

NOWE PODEJŚCIA W BADANIACH NAD ROLĄ POLIAMIN W KOMÓRCE ROŚLINNEJ

POLYAMINE RESEARCH IN PLANT CELL – NEW APPROCHES

Ewa SOBIESZCZUK-NOWICKA, Jolanta LEGOCKA

Zakład Fizjologii Roślin, Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu

Streszczenie: Obecnie naszą wiedzę dotyczącą roli poliamin w wielu rozwojowych i morfogenetycznych procesach zachodzących w roślinach można pogłębić ingerując w szlaki biosyntezy poliamin przez stosowanie odpowiednich inhibitorów, poliaminowych mutantów oraz wykorzystywanie metod stosowanych w biologii molekularnej. Prezentowana praca podsumowuje dotychczasowy stan wiedzy na temat molekularnego mechanizmu kontroli genów biorących udział w syntezie poliamin i roli, jaką dzisiaj przypisuje się poliaminom w komórce roślinnej.

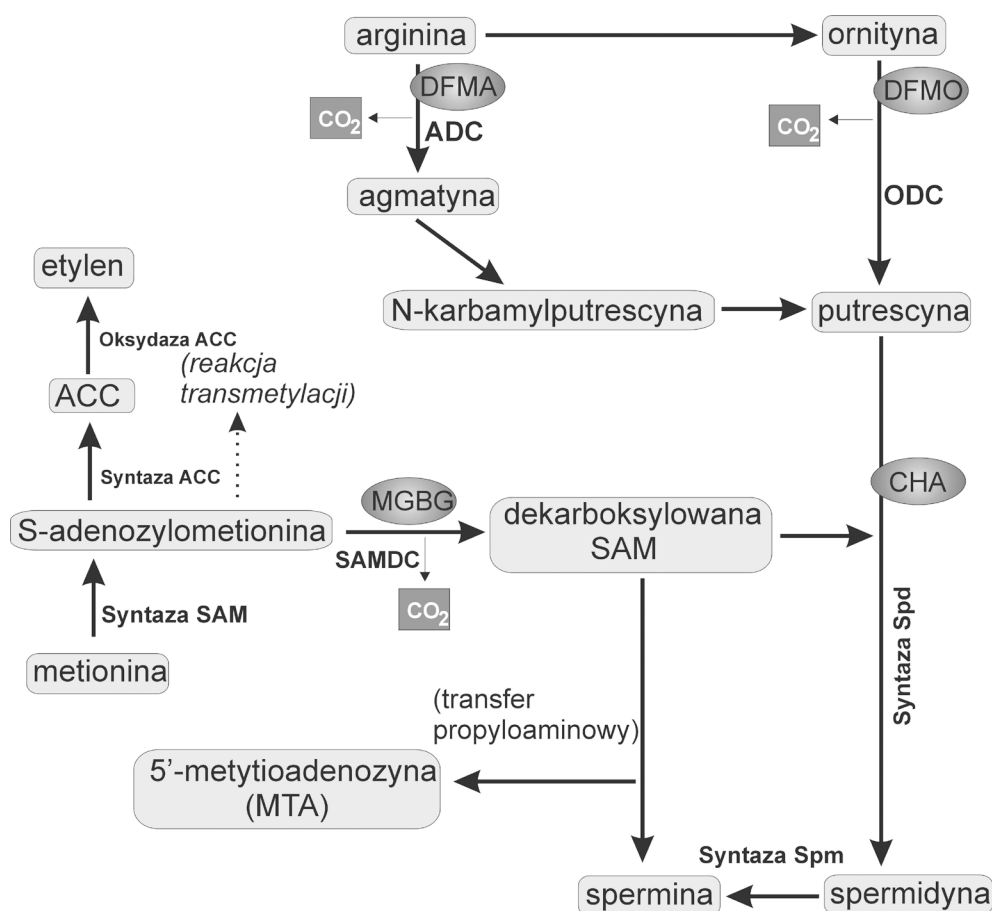
Słowa kluczowe: komórka roślinna, poliaminy, transglutaminazy, poliaminowe mutanty, rośliny transgeniczne.

Summary: Our understanding of the precise role of polyamines in various plant developmental and morphogenetic processes has advanced considerably by the ability to manipulate polyamines biosynthetic pathways using polyamines biosynthesis inhibitors, polyamines-mutants and by adopting various transgenic strategies. The cDNA for almost every biosynthesis polyamine pathway enzyme has been isolated and cloned. This review summarizes our current understanding of the genetic control of polyamine metabolism and their role in plant cell.

Key words: plant cell, polyamines, transglutaminases, polyamine mutants, transgenic plant.

WPROWADZENIE

Poliaminy (PA) są niskocząsteczkowymi organicznymi kationami uczestniczącymi w wielu fizjologicznych i rozwojowych procesach u bakterii, zwierząt i roślin. Najczęściej występującymi w roślinach wyższych poliaminami są putrescyna (Put) – $H_2N-(CH_2)_4-NH_2$, spermidyna (Spd) – $H_2N-(CH_2)_3-NH-(CH_2)_4-NH_2$ i spermina (Spm) – $H_2N-(CH_2)_3-NH-(CH_2)_4-NH-(CH_2)_3-NH_2$. Na rycinie 1. przedstawiono schemat syntezy poliamin z zaznaczeniem miejsc działania inhibitorów ich biosyntezy.



RYCINA 1. Schemat syntezy poliamin: ACC – kwas 1-aminocyklopropano-1-karboxylowy; SAM – S-adenozylometionina; ADC – dekarboksylaza argininy; ODC – dekarboksylaza ornityny; SAMDC – dekarboksylaza S-adenozylometioniny; CHA – cykloheksylamina (inhibitor); DFMA – difluorometylarginina (inhibitor); DFMO – diglutarametylornityna (inhibitor); MGBG – metylglioksal-bis-guanyl hydrazyna (inhibitor) [na podstawie [5], zmienione]

Poliaminy należą do specyficznej grupy regulatorów wzrostu. W komórce roślinnej występują w stężeniach od mikro- do milimolarnych – są to stężenia znacznie wyższe od stężeń charakterystycznych dla fitohormonów [5]. Związki te są ściśle związane z przebiegiem wielu procesów fizjologicznych w roślinie, takich jak: dojrzewanie owoców, starzenie się liści, rozwój organów reprodukcyjnych, ryzogeneza, podziały komórkowe, przełamywanie spoczynku nasion, odpowiedź rośliny na stresy i wiele innych [5, 7, 37, 38, 41, 65].

