

EMILIA WILMOWICZ, AGATA KUĆKO, MAGDALENA SIDŁOWSKA,  
KAMIL FRANKOWSKI, BEATA MACIEJEWSKA, PAULINA GLAZIŃSKA, JAN KOPCEWICZ

*Uniwersytet Mikołaja Kopernika  
Wydział Biologii i Nauk o Ziemi  
Katedra Fizjologii Roślin i Biotechnologii  
Gagarina 9, 87-100 Toruń*

*E-mail: emwil@umk.pl*

*kucko@poczta.pl*

*sidlowska@wp.pl*

*kfrank@o2.pl*

*beata.maciejewska@bioscience.pl*

*pnowa@umk.pl*

*kopcew@biol.uni.torun.pl*

## ROLA JASMONIANÓW W REGULACJI ROZWOJU GENERATYWNEGO\*

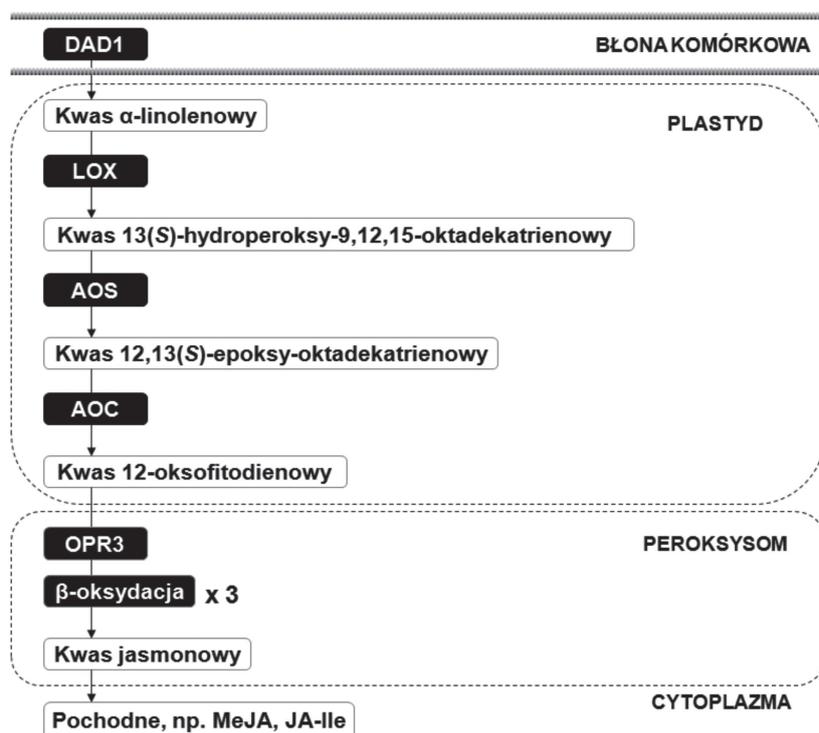
### WPROWADZENIE

Jasmoniany są grupą fitohormonów występujących powszechnie u roślin telomowych należących do różnych grup systematycznych. Początkowo hormony te postrzegane były głównie jako stymulatory procesu starzenia. Obecnie wiadomo, że uczestniczą one w regulacji wzrostu i rozwoju roślin na każdym ich etapie. Jasmoniany, obok etylenu (ang. ethylene, ET) i kwasu abscysynowego (ang. abscisic acid, ABA), uznawane są za hormony stresowe uczestniczące w adaptacji roślin do zmieniających się warunków środowiska (CHUNG i współaut. 2008, FLORS i współaut. 2008, REN i współaut. 2008, WESTERNACK i KOMBRINK 2010). Ich obecność jest również konieczna dla pełnego sukcesu reprodukcyjnego roślin, gdyż regulują m. in.: czas kwitnienia, morfogenezę kwiatów, dyferencjację płci i produkcję ziaren pyłku (ACOSTA i współaut. 2009, CHENG i współaut. 2009, AVANCI i współaut. 2010, WILSON i współaut. 2011). Początki badań dotyczących udziału jasmonianów w rozwoju generatywnym roślin są związane z odkryciem kwasu

jasmonowego (ang. jasmonic acid, JA) oraz jego metylowej pochodnej (ang. methyl jasmonic acid, MeJA) w pylnikach i ziarnach pyłku kamelii (*Camellia*), a także koniugatów JA z izoleucyną (ang. jasmonoyl-isoleucine, JA-Ile) w ziarnach pyłku kosodrzewiny (*Pinus mugo*) i petunii ogrodowej (*Petunia hybrida*) (AVANCI i współaut. 2010). Początkowo hormonom tym przypisywano jedynie udział w dojrzewaniu i kiełkowaniu ziaren pyłku. Jednakże, dzięki zastosowaniu mutantów rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana*) charakteryzujących się zaburzeniami szlaku biosyntezy i/lub transdukcji sygnału tych hormonów okazało się, że jasmoniany ogrywają także istotną rolę w regulacji wielu innych procesów związanych z reprodukcją roślin.

Prekursorem jasmonianów jest kwas  $\alpha$ -linolenowy (18:3) (ang. linolenic acid,  $\alpha$ -LA), uwalniany z błon chloroplastowych przez lipazy (ELLINGER i współaut. 2010). Biosynteza jasmonianów zachodzi w trzech kompartmentach komórkowych: chlo-

\*Praca finansowana z Programu Wieloletniego MRiRW nr 149/2011 i grantu MNiSW nr N303321637.



Ryc. 1. Schemat szlaku biosyntezy kwasu jasmonowego (wg AVANCI i współaut. 2010, zmodyfikowane, szczególnie w tekście).

DAD1 – lipaza; LOX – lipoksygenaza; AOS – syntaza tlenku allenowego; AOC – cyklaza tlenku allenowego; OPR3 – reduktaza kwasu 12-oksofitodienowego; MeJA – ester metylowy kwasu jasmonowego; JA-Ile – koniugat kwasu jasmonowego z aminokwasem izolaucyną.

roplastach, peroksysomach i cytozolu. W pierwszym etapie syntetyzowany jest kwas 12-oksofitodienowy (ang. 12-oxo-phytodienoic acid, OPDA) i/lub dinor-oksofitodienowy (ang. dinor-oxo-phytodienoic acid, dnOPDA) przy udziale lipoksygenazy (ang. lipoxygenase, LOX), syntazy i cyklazy tlenku allenowego (ang. allene oxide synthase, AOS; allene oxide cyclase, AOC). JA powstaje w peroksysomach w reakcji katalizowanej przez reduktazę kwasu 12-oksofitodienowego (ang. oxophytodienoic acid reductase3, OPR3), a w cytozolu ulega dalszym przemianom metabolicznym (Ryc. 1) (FONSECA i współaut. 2009, SCHALLER i STINTZI 2009). Szczegółowo biosyntezę jasmonianów opisano zarówno w polskich, jak i zagranicznych pracach przeglądowych (ACOSTA i FARMER 2010, AVANCI i współaut. 2010, WILMOWICZ i współaut. 2012).

