 and ARF19 regulate lateral root formation via direct activation of LBD/ASL genes in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2007; **19**: 118-130.
- [40] O'NEILL DP, ROSS JJ. Auxin regulation of the gibberellin pathway in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2002; **130**: 1974-1982.
- [41] OVERVOORDE P, FUKAKI H, BEECKMAN T. Auxin control of root development. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; **2**: a001537.
- [42] PERET B, DE RYBEL B, CASIMIRO I, BENKOVA E, SWARUP R, LAPLAZE L, BEECKMAN T, BENNETT MJ. *Arabidopsis* lateral root development: an emerging story. *Trends Plant Sci* 2009; **14**: 399-408.
- [43] PIOTROWSKA A, CZERPAK R. Molekularne mechanizmy działania cytokinin. *Post Biol Kom* 2004; **31**: 93-115.
- [44] RIEFLER M, NOVAK O, STRNAD M, SCHMULLING T. *Arabidopsis* cytokinin receptor mutants reveal functions in shoot growth, leaf senescence, seed size, germination, root development, and cytokinin metabolism. *Plant Cell* 2006; **18**: 40-54.

- [45] ROSS JJ, O'NEILL DP, SMITH JJ, KERCKHOFFS LHJ, ELLIOTT RC. Evidence that auxin promotes gibberellin A<sub>1</sub> biosynthesis in pea. *Plant J* 2000; **21**: 547-552.
- [46] ROSS JJ, O'NEILL DP, WOLBANG CM, SYMONS GM, REID JB. Auxin-gibberellin interactions and their role in plant growth. *J Plant Growth Regul* 2002; **20**: 346-353.
- [47] ROSS JJ, WESTON DE, DAVIDSON SE, REID JB. Plant hormone interactions: how complex are they? *Physiol Plant* 2011; **141**: 299-309.
- [48] RUZICKA K, LJUNG K, VANNESTE S, PODHORSKA R, BEECKMAN T, FRIML J I IN. Ethylene regulates root growth through effects on auxin biosynthesis and transport-dependent auxin distribution. *Plant Cell* 2007; **19**: 2197-2212.
- [49] SCARPELLA E, BARKOULAS M, TSANTIS M. Control of leaf and vein development by auxin. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; **2**: a001511.
- [50] SHANI E, BEN-GERA H, SHLEIZER-BURKO S, BURKO Y, WEISS D, ORI N. Cytokinin regulates compound leaf development in tomato. *Plant Cell* 2010; **22**: 3206-3217.
- [51] SHIMIZU-SATO S, TANAKA M, MORI H. Auxin-cytokinin interactions in the control of shoot branching. *Plant Mol Biol* 2009; **69**: 429-435.
- [52] SILVERSTONE AL, TSENG TS, SWAIN SM, DILL A, JEONG SY, OLSZEWSKI NE, SUN TP. Functional analysis of SPINDLY in gibberellin signaling in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2007; **143**: 987-1000.
- [53] STARZYŃSKA E, KOWALCZYK S. Subkomórkowa relokacja białek PIN a regulowany przez auksyny wzrost i rozwój roślin. *Post Biol Kom* 2012; **39**: 477-502.
- [54] STEPANOVA AN, HOYT JM, HAMILTON AA, ALONSO JM. A link between ethylene and auxin uncovered by the characterization of two root-specific ethylene-insensitive mutants in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2005; **17**: 2230-2242.
- [55] STEPANOVA AN, ROBERTSON-HOYT J, YUN J, BENAVENTE LM, XIE DY, DOLEZAL K, SCHLERETH A, JURGENS G, ALONSO JM. TAA1-mediated auxin biosynthesis is essential for hormone crosstalk and plant development. *Cell* 2008; **133**: 177-191.
- [56] STEPANOVA AN, YUN J, LIKHACHEVA AV, ALONSO JM. Multilevel interactions between ethylene and auxin in *Arabidopsis* roots. *Plant Cell* 2007; **19**: 2169-2185.
- [57] SU YH, LIU YB, ZHANG XS. Auxin-cytokinin interaction regulates meristem development. *Mol Plant* 2011; **4**: 616-625.
- [58] TANAKA M, TAKEI K, KOJIMA M, SAKAKIBARA H, MORI H. Auxin controls local cytokinin biosynthesis in the nodal stem in apical dominance. *Plant J* 2006; **45**: 1028-1036.
- [59] TEALE WD, PAPONOV IA, PALME K. Auxin in action: signalling, transport and the control of plant growth and development. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2006; **7**: 847-859.
- [60] WASĄG P, KOWALCZYK S. Stresujące pomysły i spektakularne sukcesy w poszukiwaniach receptorów ABA – roślinnego hormonu stresu. *Post Biol Kom* 2010; **37**: 713-720.
- [61] WEISS D, ORI N. Mechanisms of cross talk between gibberellin and other hormones. *Plant Physiol* 2007; **144**: 1240-1246.
- [62] YAMADA M, GREENHAM K, PRIGGE MJ, JENSEN PJ, ESTELLE M. The *Transport Inhibitor Response 2* gene is required for auxin synthesis and diverse aspects of plant development. *Plant Physiol* 2009; **151**: 168-179.
- [63] YOO S-D, CHO Y, SHEEN J. Emerging connections in the ethylene signaling network. *Trends Plant Sci* 2009; **14**: 270-279.

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