Poliaminom można przypisać działanie funkcjonalne i strukturalne. Biologiczna aktywność PA związana jest z ich jonową naturą. Za pośrednictwem kationowych grup aminowych i iminowych w fizjologicznym pH wiążą się elektrostatycznie z ujemnie naładowanymi grupami fosforanowymi znajdującymi się w DNA i RNA,

fosfoproteinach, fosfolipidach lub karboksylowymi zlokalizowanymi głównie w peptydach, kwaśnych białkach i kwaśnych polisacharydach [56]. Powoduje to zmiany w konformacji makromolekuł i struktur cytomembran, a także w ich aktywności fizjologiczno-biochemicznej. Oddziaływania poliamin z grupami fosforanowymi kwasów nukleinowych stanowią molekularną podstawę stabilizacji podwójnej helisy DNA, a także końców pętli w cząsteczkach rRNA, mRNA, tRNA [56, 67]. Wiadomo, że poliaminy wiążą się do rybosomów i ułatwiają asocjację rybosomalnych podjednostek w eukariotycznym systemie translacji *in vitro* podnoszą wydajność tego procesu [72].

Aktualnie wśród badaczy panuje pogląd, że formy skoniugowane i związane poliamin oraz ich katabolizm odgrywają ważną rolę w procesach rozwojowych roślin [17,60]. Druga funkcja poliamin polegałaby na bardziej specyficznej regulacji kluczowych dla rośliny procesów metabolicznych, takich jak np. fosforylacja białek czy przemiany fosfatydyloinozytoli [56].

Ostatnio badania przy zastosowaniu specyficznych inhibitorów blokujących poszczególne etapy syntezy poliamin, wykorzystaniu poliaminowych mutantów i technik biologii molekularnej pozwoliły na nowo spojrzeć na rolę PA w procesach rozwojowych roślin.

Artykuł zawiera podsumowanie dotychczasowego stanu wiedzy o molekularnych podstawach kontroli metabolizmu i funkcji, jakie przypisuje się poliaminom w roślinach. Nieliczną literaturę wyselekcjonowano tak, aby można było zaobserwować zmieniające się kierunki w badaniach nad roślinnymi poliaminami. Prace, w których stosowano inhibitory syntezy PA w celu analizy ich funkcji w komórce (druga połowa lat dziewięćdziesiątych), zaczęły być zastępowane przez prace, w których pojawiały się badania funkcji poliamin przy zastosowaniu technik biologii molekularnej.

2. WOLNE POLIAMINY

2.1. Analiza funkcji przy zastosowaniu inhibitorów syntezy

Wiele różnych inhibitorów biosyntezy PA stosowano i stosuje się, aby przybliżyć fizjologiczną rolę PA w komórce. Dwufluorometyloornityna (DFMO – analog ornityny) oraz α -dwufluorometyloarginina (DFMA – analog argininy) to dwa główne inhibitory syntezy putrescyny. Inhibitory te wiążą się z miejscami aktywnymi odpowiednio dekarboksylazy ornityny (ODC) i dekarboksylazy argininy (ADC) [5].

Kolejnym inhibitorem jest metylglioksal-*bis*-guanyl hydrazyna (MGBG) – kompetytywny inhibitor dekarboksylazy S-adenozylometioniny (SAMDC), ale wykazano również jego wpływ na hamowanie aktywności ADC i oksydazy poliaminowej (PAO) [5]. Cykloheksylamina (CHA) jest natomiast kompetytywnym i odwracalnym inhibitorem Spd/Spm syntazy [5].

Badania z użyciem inhibitorów syntezy PA zwróciły uwagę na potencjalny, ale istotny udział PA w procesach rozwojowych roślin, takich jak: dojrzewanie owoców, starzenie się liści, rozwój organów reprodukcyjnych, ryzogeneza, podziały komórkowe i wiele innych [48,49, 56]. Przez zastosowanie inhibitorów w kulturach tkankowych

wykazano wpływ poliamin na szereg procesów rozwojowych, takich jak: podziały komórkowe [1], regenerację roślin [6] oraz somatyczną embriogenezę [52]. DFMA, ale nie DFMO, hamowało formowanie się somatycznych zarodków w zawieszynie komórkowej marchwi [62]. Wykazano, że tworzenie się załączków może być kontrolowane poprzez dodawanie zarówno Put i Spd, jak i Spm. Dodanie DFMO blokowało proces tworzenia się bulw ziemniaka, jednak zauważalny był brak reakcji rośliny na DFMO po podaniu go wraz z Put [49]. Autorzy pracy sugerują, że Put syntetyzowana *via* ODC jest niezbędna w procesie tworzenia bulw. Zastosowanie DFMO w hodowli eksplantów liści tytoniu hamowało ryzogenezę. Efekt ten był odwracalny, gdy podano Put [10]. DFMO również silnie hamuje wzrost korzeni grochu [22]. Efekt takiego zahamowania wzrostu korzeni był odwracalny, jeśli inhibitor zastosowano razem z Put. Badania te pozwoliły wnioskować o roli ODC i samej Put w ryzogenezie.

Użycie specyficznych inhibitorów syntezy poliamin pozwoliło na przybliżenie poznania procesów przebiegających w roślinie, w które zaangażowane są PA. Nie zdefiniowano jednak ostatecznie roli PA w wymienianych procesach. Niewiele wiadomo o zakresie działania samych inhibitorów, o ich transporcie i metabolizmie. Rozważa się ich niespecyficzności i szkodliwy wpływ na błony biologiczne. Dlatego nowym bodźcem do bardziej wnikliwego poznawania i zdefiniowania roli poliamin w procesach rozwojowych roślin był rozwój biologii molekularnej. Genetyka molekularna pozwoliła na opisanie mutantów charakteryzujących się zmodyfikowanym poziomem PA. Sklonowano i scharakteryzowano geny kodujące enzymy szlaku biosyntezy PA oraz wykorzystano rośliny transgeniczne do sprecyzowania roli poliamin w procesach rozwojowych roślin.

2.2. Analiza funkcji PA przy zastosowaniu technik biologii molekularnej

Genetyczna analiza mutantów stała się obiecującym narzędziem do poznawania regulacji syntezy PA w procesach rozwojowych roślin. W roślinach wyodrębniono kilka poliaminowych mutantów. W tabeli 1 ujęto ich fenotypowe i biochemiczne defekty.

Wykorzystując insercyjną mutagenezę opartą na transferowym DNA (T-DNA – wektor T-DNA pozwala zapewnić stabilną ekspresję obcego DNA w komórce eukariotycznej) otrzymano tytoń odporny na działanie MGBG [25]. Mutanty odporne na MGBG charakteryzował zmieniony fenotyp – liście wykazywały duży stopień zwijania się, a ich kwiaty różniły się morfologicznie od kwiatów odmiany dzikiej. Jeden z mutantów nazwany *mgbr 3* charakteryzował się podwyższonym poziomem PA, który nie był skorelowany z poziomem transkryptów dla enzymów biorących udział w syntezie PA. Autorzy tłumaczą, że obniżona wrażliwość rośliny na MGBG w tej linii ma związek z nieustannie zmieniającym się metabolizmem PA, albo jest wynikiem zwiększenia ekspresji genów dla enzymów PA. Niestety, u mutantu *mgbr 3* nie identyfikowano genów odpowiedzialnych za tę mutację, tak więc jej molekularne podłoże pozostaje nieznane.