Odkrycie kolejnych elementów szlaku sygnałowego JA, a także receptora tego hormonu oraz miejsca jego wiązania, umożliwiło poznanie mechanizmu działania JA w regulacji rozwoju generatywnego roślin. Receptorem jasmonianów jest białko COI1 (ang. CORONATINE INSENSITIVE1) (YAN i współaut. 2009). Percepcja sygnału JA ma miejsce na terenie jądra komórkowego i prowadzi do aktywacji ligazy ubikwityny E3 typu SCF<sup>COI1</sup> (ang. skp1-cullin-f-box-ring box protein 1), a w konsekwencji do proteolitycznej degradacji represorów transkrypcji, białek JAZ (ang. jasmonate zim-domain) (KAZAN i MANNERS 2008, CHINI i współaut. 2009, CHUNG i współaut. 2008, FRANKOWSKI i współaut. 2009b, MARCINIAK i współaut. 2010). Obniżenie puli tych represorów umożliwia aktywację czynników transkrypcyjnych i ekspresję genów aktywowanych jasmonianami.

## INDUKCJA KWITNIENIA

Po osiągnięciu przez roślinę stanu kompetencji czynniki zarówno wewnętrzne, jak i środowiskowe indukują w niej zmiany rozwojowe (indukcja), w efekcie których dochodzi do przekształcenia merystemów wegetatywnych w generatywne (ewokacja, inicjacja) i wytworzenia kwiatów (dyferen-

cja, morfogeneza) (KOPCEWICZ 2009). U *A. thaliana* zidentyfikowano i scharakteryzowano geny powiązane z indukcją generatywną oraz wyodrębniono cztery główne szlaki indukcji kwitnienia: fotoperiodyczny, wernalizacyjny, autonomiczny i hormonalny. Moduluje one ekspresję genów integratorowych

(ang. LEAFY, LFY; FLOWERING LOCUS T, FT; SUPPRESSOR OF OVEXPRESSION OF CO1, SOC1), które regulując aktywność genów tożsamości merystemu prowadzą do zmiany wzorca rozwojowego wierzchołka wzrostu pędu, a następnie rozwoju kwiatu. Ten ostatni etap (formowanie poszczególnych części kwiatu) znajduje się pod ścisłą kontrolą genów tożsamości organów kwiatowych i u *A. thaliana* opisuje go model ABCE. Zakłada on, że rozwój działek kielicha, płatków korony, pręcików i słupków, ułożonych w poszczególnych okółkach kwiatu, jest kontrolowany przez cztery typy genów homeotycznych: A (ang. APETALA 1, 2; *API*, 2), B (ang. PISTILLATA, AP3 i PI), C (ang. AGAMOUS, AG) i E (ang. SEPALLATA, SEP). Każdy z okółków powstaje na skutek zróżnicowanej aktywności jednego lub dwóch z tych genów (GLAZIŃSKA i współaut. 2011).

U *A. thaliana* gibereliny regulują ekspresję genów związanych z tworzeniem kwiatów, w sposób bezpośredni, poprzez aktywację genu *LFY* i *FT* lub pośredni, przez pozytywną regulację genu *SOC1* (MUTASA-GÖTTGEN i HEDDEN 2009). Mechanizmy te leżą u podstaw stymulującego wpływu giberelin na kwitnienie roślin dnia długiego (ang. long day plant, LDP) oraz niektórych gatunków roślin dnia krótkiego (ang. short day plant, SDP) (WILMOWICZ i współaut. 2011c). Choć u *A. thaliana* szlak hormonalny dotyczy głównie giberelin, to jednak obecnie liczne wyniki badań wskazują, że w procesie tym istotne znaczenie mają również inne fitohormony, m. in. auksyny, ABA, ET i jasmoniany (KĘSY i współaut. 2008, 2010; WILMOWICZ i współaut. 2008, 2011a, b; FRANKOWSKI i współaut. 2009a).

U niektórych gatunków roślin jasmoniany hamują indukcję kwitnienia. Efekt taki obserwowano m.in. u spirodeli wielokorzeniowej (*Spirodela polyrrhiza*), wolfii bezkorzenio-

wej (*Wolffia arrhiza*), tytoniu zwyczajnego (*Nicotiana tabacum*) i komosy czerwonej (*Chenopodium rubrum*). Ester metylowy kwasu jasmonowego aplikowany tuż przed indukcyjną ciemnością hamuje także kwitnienie wilca wielkokwiatowego (*Pharbitis nil*) (ang. short day plant, SDP) (KĘSY i współaut. 2011). Początkowo uważano, że MeJA działa pośrednio poprzez stymulację produkcji etylenu, silnego inhibitora kwitnienia *P. nil*. Jednakże dalsze badania pokazały, że indukowane do kwitnienia siewki *P. nil* potraktowane MeJA wytwarzają porównywalną ilość etylenu do roślin kontrolnych (KĘSY i współaut. 2011). Sugeruje to, że hamujące działanie jasmonianów na indukcję kwitnienia *P. nil* nie jest efektem stymulacji produkcji etylenu. Natomiast obniżenie endogennego poziomu jasmonianów przez podanie inhibitora ich biosyntezy (aspiryny), prowadzi do stymulacji indukcji kwitnienia. Wynika stąd, że wysoka zawartość jasmonianów w liściach *P. nil* podczas indukcyjnej nocy jest czynnikiem hamującym indukcję kwitnienia.

Mimo że w szeregu procesach etylen wpływa na biosyntezę jasmonianów, to jednak brak jest danych dotyczących takiej zależności w fotoperiodycznej indukcji kwitnienia. KĘSY i współaut. (2011) wykazali, że podanie etylenu w czasie indukcyjnej nocy nie zmienia znacząco poziomu MeJA w liściach siewek *P. nil*, co sugeruje, że mechanizmy hamowania kwitnienia przez oba hormony są niezależne.

Wpływ jasmonianów na kwitnienie różnych roślin jest niejednoznaczny. U wielu gatunków hamują one kwitnienie, jednak np. u rzepaku (*Brassica napus*) MeJA przyspiesza tworzenie pąków kwiatowych oraz zwiększa liczbę otwierających się kwiatów (PAK i współaut. 2009). Dokładny mechanizm działania jasmonianów w regulacji indukcji kwitnienia nie jest znany.