Technikę mapowania genów wykorzystano do scharakteryzowania i sklonowania genów biorących udział w kontroli szlaku biosyntezy PA. Wykaz sklonowanych i scharakteryzowanych genów szlaku syntezy i rozpadu PA umieszczono w tabeli 2.

TABELA 1. Poliaminowe mutanty roślinne i ich charakterystyka

Organizm	Typ mutanta	Morfologiczne/biochemiczne zmiany	Literatura
Rzodkiewnik	Brak ADC (<i>spe1</i> i <i>spe2</i>)	Mutanty charakteryzują się intensywnym rozgałęzianiem się i wzrostem korzeni. Mutant <i>spe1</i> i mutant <i>spe2</i> wykazują obniżenie poziomu Put jedynie o 10–20%. Dopiero podwójny mutant, u którego aktywność ADC została znacznie zahamowana, charakteryzował się lepкими siewkami o skręconych korzeniach i mniejszych organach, jednak zdolnymi do przeżycia	[70]
Pomidor	Brak ABA – <i>flacca</i>	Podwyższona aktywność ADC w porównaniu z ODC u roślin starszych. Ogólnie obniżony poziom PA sugerujący funkcjonalne współzawodnictwo hormonów w procesach rozwojowych roślin	[4]
Rzodkiewnik	Linie odporne na Spm (<i>spr1-1</i>) i (<i>spr1-2</i>)	Oba mutanty są odporne na Spm, ale wykazują dużą wrażliwość na Spd, Put i ABA taką jak typ dziki. Mutanty produkują żółtawozielone nasiona z pokrytą śluzem okrywą nasienną, gorzej wychodzą ze stanu spoczynku	[53]
Rzodkiewnik	CS3123 – późne kwitnienie; 35S::APETALA1 – wczesne kwitnienie	Spd pobudza kwitnienie u mutantu CS123, ale nie u 35S::APETALA1, co sugeruje, że optymalny poziom PA wymagany jest do prawidłowego kwitnienia i produkcji nasion	[3]
Rzodkiewnik	Brak syntazy Spd/Spm – <i>acaulis</i> (<i>acl5</i>)	Redukcja długości międzywęźli i liczby kwiatów wynikająca z zahamowania podziałów w merystemach: wegetatywnym i generatywnym. Wzrasta również ilość elementów naczyniowych w liściach. Egzogenne dodanie Spm redukuje cechy charakterystyczne dla mutantu <i>acl5</i>	[29]
Rzodkiewnik	Podwójny mutant insercyjny <i>spds1-1</i> i <i>spds2-1</i> (syntaza spd)	Nasiona pomarszczone, zawierające zredukowane zarodki – letalny fenotyp zarodków	[32]
Rzodkiewnik	Brak SAMDC – <i>bud2</i>	Roślina karłowata i krzaczasta. Powiększony system naczyniowy w organach wegetatywnych i korzeniach. Wyraźne zmiany w homeostazie PA. Podwójna delecja jest letalna dla rośliny	[26]

Hanzawa i wsp. [29] wyodrębnili i scharakteryzowali mutanty rzodkiewnika z brakującymi genami *adc* i *Spd-syntazy*. Geny: SAMDC u ziemniaka [46], ADC u grochu [58] i ODC u bielunia [51] wydają się ulegać silnej ekspresji w komórkach szybko dzielących się, co z kolei jest spójne z przypisywaną poliaminom rolę w podziałach komórkowych.

TABELA 2. Geny szlaku biosyntezy i rozpadu poliamin -- sklonowane i scharakteryzowane

Gen	Organizm	Literatura
ADC, EC 4.1.1.19	Groch Rzodkiewnik Soja Goździk	[58] [69] [54] [13]
ODC, EC 4.1.1.17	Bieluń Pomidor	[51] [42]
SAMDC, EC 4.1.1.50	Jęczmień Rzodkiewnik, ryż, kukurydza Grzyb (<i>Neurospora crassa</i>) Jabłoń	[21] [24] [31] [30]
SAM syntaza EC 2.5.1.6.	Pomidor Petunia Len	[23] [33] [43]
Spd syntaza EC 2.5.1.16	Rzodkiewnik Jabłoń	[55] [73]
Spm syntaza EC 2.5.1.22	Rzodkiewnik Jabłoń	[29] [35]
DAO EC 2.5.1.16	Soczewica	[2]
PAO EC 1.5.3.3	Lucerna siewna, owies siewny Gorzycza sarepska, rzodkiewnik	[36] [45]

Mutanty nie są idealnym materiałem do badania roli poliamin w komórce roślinnej, głównie dlatego, że nie można manipulować pulą endogennych poliamin w czasie rozwoju roślin. Poza tym, brak genu lub grupy genów uczestniczących w biosyntezie poliamin może interferować z innymi szlakami metabolicznymi komórki i ujemnie wpływać na prawidłowe funkcjonowanie rośliny.

Kontrolowanie i monitorowanie biosyntezy poliamin stało się możliwe także dzięki pozyskaniu roślin transgenicznych. Badania z zastosowaniem inhibitorów nie dawały możliwości kontroli ekspresji pojedynczego genu szlaku biosyntezy PA. Rośliny transgeniczne dają taką możliwość. Rośliny transgeniczne zawierające konstrukty z genami biosyntezy PA w różnych układach wektorowych oraz powiązane z nimi cechy fenotypowe i biochemiczne charakterystyczne dla tych roślin zebrano w tabeli 3. De Scenzo i Minocha [15] otrzymali transgeniczny tytoń z wklonowanym mysim cDNA dla ODC. Wysoka aktywność ODC w komórce powodowała podwyższenie poziomu Put, co skutkowało zaburzeniami w początkowym stadium rozwoju tej rośliny. Transgeniczny tytoń charakteryzował się zwijającymi się liśćmi, zahamowaniem wzrostu i kwiatami, w których słupki wykazywały duży stopień niedorozwoju. Po 7–8 miesiącach hodowli roślin w szklarni transgeniczna odmiana wizualnie nie

różniła się od dzikiej odmiany kontrolnej, była jednak sterylna. Wprowadzenie dodatkowej kopii *ADC* pochodzącej z owsa do tytoniu [50] pod kontrolą indukowanego chemicznie tetracykliną promotora, w systemie *Tet-repressor*¹ powodowało: podwyższony poziom transkryptu dla *ADC*, wyższą aktywność enzymu oraz wyższy poziom Put w porównaniu z roślinami kontrolnymi. Ekspresja transkryptu *ADC* w liściach transgenicznego tytoniu była analizowana techniką *mRNA blotting*. Rośliny transgeniczne traktowane tetracykliną charakteryzowały się krótszymi międzywęzłami, cienkimi łodygami, postępującą chlorozą i nekrozą liści oraz zredukowanym systemem korzeniowym w porównaniu z roślinami kontrolnymi (nieaktowanymi tetracykliną). Wyniki tych badań wskazują, że wysoki poziom Put w komórce może być dla rośliny toksyczny. Jak wcześniej wykazano, Put wpływa na depolaryzację błon komórkowych i wzmożony wyciek jonów potasu [48].