#### MORFOGENEZA KWIATU

Koordinacja procesów związanych z rozwojem pręcików oraz słupka jest podstawą do wytworzenia w pełni funkcjonalnego i zdolnego do zapylenia kwiatu. Prawidłowy rozwój tego organu zależy m. in. od zmian zawartości fitohormonów w różnicującym się merystemie wierzchołkowym. Zaburzenia szlaku biosyntezy i/lub transdukcji sygnału jasmonianów zakłócają prawidłowy rozwój kwiatów (Tabela 1) (AVANCI i współaut. 2010).

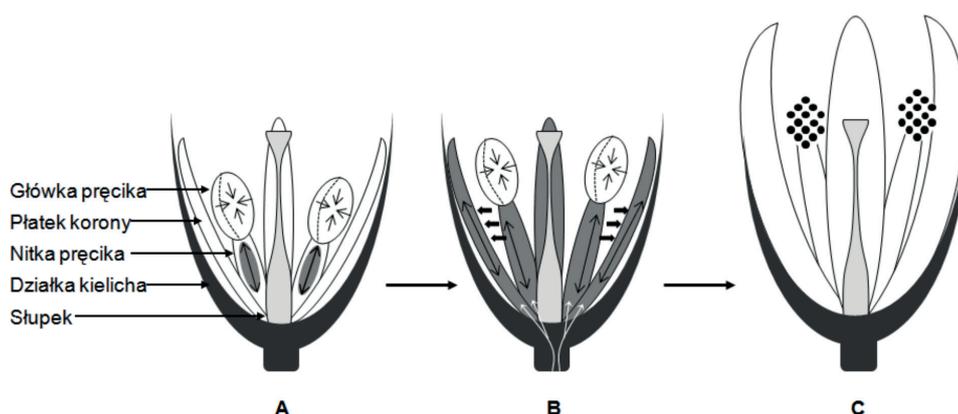
Mutant *A. thaliana dad1* (ang. defective in anther dehiscence1) z uszkodzonym genem kodującym fosfolipazę A1 charakteryzuje się zaburzeniami męskiej płodności (SCHOMMER i współaut. 2008, ELLINGER i współaut. 2010). Zawiera on o 80% mniej jasmonianów (JA, MeJA) niż rośliny typu dzikiego i charakteryzuje się opóźnionym dojrzewaniem ziaren pyłku oraz zaburzeniami w otwieraniu pylników i kwiatów. W procesach

Tabela 1. Wpływ mutacji genów kodujących enzymy zaangażowane w szlak biosyntezy oraz transdukcji sygnału jasmonianów na rozwój generatywny roślin.

Mutant	Fenotyp	Efekt mutacji	Zmutowany gen	Literatura
<i>fad3-2fad7-2fad8</i>	męskosterylny	zahamowane powstawanie $\alpha$ -LeA	<i>FAD</i>	MCCONN i BROWSE 1996
<i>dde1</i>	męskosterylny	zahamowana konwersja OPDA do JA	<i>OPR3</i>	SANDERS i współaut. 2000
<i>dad1</i>	męskosterylny	zahamowane uwalnianie $\alpha$ -LeA	<i>DAD1</i>	ISHIGURO i współaut. 2001
<i>dde2-2</i>	męskosterylny	zahamowana biosynteza OPDA	<i>AOS</i>	VON MALEK i współaut. 2002
<i>jai1</i>	żeńskosterylny	zaburzona kontrola dojrzewania nasion	<i>COI1</i>	LI i współaut. 2004
<i>opr3</i>	męskosterylny	zahamowana konwersja OPDA	<i>OPR3</i>	STINTZI i BROWSE 2000

tych kluczową rolę odgrywają ruchy wody. W początkowych etapach rozwoju kwiatu młode pylniki pobierają wodę przez wiązkę przewodzącą nitki pręcikowej, a następnie w momencie poprzedzającym otwarcie pylnika, wierzchołkowe komórki nitki pręcikowej wysychają, hamując przepływ wody i substancji odżywczych. Badania wzorca ekspresji *DAD1* umożliwiły utworzenie modelu regulacji transportu wody do pręcików i płatków korony przez JA (Ryc. 2). Według niego, JA powstający w nitce pręcika synchronizuje dojrzewanie ziaren pyłku z otwieraniem pylników i kwiatów. U roślin typu dzikiego

uwolnienie ziaren pyłku z woreczków pyłkowych musi być poprzedzone utratą wody z komórek o nierównomiernie zgrubiałych ścianach warstwy włóknistej (endotecjum) w komorze pyłkowej. Listewki zgrubień są mocniejsze od strony zewnętrznej pylnika i delikatniejsze od wewnątrz. Przed otwarciem kwiatów następuje ekspresja genu *DAD1* w górnej części nitki pręcika, prowadząca do akumulacji JA. Związek ten indukuje transport wody z komór pyłkowych przez łącznik i warstwę włóknistą do nitki pręcika. Odwodnione komórki warstwy włóknistej i łącznika zaczynają skręcać się na zewnątrz



Ryc. 2. Model regulowanego przez kwas jasmonowy transportu wody podczas kolejnych stadiów rozwoju kwiatu.

A – dojrzewanie pyłku, B – otwieranie pylników, C – otwieranie kwiatów. Szarym kolorem zaznaczono elementy kwiatów, do których następuje transport wody. Przemieszczanie się JA w obrębie kwiatu, wzrost elongacyjny poszczególnych elementów kwiatu oraz ruch wody zaznaczono strzałkami (wg WILSONA i współaut. 2011, zmodyfikowane, szczegóły w tekście).

prowadząc do wzrostu napięcia ściany pylnika i w konsekwencji jej rozerwania w stomium (miejsce zgrupowania wyspecjalizowanych komórek znajdujących się na styku dwu sąsiadujących woreczków pyłkowych). Odwodnienie komór umożliwia dojrzewanie ziaren pyłku. Procesu tego nie zaobserwowano u mutantu *dad1*, u którego komory pyłkowe pozostają napełnione wodą, a komórki warstwy włóknistej oraz łącznika są znacznie powiększone (WILSON i współaut. 2011).

Na zachowanie odpowiedniego stanu uwodnienia pylników i w konsekwencji dojrzewanie ziaren pyłku wpływa również degeneracja tapetum oraz akumulacja białek PIP2 (ang. PLASMA MEMBRANE INTRINSIC PROTEIN2) w łączniku i ścianie pylników. PIP2 są błonowymi akwaporynami, uczestniczącymi w ruchach wody wywołanych zmianami gradientu ciśnienia osmotycznego i hydrostatycznego w obrębie błon komórkowych (VAN WILDER i współaut. 2008). U mutantu *A. thaliana srs7* (ang. shi-related sequence7) nie dochodzi do degeneracji tapetum i w konsekwencji otwarcia pylników (KIM i współaut. 2010). Wzorzec ekspresji genu *SRS7* w nitce pręcika jest podobny do wzorca ekspresji genu *DAD1*, a rośliny z uszkodzonym genem *SRS7* wykazują podobne zaburzenia płodności, jak mutanty z defektami biosyntezy lub szlaku sygnałowego JA (WILSON i współaut. 2011).

Pęknięcie pylników związane jest również z degradacją pektynowych ścian komórkowych. Istotny w tym procesie wydaje się być udział poligalaktouronianów (ang. polygalacturonase, PG),  $\beta$ -1,4-glukanazy oraz ekspansyn (GORGUET i współaut. 2009, WILSON i współaut. 2011). U *A. thaliana* zidentyfikowano i scharakteryzowano trzy białka PG (ang. *Arabidopsis* dehiscence zone polygalacturonase 1, 2, ADPG1, ADPG2; QRT2-quartet 2, QRT2) zaangażowane w pęknięcie pylników, otwieranie strąków oraz aktywację komórek warstwy odcinającej kwiatów (OGAWA 2009). ADPG1 i ADPG2 uczestniczą w otwieraniu strąków, podczas gdy ADPG1, ADPG2 oraz QRT2 biorą udział w procesach związanych z pękaniem pylników. Aplikacja JA na pylniki powoduje dziesięciokrotny wzrost poziomu transkryptów genów kodujących wymienione białka (WILSON i współaut. 2011). Dodatkowo, ekspresję genu *ADPG2* reguluje etylen, a *QRT2* zarówno etylen, jak i ABA (OGAWA 2009). Zatem mechanizm pęknięcia pylników z udziałem białek PG wydaje się być wypadkową interakcji między JA, ET i ABA.

Prawidłowo funkcjonujący szlak biosyntezy i przekazywania sygnału jasmonianów jest również istotny dla wydłużania nitki pręcika i transportu wody w płatkach korony. W stadium poprzedzającym otwarcie kwiatu ekspresja genu *DAD1* zachodzi w całej nitce pręcika. Produkowany w niej JA promuje transport wody zarówno ze ścian pylnika, jak i szypułki kwiatu prowadząc do wydłużenia nitki pręcika. Woda może łatwo przepływać do płatków korony powodując ich wzrost i w konsekwencji otwarcie kwiatu (WILSON i współaut. 2011) (Ryc. 2).

U ryżu (*Oryza sativa*) zidentyfikowano gen *P0491E01* kodujący białko, wysoce podobne do występującego u *A. thaliana*, białka DAD1. Wyniki badań cytologicznych męskosterylnych mutantów wykazały, że defekt płodności związany jest z osłabieniem rozwoju mikrospor w dojrzałych ziarnach pyłku (AVANCI i współaut. 2010). Z kolei, badania prowadzone na potrójnym mutancie *A. thaliana fad3-2fad7-2fad8* (ang. fatty acid desaturase) dowiodły, że przyczyną męskiej sterility jest brak kwasu  $\alpha$ -linolenowego w tkance odżywczej woreczka pyłkowego (tapetum). Aplikacja jasmonianów na pąki kwiatowe przywracała płodność u tego mutantu (ZHANG i TURNER 2008).

Uszkodzenie genu *OPR3* u *dde1* (ang. delayed dehiscence1), którego białkowy produkt jest zaangażowany w redukcję podwójnego wiązania w pierścieniu cyklopentowym (9S,13S)-OPDA, powoduje opóźnienie otwierania pylników i prowadzi do nieefektywnego zapylenia. Za pomocą techniki *in situ* hybrydyzacji wykazano, że w początkowych etapach rozwoju kwiatu mRNA *DDE1* akumulowane jest we wszystkich częściach tego organu. W późniejszych etapach obecność transkryptu tego genu stwierdzono jedynie w słupkach, płatkach korony i nitkach pręcików, a nie obserwowano go w stomium oraz komórkach przegrody pylników, które są bezpośrednio zaangażowane w uwalnianie ziaren pyłku. Mutanty *dde1*, jak również *dde2-2* (ang. delayed-dehiscence2-2), są męskosterylne, a ich płodność można przywrócić przez aplikację egzogennej JA (AVANCI i współaut. 2010).

Kwiaty *A. thaliana* z defektem w genie *OPR3* charakteryzują się opóźnionym wydłużaniem nitki pręcikowej i niepękającymi pylnikami, co ogranicza samozapylenie i prowadzi do męskiej bezpłodności. Fenotyp ten można odwrócić przez aplikację JA, natomiast podanie OPDA nie wywołuje takie-

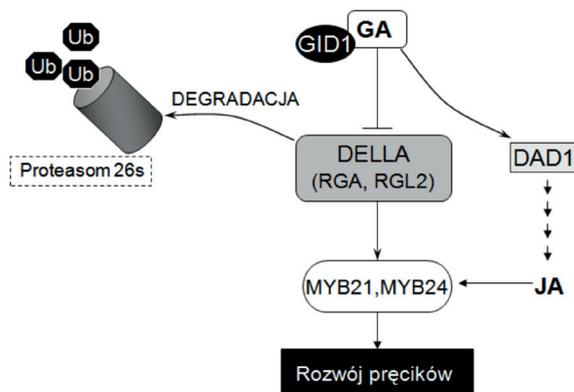
go efektu (AVANCI i współaut. 2010). Mimo że OPDA często pełni funkcję bioaktywnej molekuly, to badania dotyczące koordynacji wydłużania nitki pręcikowej, otwierania pylników i produkcji żywotnych ziaren pyłku wskazują, że w regulacji tych procesów aktywną cząsteczką jest JA.