Sekwencję cDNA kodującą gen *SAMDC* ziemniaka będącą pod kontrolą promotora 35S (*CAMV*) wklonowano do plazmidów w orientacji sens i antysens, którymi za pomocą *Agrobacterium* transformowano roślinę (ziemniak) [39]. Obserwowane zmiany wpływały nie tylko na zmianę syntezy Spd, a także na szlak syntezy etylenu. Redukcja poziomu transkryptu dla *SAMDC* w roślinach transformowanych konstruktem typu antysens, która wyrażała się obniżonym poziomem Spd, wpływała na zmiany w ich fenotypie. W porównaniu z roślinami kontrolnymi obserwowano silniejsze rozgałęzianie się łodyg, skrócone międzywęzła, małe, objęte chlorozą liście, zahamowane w rozwoju korzenie. Roślina nie kwitła, a jej bulwy były znacznie mniejsze od kontrolnych. Zmiany w fenotypie roślin transformowanych były związane ze zredukowanym poziomem transkryptu *SAMDC*, obniżoną aktywnością enzymu, obniżonym poziomem Spd i wzrostem syntezy etylenu [39]. Próby otrzymania roślin transgenicznych transformowanych konstruktem typu sens nie powiodły się. Prawdopodobnie konstytutywna nadekspresja enzymu była dla rośliny letalna [39].

3. POLIAMINY SKONIUGOWANE I ZWIĄZANE

3.1. Poliaminy skoniugowane (analiza funkcji przy użyciu wybranych inhibitorów i technik biologii molekularnej)

Poliaminy w naturze pojawiają się często jako wolne molekularne zasady, ale mogą także być związane z małymi cząsteczkami, takimi jak kwasy fenolowe (głównie kwas cynamonowy) – nazywane są wtedy formami skoniugowanymi, bądź z makrocząsteczkami, np. z białkami – występując wtedy jako formy związane [62].

PA skoniugowane wpływają na żywotność nasion. Koniugaty uważa się też za formę transportową PA i preferowany substrat dla oksydaz poliaminowych. W

¹Do kontroli ekspresji genów w roślinach często stosuje się regulatorowe białka prokariotyczne. Jako jedno z pierwszych zastosowano bakteryjne białko represorowe – TetR, które wiąże się do DNA *tet* operatora jedynie w nieobecności jego induktora *tc*. Zaopatrzenie promotora w system TetR-*tet* operator-*tc* stwarza możliwość regulacji genu roślinnego tetracykliną [66].

procesie kiełkowania ryżu stanowią formę zapasową, która w wyniku hydrolizy może być źródłem wolnych poliamin. Skoniugowane poliaminy regulują także oddziaływanie poliamin z innymi kationami, np. z Ca^{2+} (stabilizacja błon komórkowych). Koniugaty PA – kwas cynamonowy wydają się ważne w regulacji puli poliamin wolnych w komórce i detoksyfikacji fenolowych komponentów będących inhibitorami wzrostu [48]. Ponadto, kwas cynamonowy, który jest antyoksydantem z grupy fenylopropanoidów, akumulowany w komórce chroni roślinę przed toksycznym działaniem glinu [28]. Skoniugowane poliaminy są też ważnym substratem dla peroksydazy w komórkach tytoniu. Peroksydaza wykorzystuje koniugaty PA do usunięcia H_2O_2 z apoplastu [40]. Langebartels i wsp. [za 40] po raz pierwszy zasugerowali, że egzogenne podanie poliamin w celu ochrony komórki przed uszkodzeniami wywołanymi przez rodnik ponadtlenowy (O_2^-) w dużej mierze zależało od zdolności komórki do tworzenia koniugatów PA.

Martijn-Tanguy i wsp. [za 48], wykorzystując inhibitory biosyntezy PA, zademonstrowali odwracalną zależność pomiędzy zmianami fenotypowymi u tytoniu a poziomem poliamin i ich koniugatów. Zauważalne zmiany w fenotypie tytoniu były skorelowane z obniżającym się poziomem PA. Poza tym pojawiające się podczas kwitnienia skoniugowane formy PA, które uważa się za marker kwitnienia, zostały ilościowo zredukowane, a sam proces kwitnienia pojawiał się zdecydowanie później niż u roślin kontrolnych. Badania te umocniły hipotezę, że skoniugowane formy PA zaangażowane są w przekształcanie się merystemów wegetatywnych w generatywne.

Także Butrin i wsp. [9] zaobserwowali, że podanie DFMO obniża aktywność ODC w tytoniu i opóźnia lub hamuje kwitnienie. Efekt ten zostaje odwrócony przez egzogenne zaaplikowaną Put. Natomiast obniżenie aktywności ADC nie wyraża się w jakichkolwiek zmianach fenotypowych. Podobnie żadne zmiany fenotypowe nie towarzyszyły zahamowaniu syntezy Spd, jednak obniżenie poziomu Spd zaburzało dymorfizm płciowy u rośliny [9]. Podobne rezultaty otrzymano transformując korzenie tytoniu konstruktem *Agrobacterium rhizogenes* zawierającym Ri TL-DNA [47]. Traktowanie roślin Put powodowało akumulację wolnej Put i jej koniugatów, ale znacznemu obniżeniu ulegał poziom wolnej Spd. Można zatem wnioskować, że cały odcinek Ri TL-DNA jest odpowiedzialny za represję genu *ODC*. Obecność samego konstruktu w komórce nie wpływa natomiast na aktywność ani transferaz, ani metylotransferaz. Dwa geny znajdujące się w obszarze R plazmidu Ri TL-DNA, *rol A* i *rol C* regulują poziom PA i indukują kwitnienie u tytoniu [47]. Geny *rol: rolA*, *rolB*, *rolC*, *rolD* na plazmidzie Ri wywołują podwyższony poziom syntezy endogennych substancji wzrostowych w zainfekowanych komórkach. W eksperymentach przeprowadzonych przez Martin-Tanguy i wsp. [47] otrzymane transgeniczne rośliny tytoniu wykazywały ekspresję genów: *rolA* (synteza auksyn) i *rolC* (cytokinin). Rośliny z wprowadzonym genem *rolC* charakteryzowała męska i żeńska sterylność. Konstytutywna nadekspresja genu *rolC* wpływała na obniżenie poziomu rozpuszczalnych w wodzie skoniugowanych PA w ziarnach pyłku oraz obniżenie aktywności wszystkich metylotransferaz zlokalizowanych w słupkach, czego konsekwencją było obniżenie aktywności ODC. Wyniki te podkreślają, że męska sterylność powiązana jest z poziomem poliamin skoniugowanych. Natomiast transformacja roślin