Znaczny postęp, jaki dokonał się w ostatnim dziesięcioleciu w poznaniu szlaków biosyntezy i przekazywania sygnału jasmonianów i giberelin, doprowadził do ujawnienia licznych mechanizmów interakcji między tymi substancjami w regulacji rozwoju generatywnego roślin. Polegają one, m. in. na wpływie obu hormonów na aktywność czynników transkrypcyjnych MYB: MYB21, MYB24, regulujących ekspresję genów zaangażowanych w prawidłowy rozwój pręcików (CHENG i współaut. 2009). Kwiaty mutantu *A. thaliana myb21-t1 myb24-t1 myb57-t1* charakteryzują się krótkimi pręcikami i męskosterylnością. Ekspresja *MYB21* zachodzi w tkance waskularnej pylników oraz w komórkach łączących pylnik z nitką pręcika. Wysoki poziom transkryptu tego genu obserwowano również w komórkach gruczołowych wydzielających nektar i w zalążkach. Aktywność transkrypcyjną *MYB24* stwierdzono w tkance przewodzącej działek kielicha, nitce pręcika oraz w komórkach górnej części słupka. Mechanizm działania giberelin polega na degradacji białek DELLA, transkrypcyjnych represorów odpowiedzi na gibereliny. Białka DELLA łączą się z czynnikami transkrypcyjnymi kontrolującymi ekspresję pierwotnych genów odpowiedzi na gibereliny, przez co hamują transkrypcję. Wzrost stężenia giberelin w komórkach aktywuje proteolityczną degradację białek DELLA w

proteasomie 26 S, co prowadzi do uwolnienia czynników transkrypcyjnych i aktywacji genów (MURASE i współaut. 2008, SHIMADA i współaut. 2008). Spośród zidentyfikowanych u *A. thaliana* białek DELLA tylko RGA (ang. Represor of GA 1-3) i RGL2 (ang. RGA Like2) są zaangażowane w regulację rozwoju pręcika. Utrata funkcji obu białek umożliwia ekspresję *MYB21*, *MYB24* i tym samym prawidłowy rozwój pręcika. Z kolei, deficyt giberelin prowadzi do akumulacji RGA i RGL2, zablokowania aktywności *MYB21* oraz *MYB24* i zahamowania wydłużania nitki pręcikowej (Ryc. 3). Dodatkowo, w młodych pąkach kwiatowych mutantu giberelinowego *gai-3 gai-t6 rga-t2 rgl/1-1* (ang. quadruple mutant, Q3) stwierdzono niższą zawartość jasmonianów, niż u roślin typu dzikiego. Gibereliny stymulują ekspresję genu *DAD1*, którego białkowy produkt jest zaangażowany w biosyntezę jasmonianów (CHENG i współaut. 2009).

Jasmoniany kontrolują również powstawanie żeńskich organów rozrodczych. Mutanty *jai1* (ang. jasmonic acid insensitive1) pomidora (*Lycopersicon esculentum*) z uszkodzonym szlakiem przekazywania sygnału JA są żeńskosterylne (LI i współaut. 2004). W kwiatach tych roślin znamię słupka znacząco wystaje ponad pylniki, co zmniejsza wydajność zapylania. Tkanki kwiatów *L. esculentum* zawierają więcej JA, OPDA i JA-Ile niż liście. Proporcje tych endogennych jasmonianów są różne w poszczególnych częściach okwiatu, co może świadczyć o specyficznym zaangażowaniu każdego z nich w prawidłowy rozwój poszczególnych elementów kwiatu.

Wyniki badań prowadzonych u *B. napus* pokazały, że zbyt duże stężenie MeJA prowadzi do anomalii w morfogenezie kwiatów, które u roślin dzikich zbudowane są z 4 działek kielicha, 4 płatków korony, 6 pręcików i słupka (PAK i współaut. 2009). Najczęściej obserwowaną nieprawidłowością jest przedwczesne otwieranie niedojrzałych męskosterylnych pąków kwiatowych (ang. early opened immature bud, EOIMB), charakteryzujących się powiększonymi pylnikami oraz niewykształconymi płatkami. Niemniej jednak mogą również występować inne morfologiczne nieprawidłowości w budowie kwiatów (ang. abnormal flowers, abf), jak na przykład: nierówna liczba płatków i działek kielicha (ang. abnormal flowers of type 1, abf-1), wyparte słupki i brak płatków korony (abf-2), zmniejszona liczba pręcików,



Ryc. 3. Współdziałanie kwasu jasmonowego z giberelinami w regulacji rozwoju pręcików (szczegóły w tekście).

płatków oraz działek kielicha (*abf3*) (PAK i współaut. 2009).

Większość roślin tworzy kwiaty zawierające zarówno żeńskie, jak i męskie elementy rozrodcze. Niektóre jednak, np. kukurydza, tworzą osobno kwiaty męskie i żeńskie. U tej jednopiennej rośliny kwiatostany żeńskie, wykształcone na pędach bocznych przekształconych w osadki tworzące kolby stojące pojedynczo w pachwinach liści, są fizycznie oddzielone od kwiatostanów męskich, które w postaci złożonych wiech osadzone są na wierzchołkach źdźbeł. Kwiaty męskie zawierają trzy pręciki, natomiast kolby są dwukwiatowe. Jeden z kwiatów ma normalnie rozwinięty słupek z bardzo długim znamieniem, natomiast drugi jest szczątkowy, niezdolny do zapłodnienia. Każdy merystem inicjuje powstawanie organów kwiatowych poprzez wytworzenie trzech primordiów pręcików i primordium słupka (ACOSTA i współaut. 2009). Ten początkowo obupłciowy merystem zostaje następnie zdeterminowany jako męski poprzez usunięcie primordiów słupka, a w proces determinacji płci są zaangażowane jasmoniany (BROWSE i współaut. 2009). Zanik primordiów słupkowych w kwiatach męskich jest skutkiem apoptozy

komórek, w której uczestniczą białka TS1 i TS2 (ang. Tasselseed1, 2) (ACOSTA i współaut. 2009). TS1 jest podobne do roślinnych lipoksygenaz i zawiera dwie charakterystyczne dla tej grupy enzymów konserwatywne domeny oraz sekwencję sygnałną skierowującą je do chloroplastów. Mutacja genu *TS1* powoduje utratę aktywności lipoksygenazowej, co powoduje zmniejszenie poziomu JA w rozwijających się kwiatostanach, i w konsekwencji powstawanie kwiatów żeńskich na wiechach kwiatów męskich. Podobne zaburzenia wykazują mutanty *ts2*. Gen *TS2* koduje białko posiadające aktywność dehydrogenaz/reduktaz. Prawdopodobnie TS2 jest jednym z enzymów katalizujących  $\beta$ -oksydację w szlaku syntezy JA. Ze względu na szerokie spektrum działania tego białka nie poznano dotąd jego naturalnego substratu, jak również nie określono jego dokładnej roli w apoptozie komórek słupka. Sugeruje się, że TS2 może wytwarzać proapoptotyczny sygnał lub rozkładać substraty niezbędne dla utrzymania komórek przy życiu. Męskie kwiaty mutantów *ts1/ts2* traktowane JA produkują żywotne ziarna pyłku, co sugeruje, że oba produkty tych genów działają w jednym szlaku metabolicznym (ACOSTA i współaut. 2009).

#### SEKRECJA NEKTARU

Sekrecja nektaru jest regulowana przez jasmoniany i, obok koloru, zapachu oraz kształtu kwiatów, jest istotnym czynnikiem podnoszącym atrakcyjność rośliny. U *B. napus* wydzielanie nektaru poprzedzone jest wzrostem biosyntezy JA (PAK i współaut. 2009). Egzogenne JA, JA-Ile i koronaryna (substancja strukturalnie podobna do JA-Ile) również wzmagają sekrecję nektaru, chociaż w przypadku dwóch ostatnich związków efekt jest słabszy.

U fasoli półksiężycowatej (*Phaseolus lunatus*) jasmoniany regulują wydzielanie nektaru przez kwiaty, jednakże efekt końcowy dodatkowo zależy od warunków foteriodycznych (RADHIKA i współaut. 2010). JA hamuje sekrecję nektaru u roślin rosnących w ciemności, podczas gdy u roślin rosnących na świetle stymuluje ten proces. Wzrost natężenia światła (o 25%) podnosi ilość wydzielanego nektaru pod wpływem JA w porównaniu do roślin nietraktowanych hormonem. Jednakże wzrost natężenia światła odpowiednio o 50 i 100% nie

koreluje ze wzrostem sekrecji nektaru. Intensywność tego procesu zależy bowiem od współczynnika R:FR, czyli proporcji światła czerwonego (ang. red, R) do dalekiej czerwieni (ang. far red, FR). JA i JA-Ile hamują sekrecję nektaru u roślin wystawionych na działanie FR. Natomiast, w miarę wzrostu współczynnika R:FR wzrasta wrażliwość roślin na JA i JA-Ile. Co ciekawe, JA-Ile wzmacnia sekrecję nektaru u roślin rosnących na świetle i nie powoduje jej obniżenia u roślin rosnących w ciemności. Zahamowanie biosyntezy JA-Ile na świetle zmniejsza szybkość wydzielania nektaru, a efekt ten można odwrócić przez aplikację JA-Ile. Do koniugacji JA z Ile jest również konieczne światło, które nie stymuluje syntezy JA (RADHIKA i współaut. 2010). Wynika stąd, że światło reguluje sekrecję nektaru pośrednio poprzez modulację tworzenia JA-Ile, która u *P. lunatus* jest biologicznie aktywną cząsteczką bezpośrednio zaangażowaną w ten proces.

## PODSUMOWANIE

Jasmoniany kontrolują przebieg poszczególnych faz rozwoju ontogenetycznego roślin. Biorą także udział w regulacji rozwoju generatywnego i to zarówno na etapie indukcji w liściach, jak i morfogenezy kwiatu w wierzchołkach wzrostu pędu. Wpływ jasmonianów na indukcję kwitnienia jest niejednoznaczny, ponieważ u jednych roślin hamuje, zaś u innych stymuluje ten proces. Wysoka zawartość jasmonianów w okresie

indukcyjnej nocy wydaje się być czynnikiem hamującym kwitnienie. Obecność jasmonianów jest także konieczna dla prawidłowej morfogenezy, dyferencjacji płci kwiatów oraz wytworzenia ziaren pyłku. Koniugat kwasu jasmonowego z aminokwasem izoleucyną (JA-Ile) pełni jednocześnie rolę pośrednika w regulowanej światłem sekrecji nektaru przez kwiaty.

## ROLA JASMONIANÓW W REGULACJI ROZWOJU GENERATYWNEGO ROŚLIN

## Streszczenie

Jasmoniany są fitohormonami warunkującymi prawidłowy przebieg poszczególnych faz rozwojowych rośliny. Prekursorem jasmonianów jest kwas  $\alpha$ -linolenowy, a ich biosynteza zachodzi w trzech strukturach subkomórkowych: chloroplastach, peroksymach i cytozolu.

Niniejsza praca podsumowuje najnowsze osiągnięcia dotyczące udziału jasmonianów w reprodukcji roślin. U większości gatunków roślin jasmoniany hamują kwitnienie. Jednakże, badania prowadzone na rzepaku wskazują, że rola tych związków w indukcji generatywnej nie jest jednoznaczna, gdyż, w pewnych warunkach, mogą one także przyspieszać tworzenie kwiatów. Jasmoniany pełnią również istotną rolę w prawidłowym formowaniu płonnych i płodnych części kwiatu, a także w otwieraniu pą-

ków kwiatowych. Ponadto, kwas jasmonowy (JA) powstający w nitce pręcika synchronizuje dojrzewanie ziaren pyłku z otwieraniem pylników i kwiatów. Na podstawie analizy wzorca ekspresji genu *DADI*, kodującego enzym zaangażowany w powstawanie jasmonianów, utworzono model regulacji transportu wody do pręcików i płatków korony przez JA. Dodatkowo, zaobserwowano, że jedna z bioaktywnych form kwasu jasmonowego, koniugat z aminokwasem izoleucyną (JA-Ile), pełni rolę cząsteczki pośredniczącej w regulowanej przez światło sekrecji nektaru. JA-Ile wzmacnia wydzielanie nektaru u roślin uprawianych na świetle i nie powoduje jej obniżenia u roślin uprawianych w ciemności. Zahamowanie biosyntezy JA-Ile na świetle zmniejsza sekrecję nektaru, a efekt ten można odwrócić przez aplikację JA-Ile.

## THE ROLE OF JASMONATES IN THE REGULATION OF GENERATIVE DEVELOPMENT IN PLANTS

## Summary

Jasmonates are phytohormones conditioning proper functioning of separate plant development stages. Jasmonates precursor is  $\alpha$ -linolenic acid. Their biosynthesis occurs in three subcellular structures: chloroplasts, peroxisomes and cytosol.

This paper summarizes the most recent achievements on participation of jasmonates in the field of reproduction of plants. Jasmonates hinder florescence among the most species of plants. However, researches carried out over rape indicate that the role of these compounds in generative induction is not explicit, i.e. they may speed up the growth of flowers in certain circumstances. Jasmonates are also very important in a process of proper formation of sterile and fertile parts of flower, as well as in opening flower buds. Furthermore, jasmonic acid

(JA) nascent in a thread rod synchronizes maturation of pollen grains with the process of opening anthers and flowers. On the basis of gene expression pattern *DADI* analysis (the one that encodes an enzyme involved in the first stage of jasmonates formation), there was created a model of water transport regulation by JA to the stamens and petals of the crown. In addition, it was observed that one of the bioactive forms of jasmonic acid (JA-Ile) acts as an intermediary molecule in the secretion of nectar, regulated by the light. JA-Ile increases in the secretion of nectar in plants cultivated in the light and does not cause its decrease in plants cultivated in the dark. Inhibition of the JA-Ile biosynthesis in the light reduces the secretion of nectar. This result can be inverted by the application of JA-Ile.