TABELA 3. Morfologiczne i biochemiczne defekty w wybranych roślinach transgenicznych zawierających konstrukty genów biosyntezy poliamin

Organizm	Wektor	Morfologiczne/biochemiczne zmiany	Literatura
Rzodkiewnik	Ekspresja ACL5 cDNA pod kontrolą promotora dla genów szoku cieplnego	Inaktywacja niektórych genów powodująca zaburzenia w wydłużaniu się łodyg	[29]
Ryż	Wprowadzenie w orientacji antysens cDNA dla ADC pochodzącego z jęczmienia	Znaczące obniżenie poziomu Put, Spd i Spm w większości linii kalusowych. Linie, które charakteryzował obniżony poziom Put, wykazywały prawidłową odpowiedź morfogenetyczną. Obniżony poziom Put zaobserwowano również w nasionach	[11]
Ryż	Pochodzące z jęczmienia cDNA dla ADC ulegające w komórce konstytutywnej ekspresji pod kontrolą ubikwitynowego promotora	Brak zauważalnych zmian w poziomie PA w organach wegetatywnych i nasionach w porównaniu z roślinami kontrolnymi z wyjątkiem nasion wyprowadzonych z jednej infekowanej linii, w której odnotowano 10-krotny, podlegający dziedziczeniu wzrost poziomu Put	[8]
Ryż	ADC z jęczmienia pod kontrolą indukowanego ABA promotora	Rośliny transgeniczne wykazywały 200% wzrost poziomu Put i prawie 400% wzrost aktywności ADC w porównaniu z roślinami kontrolnymi. Rośliny drugiego pokolenia charakteryzował wyraźny przyrost biomasy w warunkach stresu solnego w porównaniu z roślinami nietransformowanymi	[59]
Ryż	Nadekspresja ADC pochodzącego z bielunia i monitorowanie poziomu poliamin podczas suszy	Odpowiedź rośliny dzikiej na stres suszy była wyrażona zwiększonym poziomem Put. Wysoki poziom Put nie powodował zwiększonego poziomu Spd i Spm, które uważane są za protektory roślinne w stresach abiotycznych. Rośliny transgeniczne z wprowadzonym dodatkowym genem ADC produkowały Put, która była kolejno włączana w szlak syntezy Spd i Spm. Rośliny transgeniczne cechowała znaczna odporność na stres w porównaniu z dzikim typem	[12]
Rzodkiewnik	cDNA dla syntazy spermidyny pochodzącej z dyni figolistnej wprowadzono pod kontrolą CaMV 35S promotora	Nadekspresja syntazy spermidyny zwiększała odporność rośliny na stresse środowiskowe (chłód, zasolenie, hyperosmoza, susza, parakwat)	[34]
Tytoń	Konstrukty typu antysens zawierający sekwencję cDNA dla SAMDC z bielunia pod kontrolą CaMV 35S promotora	Rośliny transgeniczne cechowało: obniżenie aktywności enzymu, obniżenie potencjału ryzogenezy, podwyższenie poziomu kwasu jasmonowego w komórce, wzrost poziomu skoniugowanych form PA	[68]
Tytoń	Konstrukty typu sens zawierający pełną sekwencję cDNA SAMDC z goździka pod kontrolą promotora 35S	Transgeniczny tytoń fenotypowo nie różnił się od typu dzikiego, ale charakteryzował się wyższą wydajnością fotosyntezy i lepiej przystosowywał się do warunków stresowych, takich jak: zasolenie, chłód, zakwaszenie podłoża, traktowanie ABA	[71]

genem *rolA* powodowała obniżenie poziomu skoniugowanej Spd, co było czynnikiem ograniczającym zapłodnienie u tytoniu.

3.2. Poliaminy związane

Udział poliamin związanych w indukcji kwitnienia wykazano m.in. u winorośli i truskawki [49]. Dodatkowo przypisuje się im istotną rolę w odpowiedzi rośliny na stresy środowiskowe [41, 67]. W ostatnich latach opisano stabilizujące działanie związanych poliamin na struktury komórkowe m.in. na ścianę komórkową oraz na błony, w tym błonę komórkową i błony chloroplastów [17, 60]. Wykrycie związanych poliamin w izolowanych chloroplastach eugleny, kapusty pekińskiej, słonecznika bulwiastego, szpinaku, kukurydzy [44] i ostatnio ogórka [64] oraz enzymów uczestniczących w ich biosyntezie [44] pozwoliło sugerować, że poliaminy mogą odgrywać rolę w formowaniu się i funkcjonowaniu aparatu fotosyntetycznego. W błonach chloroplastów zidentyfikowano białka, do których wiązały się PA. W izolowanych chloroplastach słonecznika znakowane [¹⁴C]Put i [¹⁴C]Spd w warunkach aktywności transglutaminaz (TGazy) wiązały się do białek antenowych kompleksu chlorofil a/b-białko zbierającego energię świetlną (LHCII) oraz do białek kompleksów chlorofilowo-białkowych przekazujących energię wzbudzenia: CP24, CP26, CP29 [16, 19, 20].

Wiązania krzyżowe białek, które pojawiają się jako modyfikacje potranslacyjne, są jednym z istotnych procesów zaangażowanych w stabilizację makromolekuł. Formowanie się tych wiązań jest katalizowane przez zależne od Ca²⁺-acylotransferazy znane jako transglutaminazy [EC 2.3.2.1.3] [17, 18, 63].

W przyszłości, klonowanie genów kodujących transglutaminazy u roślin umożliwi poznanie mechanizmu kontrolującego przyłączanie się poliamin do białek i sprecyzowanie funkcji, jaką pełnią te formy w komórce. Wykorzystanie TGaz z uwagi na ich udział w tworzeniu sieci połączeń białkowych via poliaminy, powstawanie tzw. supramolekuł może mieć szerokie znaczenie aplikacyjne. Powszechnie stosuje się TGazy w przemyśle spożywczym. Dodawane są do mięs, ryb, chleba i przetworów mlecznych w celu ulepszenia ich jakości poprzez uzyskanie odpowiedniej konsystencji produktu [27].

Claparo i inni [14] zaproponowali niedawno system produkcji TGazy (pozyskanej z prostaty szczura) w roślinnym systemie ekspresji. W dojrzały zarodek ryżu wprowadzono konstrukt zawierający gen szczurzej TGazy działający pod konstytutywnym promotorem genu ubikwityny. Wprowadzony gen ulegał transkrypcji i translacji. Aktywność TGaz w materiale potwierdzono *in vitro*.

4. WNIOSKI

Poznanie mechanizmu działania poliamin w komórce roślinnej z uwagi na ich powszechną obecność, pełnione funkcje – zależne od lokalizacji w komórce, od okresu rozwoju rośliny i w końcu od samego procesu – jest równie skomplikowane jak poznanie mechanizmu działania hormonów roślinnych. Molekularny mechanizm kontroli biosyntezy poliamin w komórce roślinnej oraz sposób ich działania i udział w procesach

wzrostu i rozwoju roślin jest mało poznany. W ostatnich latach techniki biologii molekularnej otworzyły nowy rozdział w badaniach nad PA roślinnymi. Możliwość kontrolowania promotorów pozwoliła na czasową i przestrzenną regulację ekspresji genów kodujących enzymy ich biosyntezy. Regulowanie aktywności enzymów kluczowych dla syntezy PA przy użyciu wspomnianych promotorów pozwoliło na zrozumienie, w jaki sposób przebiega metabolizm PA i w jakich granicach może być regulowany tak, by regulacja ta nie wpływała na inne procesy zachodzące w komórce.

Ponadto wzrost poziomu PA w komórce jest kojarzony z obronną reakcją rośliny zarówno na stresy abiotyczne, jak i biotyczne [41]. Możliwość konstruowania roślin transgenicznych została wykorzystana do podwyższenia poziomu PA w ryżu i w ziemniaku [57, 59]. Manipulując genami syntezy PA Shoeb i wsp. [61] zwiększyli zdolności regeneracyjne ryżu (badacze napotykają ogromne trudności przy regeneracji modyfikowanych roślin uprawnych).

W przyszłości badania z wykorzystaniem roślin transgenicznych, mutantów roślinnych, zaawansowanych analiz chemicznych, mikromacierzy DNA, zjawiska RNAi mogą dostarczyć szczegółowych informacji o poliaminach wolnych związanych i skoniugowanych, o ich biosyntetycznych prekursorach, o wtórnych produktach ich metabolizmu, o oksydacji i powiązaniu metabolizmu PA z innymi szlakami w komórce.

LITERATURA

- [1] ALTAMURA MM. Cytological events induced by inhibition of polyamine biosynthesis in thin cell layer of tobacco. *Protoplasma* 1993; **175**: 9–16.
- [2] ANGELINI R, FEDERICO R, D'OVIDI R. Spatial distribution and temporal accumulation of mRNA encoding diamine oxidase during lentil (*Lens culinaris Medicus*) seedling development. *Plant Sci* 1996; **119**: 103–113.
- [3] APPLEWHITE PB, KAUR-SAWHNEY R, GALSTON AW. A role for spermidine in the bolting and flowering of *Arabidopsis*. *Physiol Plant* 1997; **108**: 314–320.
- [4] BAGNI N, BONGIOVANNI B, FRANCESCHETTI M, TASSONI A. Abscisic acid mutants affect polyamine metabolism. *Plant Biosys* 1997; **131**: 181–187.
- [5] BAIS HP, RAVISHANKAR GA. Role of polyamines in the ontogeny of plants and their biotechnological applications. *Plant Cell Tissue and Organ Cull* 2002; **69**: 1–34.
- [6] BAJA S, RAJAM MV. Efficient plant regeneration from long-term callus cultures of rice by spermidine. *Plant Cell Rep* 1995; **14**: 717–720.
- [7] BANDURSKA H, STROINSKI A, KUBIŚ J. The effect of jasmonic acid on the accumulation of ABA, proline and spermidine and its influence on membrane injury under water deficit in two barley genotypes. *Acta Physiol Plant* 2003; **25**: 279–285.
- [8] BASSIE L, NOURY M, LEPRI O, LAHAYE T, CHROSTOU P, CAPELL T. Promoter strength influence polyamine metabolism and morphogenic capacity in transgenic rice tissues expressing the oat arginine decarboxylase cDNA constitutively. *Transgenic Res* 2000; **9**: 33–42.
- [9] BUTRIN D, MARTIN-TANGUY J, PAYNOT M, CARRE M, ROSSI N. Polyamines, hydroxycinnamonyl-putrescine, and root formation in leaf explants of tobacco cultivated *in vitro*. Effects of the suicide inhibitors of putrescine synthesis. *Plant Physiol* 1990; **93**: 1398–1404.
- [10] BURTIN D, MARTIN-TANGUY J, TEPFER D. DL-difluoromethylornithine, a specific irreversible inhibitor of putrescine synthesis, induces a phenotype in tobacco similar to that ascribed to the root-inducing, left-hand transferred DNA of *Agrobacterium rhizogenes*. *Plant Physiol* 1991; **95**: 461–468.
- [11] CAPELL T, BASSIE L, TOPSOM L, HITCHIN E, CHRISTOU P. Simultaneous reduction of the activity of two related enzymes, involved in early steps of the polyamine biosynthetic pathway, by a single antisense cDNA in transgenic rice. *Mol General Genet* 2000; **264**: 470–476.