## LITERATURA

- ACOSTA I. F., FARMER E. E., 2010. *Jasmonates. The Arabidopsis book*. Am. Soc. Plant Biol. doi/10.1199/tab.0129.
- ACOSTA I. F., LAPARRA H., ROMERO S. P., SCHMELZ E., HAMBERG M., MOTTINGER J. P., MORENO M. A., DEL-

- LAPORTA S. L., 2009. *tasselseed1 is a lipoxygenase affecting jasmonic acid signaling in sex determination of maize*. Science 323, 262-265.
- AVANCI N. C., LUCHE D. D., GOLDMAN G. H., GOLDMAN N. H., 2010. *Jasmonates are phytohormones*

- with multiple functions, including plant defense and reproduction. *Genet. Mol. Res.* 9, 484–505.
- BROWSE J., 2009. *Jasmonate: preventing the maize tassel from getting in touch with his feminine side.* *Sci. Signal.* 2, e9.
- CHENG H., SONG S., XIAO L., SOO H. M., CHENG Z., XIE D., PENG J., 2009. *Gibberellin acts through jasmonate to control the expression of MYB21, MYB24, and MYB57 to promote stamen filament growth in Arabidopsis.* *PLoS Genet.* 5, e1000440.
- CHINI A., BOTER M., SOLANO R., 2009. *Plant oxylipins: COI1/JAZs/MYC2 as the core jasmonic acid-signaling module.* *FEBS J.* 276, 4682–4692.
- CHUNG H. S., KOO A. J., GAO X., JAYANTY S., THINES B., JONES A. D., HOWE G. A., 2008. *Regulation and function of Arabidopsis JASMONATE ZIM-domain genes in response to wounding and herbivory.* *Plant Physiol.* 146, 952–964.
- ELLINGER D., STINGL N., KUBIGSTELTIG I. I., BALS T., JUENGER M., POLLMANN S., BERGER S., SCHUENEMANN D., MUELLER M. J., 2010. *DONGLE and DEFECTIVE IN ANTHOR DEHISCENCE1 lipases are not essential for wound- and pathogen-induced jasmonate biosynthesis: redundant lipases contribute to jasmonate formation.* *Plant Physiol.* 153, 114–127.
- FLORS V., TON J., VAN DOORN R., JAKAB G., GARCÍA-AUGUSTÍN P., MAUCH-MANI B., 2008. *Interplay between JA, SA and ABA signaling during basal and induced resistance against Pseudomonas syringae and Alternaria brassicicola.* *Plant J.* 54, 81–92.
- FONSECA S., CHINI A., HAMBERG M., ADIE B., PORZEL A., KRAMELL R., MIERSCH O., WASTERNAK O., SOLANO R., 2009. *(+)-7-iso-Jasmonoyl-L-isoleucine is the endogenous bioactive jasmonate.* *Nat. Chem. Biol.* 5, 344–350.
- FRANKOWSKI K., KEŚY J., WOJCIECHOWSKI W., KOPCEWICZ J., 2009a. *Light- and IAA regulated ACC synthase gene (PnACS) from Pharbitis nil and its possible role in IAA-mediated flower inhibition.* *J. Plant Physiol.* 166, 192–202.
- FRANKOWSKI K., ŚWIEŻAWSKA B., WILMOWICZ E., KEŚY J., KOPCEWICZ J., 2009b. *Szlak sygnałowy kwasu jasmonowego – nowe informacje.* *Post. Bioch.* 55, 337–341.
- GLAŻIŃSKA P., BRACHA J., WILMOWICZ E., KOPCEWICZ J., 2011. *Udział mikro RNA w rozwoju generatywnym roślin.* *Kosmos* 60, 141–152.
- GORGUET B., SCHIPPER D., VAN LAMMEREN A., VISSER R. G., VAN HEUSDEN A. W., 2009. *PS-2, the gene responsible for functional sterility in tomato, due to non-dehiscent anthers, is the result of a mutation in a novel polygalacturonase gene.* *Theor. App. Genet.* 118, 1199–1209.
- ISHIGURO S., KWAI-ODA A., UEDA J., NISHIDA I., OKADA K., 2001. *The DEFECTIVE IN ANTHOR DEHISCENCE1 gene encodes a novel phospholipase A1 catalyzing the initial step of jasmonic acid biosynthesis, which synchronizes pollen maturation.* *Plant Cell* 13, 2191–2209.
- KAZAN K., MANNERS J. M., 2008. *Jasmonate signaling: toward an integrated view.* *Plant Physiol.* 146, 1459–1468.
- KEŚY J., MACIEJEWSKA B., SOWA M., SZUMILAK M., KAWAŁOWSKI K., BORZUCHOWSKA M., KOPCEWICZ J., 2008. *Ethylene and IAA interactions in the inhibition of photoperiodic flower induction of Pharbitis nil.* *Plant Growth Regul.* 55, 43–50.
- KEŚY J., FRANKOWSKI K., WILMOWICZ E., GLAŻIŃSKA P., WOJCIECHOWSKI W., KOPCEWICZ J., 2010. *The possible role of PnACS2 in IAA-mediated flower inhibition in Pharbitis nil.* *Plant Growth Regul.* 61, 1–10.
- KEŚY J., WILMOWICZ E., MACIEJEWSKA B., FRANKOWSKI K., GLAŻIŃSKA P., KOPCEWICZ J., 2011. *Independent effects of jasmonates and ethylene on inhibition of Pharbitis nil flowering.* *Acta. Physiol. Plant* 33, 1211–1216.
- Kim S. G., Lee S., Kim Y. S., Yun D. J., Woo J. C., Park C. M., 2010. *Activation tagging of an Arabidopsis SHI-RELATED SEQUENCE gene produces abnormal anther dehiscence and floral development.* *Plant Mol. Biol.* 74, 337–351.
- KOPCEWICZ J., 2009. *Generatywny okres rozwoju.* [W:] *Fizjologia roślin.* LEWAK S., KOPCEWICZ J. (red.). Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 157–160.
- LI L., ZHAO Y., MCCAIG B. C., WINGERD B. A., WANG J., WHALON M. E., PICHERSKY E., HOWE G. A., 2004. *The tomato homolog of CORONATINE-INSENSITIVE1 is required for the maternal control of seed maturation, jasmonate-signaled defense responses, and glandular trichome development.* *Plant Cell.* 16, 126–143.
- MARCINIAK K., TUROWSKI T., WILMOWICZ E., FRANKOWSKI K., KEŚY J., KOPCEWICZ J., 2010. *Ligazy ubikwitynowo-białkowe w szlakach sygnałowych auksyn, jasmonianów i giberelin.* *Post. Biol. Kom.* 37, 137–151.
- MCCONN M., BROWSE J., 1996. *The critical requirement for linolenic acid is pollen development, not photosynthesis, in an Arabidopsis mutant.* *Plant Cell* 8, 403–416.
- MURASE K., HIRANO Y., SUN T. P., HAKOSHIMA T., 2008. *Gibberellin induced DELLA recognition by the gibberellin receptor GID1.* *Nature* 456, 459–463.
- MUTASA-GÖTTGENS É., HEDDEN P., 2009. *Gibberellin as a factor in floral regulatory networks.* *J. Exp. Bot.* 60, 1979–1989.
- OGAWA M., KAY P., WILSON S., SWAIN S.M., 2009. *ARABIDOPSIS DEHISCENCE ZONE POLYGALACTURONASE1 (ADPG1), ADPG2, and QUARTET2 are polygalacturonases required for cell separation during reproductive development in Arabidopsis.* *Plant Cell* 21, 216–233.
- PAK H., GUO Y., CHEN M., CHEN K., LI Y., HUA S., SHAMSI I., MENG H., SHI C., JIANG L., 2009. *The effect of exogenous methyl jasmonate on the flowering time, floral organ morphology, and transcript levels of a group of genes implicated in the development of oilseed rape flowers (Brassica napus L.).* *Planta* 231, 79–91.
- RADHIKA V., KOST C., BOLAND W., HEIL M., 2010. *The Role of jasmonates in floral nectar secretion.* *PLoS ONE* 5: 9265. doi:10.1371/journal.pone.0009265.
- REN D., LIU Y., YANG K.-Y., HAN I., MAO G., GLAZEBROOK J., ZHANG S., 2008. *A fungal-responsive MAPK cascade regulates phytoalexin biosynthesis in Arabidopsis.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105, 5638–5643.
- SANDERS P. M., LEE P. Y., BIESGEN C., BOONE J. D., BEALS T. P., WEILER E. W., GOLDBERG R. B., 2000. *The Arabidopsis DELAYED DEHISCENCE1 gene encodes an enzyme in the jasmonic acid synthesis pathway.* *Plant Cell* 12, 1041–1061.
- SCHALLER A., STINTZI A., 2009. *Enzymes in jasmonate biosynthesis – structure, function, regulation.* *Phytochem.* 70, 1532–1538.
- SCHOMMER C., PALATNIK J. F., AGGARWAL P., CHETELAT A., CUBAS P., FARMER E. E., NATH U., WEIGEL D., 2008. *Control of jasmonate biosynthesis and senescence by miR319 targets.* *PLoS Biol.* 6, e230.
- SHIMADA A., UEGUCHI-TANAKA M., NAKATSU T., NAKAJIMA M., NAOE Y., OHMIYA H., KATO H., MATSUOKA M., 2008. *Structural basis for gibberellin recognition by its receptor GID1.* *Nature* 456, 520–523.

- STINTZI A., BROWSE J., 2000. *The Arabidopsis male-sterile mutant, opr3, lacks the 12-oxophytodi-enoic acid reductase required for jasmonate synthesis*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97, 10625–10630.
- VAN WILDER V., MIECIELICA U., DEGAND H., DERUA R., WAELKENS E., CHAUMONT F., 2008. *Maize plasma membrane aquaporins belonging to the PIP1 and PIP2 subgroups are in vivo phosphorylated*. Plant Cell Physiol. 49, 1364–1377.
- VON MALEK B., VAN DER GRAAFF E., SCHNEITZ K., KELLER B., 2002. *The Arabidopsis male-sterile mutant dde1-2 is defective in the ALLENE OXIDE SYNTHASE gene encoding one of the key enzymes of the jasmonic acid biosynthesis pathway*. Planta 216, 187–192.
- WASTERNAK C., KOMBRINK E., 2010. *Jasmonates: structural requirements for lipid-derived signals active in plant stress responses and development*. ACS Chem. Biol. 5, 63–77.
- WILMOWICZ E., KEŚY J., KOPCEWICZ J., 2008. *Ethylene and ABA interactions in the regulation of flower induction in Pharbitis nil*. J. Plant Physiol. 165, 1917–1928.
- WILMOWICZ E., FRANKOWSKI K., GLAŻIŃSKA P., KEŚY J., KOPCEWICZ J., 2011a. *Involvement of ABA in flower induction of Pharbitis nil*. Acta Soc. Bot. Pol. 80, 21–26.
- WILMOWICZ E., FRANKOWSKI K., GLAŻIŃSKA P., KEŚY J., WOJCIECHOWSKI W., KOPCEWICZ J., 2011b. *Cross talk between phytohormones in the regulation of flower induction in Pharbitis nil*. Biol. Plant. 55, 757–760.
- WILMOWICZ E., FRANKOWSKI K., GLAŻIŃSKA P., SIDŁOWSKA M., MARCINIAK K., KOPCEWICZ J., 2011c. *Rola giberelin w regulacji kwitnienia roślin*. Kosmos 60, 129–140.
- WILMOWICZ E., FRANKOWSKI K., SIDŁOWSKA M., KUĆKO A., KEŚY J., GAŚIOROWSKI A., GLAŻIŃSKA P., KOPCEWICZ J., 2012. *Biosynteza jasmonianów u roślin – najnowsze odkrycia*. Post. Bioch., 58, 26–33.
- WILSON Z.A., SONG J., TAYLOR B., YANG C., 2011. *The final split: the regulation of anther dehiscence*. J. Exp. Botan. 62, 1633–1649.
- YAN J., ZHANG C., GU M., BAI Z., ZHANG W., QI T., CHENG Z., PENG W., LUO H., NAN F., WANG Z., XIE D., 2009. *The Arabidopsis CORONATINE INSENSITIVE1 protein is a jasmonate receptor*. Plant Cell 21, 2220–2236.
- ZHANG Y.I., TURNER J.G., 2008. *Wound-induced endogenous jasmonates stunt plant growth by inhibiting mitosis*. PLoS ONE 3:e3699. doi:10.1371/journal.pone.0003699.