- [12] CAPELL T, BASSIE L, CHRISTOU P. Modulation of the polyamine biosynthetic pathway in transgenic rice confers tolerance to drought stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**(26): 9909–9914.
- [13] CHANG KW, LEE SH, HWANG SB, PARK KY. Characterisation and translational regulation of arginine decarboxylase gene in carnation. *Plant J* 2000; **24**: 45–56.
- [14] CLAPAROS MI, BASSIE L, MIRO B, DEL DUCA S, RODRIGUE-MONTESINOS J, CHRISTOU P, SERAFINI-FRACASSINI D, CAPELL T. Transgenic rice as a vehicle for the production of the industrial enzyme transglutaminase. *Transgenic Res* 2004; **13**: 195–199.
- [15] DE SCENZO RA, MINOCHA SC. Modulation of cellular polyamines in tobacco by transfer and expression of mouse ornithine decarboxylase. *Plant Mol Biol* 1993; **22**: 113–127.
- [16] DEL DUCA S, TIDU V, BASSI R, ESPOSITO C, SERAFINI-FRACASSINI D. Identification of chlorophyll-a/b proteins as substrates of transglutaminase activity in isolated chloroplasts of *Helianthus tuberosus* L. *Planta* 1994; **193**: 83–289.
- [17] DEL DUCA S, SERAFINI-FRACASSINI D. Transglutaminases of higher, lower plants and fungi. W: Transglutaminases: the family of enzymes with diverse functions. The Karger Group ‘Progress in Experimental and Tumor Research’, Basel 2005: 223–247.
- [18] DELLA MEA M, CAPARROS-RUIZ D, CLAPAROS I, SERAFINI-FRACASSINI D, RIGAU J. *AtPnglp*: The First Plant Transglutaminase. *Plant Physiol* 2004; **135**: 1–9.
- [19] DELLA MEA M, DI SANDRO A, DONDINI L, DEL DUCA S, VANTINI F, BERGAMINI C, BASSI R, SERAFINI-FRACASSINI D. A *Zea mays* 39 kDa thylakoid transglutaminase catalyses Light Harvesting Complex II by polyamines in a light-dependent way. *Planta* 2005; **219**: 754–764.
- [20] DONDINI L, DEL DUCA S, DALL’AGATA L, BASSI R, GASTALDELLI M, DELLA MEA M, DI SANDRO A, CLAPAROS I, SERAFINI-FRACASSINI D. Suborganellar localisation and effect of light on *Helianthus tuberosus* chloroplast transglutaminases and their substrates. *Planta* 2003; **217**: 84–95.
- [21] DRESSELHAUS T, BARCELO P, HAGEL C, LORZ H, HUMBECK K. Isolation and characterisation of a *Tritordeum* cDNA encoding S-adenosylmethionine decarboxylase that is circadian-clock regulated. *Plant Mol Biol* 1996; **30**: 1021–1033.
- [22] EL GHACHTOUL N, MARTIJN-TANGU J, PAYNOT M, GIANINAZZ S. First report of the inhibition of arbuscular mycorrhizal infection of *Pisum sativum* by specific and irreversible inhibition of polyamine biosynthesis or by gibberellic treatment. *FEBS LETT* 1996; **385**: 189–192.
- [23] ESPARTERO J, PINTORO-TORO JA, PARDO JM. Differential accumulation of S-adenosylmethionine synthase transcripts in response to salt stress. *Plant Mol Biol* 1994; **25**: 217–227.
- [24] M, HANFREY C, SCARAMAGLI S, TORRIGIANI P, BAGNI N, BURTIN D, MICHAEL AJ. Characterisation of monocot and dicot plant S-adenosyl-methionine decarboxylase gene families including identification in the mRNA of a highly conserved pair of upstream overlapping open reading frame. *Biochem J* 2001; **353**: 403–409.
- [25] FRITZE K, CZAJA I, WALDEN R. T-DNA tagging of genes influencing polyamine metabolism: isolation of mutant plant lines and rescue of DNA promoting growth in the presence of a polyamine biosynthetic inhibitor. *Planta* 1995; **7**: 261–271.
- [26] GE C, CUI X, WANG Y, HU Y, FU Z, ZHANG D, CHENG Z, LI J. BUD2, encoding an S-adenosylmethionine decarboxylase, is required for *Arabidopsis* growth and development. *Cell Res* 2006; **16**: 446–456.
- [27] GRIFFIN M, CASADIO R, BERGAMINI CM. Transglutaminase: nature’s biological glues. *Biochem J* 2002; **368**: 377–396.
- [28] HACHIYA A, YAMAMOTO Y, MATSUMOTO H. Inhibitory effect of phenylpropanoids on aluminium toxicity in cultured tobacco cells. *Plant Cell Physiol* 1996; **37**: 53–63.
- [29] HANZAWA Y, TAKAHASHI T, MICHAEL AJ, BURTIN D, LONG D, PINEIRO M, COUPLAND G, KOMEDA Y. ACAULIS5, an *Arabidopsis* gene required for stem elongation, encodes a spermine synthase. *EMBO J* 2002; **19**: 4248–4256.
- [30] HAO YJ, ZHANG Z, KITASHIBA H, HOND C, UBI B, KITA M, MORIGUCHI T. Molecular cloning and functional characterisation of two S-adenosylmethionine decarboxylase genes and their different involvement in fruit development, cell growth and stress response. *Gene* 2005; **350**: 41–50.
- [31] HOYT MA, WILLIAMS-ABBOTT LJ, PITKIN JW, DAVIES RH. Cloning and expression of S-adenosylmethionine decarboxylase gene of *Neurospora crassa* and processing of its product. *Mol Gen Genet* 2000; **263**: 664–673.
- [32] IMAI A, MATSUYAMA T, HANZAWA Y, AKIYAMA T, TAMAOKI M, SAJI H, SHIRANO Y, KATO T, HAYASHI H, SHIBATA D, TABATA S, KOMEDA Y, TAKAHASHI T. Spermidine synthase genes are essential for survival of *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2004; **135**: 1565–1573.

- [33] IZHAKI A, SHOSEYOV O, WEISS D. A petunia cDNA encoding S-adenosyl-methionine synthase. *Plant Physiol* 1995; **108**: 841–842.
- [34] KASUKABE Y, HE L, NADA K, MISAWA S, IHARA I, TACHIBANA S. Overexpression of spermidine synthase enhances tolerance to multiple environmental stresses and up-regulates the expression of various stress-regulated genes in transgenic *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol* 2004; **45**: 712–722.
- [35] KITASHIBA H, HAO YJ, HONDA C, MORIGUCHI T. Two types of spermine synthase gene: MdACL5 and MsSPMS are differentially involved in apple fruit development and cell growth. *Gene* 2005; **361**: 101–111.
- [36] KOC E, DONG N, GARDNER JY, DARMA A, PHILLIPS GC, KUEHN GD. Isolation and expression of the gene for polyamine oxidase from *Medicago sativa* and *Avena sativa*. *FESPB J* 1995; **9**: 54–60.
- [37] KUBIŚ J. The effect of exogenous spermidine on superoxide dismutase activity, H₂O₂ and superoxide radical level in barley leaves under water deficit conditions. *Acta Physiol Plant* 2005; **27**: 289–295.
- [38] KUBIŚ J. Exogenous spermidine alters in different way membrane permeability and lipid peroxidation in water stressed barley leaves. *Acta Physiol Plant* 2006; **28**: 27–33.
- [39] KUMAR A, TAYLOR MA, MAD ARIF SA, DAVIES HV. Potato plants expressing antisense and sense S-adenosylmethionine decarboxylase (SAMDC) transgenes show altered levels of polyamines and ethylene: Antisense plants display abnormal phenotypes. *Plant J* 1996; **9**: 147–158.
- [40] KUSANO T, YAMAGUCHI K, BERBERICH T, TAKAHASHI Y. Advances in polyamine research in 2007. *J Plant Res* 2007. DOI 10.1007/s10265-007-0074-3.
- [41] KUZNETSOV VLV, RADYUKINA NL, SHEVYAKOVA NI. Polyamines and stress: biological role, metabolism, and regulation. *Russ J Plant Physiol* 2005; **53**: 583–604.
- [42] KWAK SH, LEE SH. The regulation of ornithine decarboxylase gene expression by sucrose and small upstream open reading frame in tomato. *Plant Cell Physiol* 2001; **42**: 314–323.
- [43] LAMBLIN F, SALADIN G, DEHORTER B, CRONIER D, GRENIER E, LACOUX J, BRUYANT P, LAINE E, CHABBERT B, GIRAULT F, MONITES B, MORVAN C, DAVID H, DAVID A. Overexpression of a heterologous *sam* gene encoding S-adenosylmethionine synthase in flax cell: Consequences on methylation of lignin precursors and pectin. *Physiol Plant* 2001; **112**: 223–232.
- [44] LEGOCKA J, SOBIESZCZUK-NOWICKA E. Poliaminy w chloroplastach. *Post Biol Kom* 2004; **31**: 143–153.
- [45] LIM TS, CHITRA TR, HAN P, PUA EC, YU H. Cloning and characterisation of *Arabidopsis* and *Brassica juncea* flavin-containing amine oxidases. *J Exp Bot* 2006; **57**: 4155–4169.
- [46] MAD ARIF SA, TAYLOR MA, GEORGE LA, BUDER AR, BURCH LR, DAVIES HU. Characterisation of the S-adenosylmethionine decarboxylase (SAMDC) gene of potato. *Plant Mol Biol* 1994; **26**: 327–338.
- [47] MARTIN-TANGUY J, SUN LY, BURTIN D, VERNROY R, ROSSIN N, TEPFER D. Attenuation of the phenotypes caused by root inducing, left-hand transferred DNA and its *rol A* gene. Correlation with changes in polyamine metabolism and DNA methylation. *Plant Physiol* 1996; **111**: 259–267.
- [48] MARTIN-TANGUY J. Conjugated polyamines and reproductive development: biochemical, molecular and physiological approaches. *Physiol Plant* 1997; **100**: 675–688.
- [49] MARTIN-TANGUY J. Metabolism and function of polyamines in plants: recent development (new approaches). *Plant Growth Regul* 2001; **34**: 135–148.
- [50] MASGRAU C, MTABELLA T, FARRAS R, FLORES P, THOMPSON AJ, BESFORD RT. Inducible overexpression of oat arginine decarboxylase in transgenic tobacco plants. *Plant J* 1997; **11**: 465–473.
- [51] MICHAEL AJ, FURZE JM, RHODES JC, BURTIN D. Molecular cloning and functional identification of a plan ornithine decarboxylase cDNA. *Biochem J* 1996; **314**: 241–248.
- [52] MINOCHA SC, MINOCHA RC. Role of polyamines in somatic embryogenesis. W: Bajaj Yps [ed.], *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Vol. 30 Springer-Verlag, New York 1996: 53–57.
- [53] MIRZA JI, REHMAN A. A spermine-resistant mutant of *Arabidopsis thaliana* displays precocious germination. *Acta Physiol Plant* 1998; **20**: 151–156.
- [54] NAM KH, LEE SH, LEE J. Differential expression of ADC mRNA during development and upon acid stress in soybean hypocotyls. *Plant Cell Physiol* 1997; **38**: 1156–1166.
- [55] NELSON T, CLAY NK. *Arabidopsis* thickvein mutation affect vein thickness and organ vascularization and resides in a prevascular cell-specific spermine synthase involved in vein definition and in polar auxin transport. *Plant Physiol* 2005; **138**: 767–777.
- [56] NIKLAS A, BUTOWIT R, JAŹDŹEWSKA E, MAJEWSKA-SAWKA A. Poliaminy w komórce roślinnej: synteza, mechanizm działania i funkcja. *Post Biol Kom* 1998; **25**: 33–49.

- [57] PEDROS AR, MACLEOD MR, ROSS HA, MCREA D, TIBURCIO AF, DAVIES HV, TAYLOR MA. Manipulation of S-adenosylmethionine decarboxylase activity in potato tubers: an increase in activity leads to an increase in tuber number and a change in tuber size distribution. *Planta* 1999; **209**: 153–160.
- [58] PEREZ-AMADOR MA, CARBONELL J. AND GRANELL A. Expression of arginine decarboxylase is induced during early fruit development and in young tissues of *Pisum sativum* (L.). *Plant Mol Biol* 1995; **28**: 997–1009.
- [59] ROY M, WU R. Arginine decarboxylase transgene expression and analysis of environmental stress tolerance in transgenic rice. *Plant Sci* 2001; **160**: 869–875.
- [60] SERAFINI-FRACASSINI D, DEL DUCA S. Biochemistry and function of plant transglutaminases. *Minerva Biotec* 2002; **14**: 135–141.
- [61] SHOEB F, YADAV JS, BAJA , RAJAM MV. Polyamines as biomarkers for plant regeneration by modulation of polyamine metabolism in different genotypes of indica rice. *Plant Sci* 2001; **160**: 1229–1235.
- [62] SLOCUM RD, FLORES HE. Biochemistry and Physiology of Polyamines in Plants. CRC Press, Boca Raton, USA 1991.
- [63] SOBIESZCZUK-NOWICKA E, SOLIŃSKA M, LEGOCKA J. Roślinne transglutaminazy. *Post Biol Kom* 2005; **32**: 463–476.
- [64] SOBIESZCZUK-NOWICKA E, DI SANDRO A, DEL DUCA S, SERAFINI-FRACASSINI D, LEGOCKA J. Plastid-membrane-associated polyamines and thylakoid transglutaminases during etioplast-to-chloroplast transformation stimulated by kinetin. *Physiol Plant* 2007; **130**: 590–600.
- [65] SZCZOTKA Z, PAWŁOWSKI T, KRAWIARZ K. Proteins and polyamines relation during dormancy breaking of European beech (*Fagus sylvatica* L.) seeds. *Acta Physiol Plant* 2003; **25**: 423–435.
- [66] SZOPA J, ŁUKASIEWICZ M. Tworzenie konstrukcji genowych. W: Biotechnologia roślin. [red] Stefan Maleszy. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2001: 209–132.
- [67] TIBURCIO AF, ALTABELLA T, BORREL A, MASGRAU C. Polyamine metabolism and its regulation. *Physiol Plant* 1997; **100**: 664–674.
- [68] TORRIGIANI P, SCARAMAGLI S, ZIOSI V, MAYER M, BIONDI S. Expression of an antisense *Datura stramonium* S-adenosylmethionine decarboxylase cDNA in tobacco: changes in enzyme activity, putrescine-spermidine ratio, rhizogenic potential, and response to methyl jasmonate. *J Plant Physiol* 2005; **162**: 559–571.
- [69] WATSON MB, MALMBERG RL. Post-translational regulation of *Arabidopsis* arginine decarboxylase in response to potassium-deficiency stress. *Plant Physiol* 1996; **111**: 1077–1083.
- [70] WATSON MW, GALLOWAY G, MALMBERG RL. Isolation and characterisation of a second arginine decarboxylase cDNA from *Arabidopsis* (PGR97-114). *Plant Physiol* 1997; **114**: 1569–1579.
- [71] WI SJ, KIM WT, PARK KY. Overexpression of carnation S-adenosylmethionine decarboxylase gene generates a broad-spectrum tolerance to abiotic stresses in transgenic tobacco plants. *Plant Cell Rep* 2006; **10**: 1111–1121.
- [72] YERLIKAYA A. Polyamines and S-adenosylmethionine decarboxylase. *Turkish J Biochem* 2004; **29**: 208–214.
- [73] ZHANG Z, HONDA C, KITA M, HU C, NAKAYAMA M, MORIGUCHI T. Structure and expression of spermidine synthase genes in apple: two cDNAs are spatially and developmentally regulated through alternative splicing. *Mol Genet Genom* 2003; **268**: 799–807.

Redaktor prowadzący – Maria Olszewska

Otrzymano: 31.05. 2007 r.

Przyjęto: 23.07. 2007 r.

ul. Umultowska 89, 61-614 Poznań

e-mail: evaanna@rose.man.poznan.pl